

Владимирский государственный университет

А. Г. КОСМАЧЕВА А. А. МАРЦЕВ

ЭКОБИОТЕХНОЛОГИЯ

Учебное пособие

Владимир 2025

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Владимирский государственный университет
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых»

А. Г. КОСМАЧЕВА А. А. МАРЦЕВ

ЭКОБИОТЕХНОЛОГИЯ

Учебное пособие

Электронное издание



Владимир 2025

ISBN 978-5-9984-2085-6

© Космачева А. Г.,
Марцев А. А., 2025

УДК 504.06+577.1+ 663.1
ББК 28.087

Авторы: А. Г. Космачева (главы 4 – 8), А. А. Марцев (введение, главы 1 – 3, 9, 10, заключение)

Рецензенты:

Кандидат биологических наук, доцент
доцент кафедры почвоведения, агрохимии и лесного дела
Владимирского государственного университета имени
Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых
А. О. Рагимов

Кандидат биологических наук
директор Верхневолжского федерального аграрного научного центра
И. М. Щукин

Космачева, А. Г. Экобиотехнология [Электронный ресурс] : учеб. пособие / А. Г. Космачева, А. А. Марцев ; Владим. гос. ун-т. им. А. Г. и Н. Г. Столетовых. – Владимир : Изд-во ВлГУ, 2025. – 280 с. – ISBN 978-5-9984-2085-6. – Электрон. дан. (9,43 Мб). – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM). – Систем. требования: Intel от 1,3 ГГц ; Windows XP/7/8/10 ; Adobe Acrobat Reader ; дисковод CD-ROM. – Загл. с титул. экрана.

Содержит теоретический материал, который отражает основные биотехнологические методы, применяемые для защиты окружающей среды, такие как: биоиндикация, биомониторинг, биотестирование, биоремедиация, биоэнергетика, биологическая очистка газовоздушных выбросов и сточных вод, применение биопестицидов, биоудобрений, биопластиков и биосурфактантов.

Предназначено для студентов очной формы обучения направления подготовки 05.03.06, 05.04.06 – Экология и природопользование при изучении дисциплин «Экобиотехнология» и «Экологическая биотехнология».

Рекомендовано для формирования профессиональных компетенций в соответствии с ФГОС ВО.

Табл. 11. Ил. 131. Библиогр.: 132 назв.

ISBN 978-5-9984-2085-6

© Космачева А. Г.,
Марцев А. А., 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
Глава 1. ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ КАК РАЗДЕЛ ОБЩЕЙ БИОТЕХНОЛОГИИ	7
1.1. Основы биотехнологии	7
1.2. Понятие экологической биотехнологии	15
Контрольные вопросы	18
Глава 2. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЙ В ЭКОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ.....	19
2.1. Биоиндикация и биомониторинг	21
2.2. Биотестирование	45
2.3. Биосенсоры в экологическом мониторинге	50
Контрольные вопросы	67
Глава 3. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЧИСТКА ГАЗОВОЗДУШНЫХ ВЫБРОСОВ.....	71
3.1. Биофильтры	75
3.2. Биоскрубберы	77
3.3. Биореакторы с омываемым слоем.....	79
Контрольные вопросы	80
Глава 4. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЧИСТКА СТОЧНЫХ ВОД	82
4.1. Сточные воды и методы их очистки	82
4.2. Биологические пруды	88
4.3. Поля орошения и поля фильтрации	90
4.4. Биологические фильтры	93
4.5. Аэротенки и активный ил	98
4.6. Анаэробная очистка сточных вод	135
Контрольные вопросы	154

Глава 5. БИОЛОГИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА БОРЬБЫ С ВРЕДИТЕЛЯМИ.....	157
5.1. Понятия пестицидов и биопестицидов.....	157
5.2. Применение биопестицидов в борьбе с вредителями сельскохозяйственных культур.....	165
5.2.1. Борьба с вирусными болезнями растений	166
5.2.2. Борьба с бактериальными заболеваниями растений	171
5.2.3. Борьба с грибковыми болезнями растений	173
5.2.4. Борьба с насекомыми-вредителями растений.....	176
5.2.5. Борьба с сорными растениями.....	186
5.3. Применение биопестицидов в борьбе с переносчиками заболеваний человека и животных	192
Контрольные вопросы	197
 Глава 6. БИОПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПЛОДОРОДИЯ ПОЧВ И ПРОДУКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ (БИОУДОБРЕНИЯ).....	 200
6.1. Бактериальные биоудобрения.....	201
6.2. Грибковые биоудобрения.....	210
6.3. Биоудобрения на основе водорослей.....	214
6.4. Перспективы использования архей в биоудобрениях	216
Контрольные вопросы	217
 Глава 7. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЙ В БИОРЕМЕДИАЦИИ	 219
7.1. Основы биоремедиации.....	219
7.2. Организмы, применяемые в биоремедиации	221
7.2.1. Использование бактерий для биоремедиации	222
7.2.2. Использование грибов для биоремедиации	228
7.2.3. Использование растений для биоремедиации	233
7.2.4. Использование простейших для биоремедиации	236
7.2.5. Использование животных для биоремедиации	236
Контрольные вопросы	238

Глава 8. БИОЭНЕРГЕТИКА	240
8.1. Твёрдое биотопливо.....	242
8.2 Жидкое биотопливо	244
8.3. Газообразное биотопливо.....	247
Контрольные вопросы	248
 Глава 9. БИОРАЗЛАГАЕМЫЕ БИОПОЛИМЕРЫ (БИОПЛАСТИКИ)	 250
Контрольные вопросы	253
 Глава 10. БИОСУРФАКТАНТЫ	 254
10.1. Основные понятия сурфактантов и биосурфактантов	254
10.2. Использование биосурфактантов в нефтяной промышленности	257
10.3. Применение биосурфактантов в сельском хозяйстве	258
10.4. Применение биосурфактантов в медицине, фармакологии и косметологии.....	259
10.5. Применение биосурфактантов в пищевой промышленности	260
10.6. Применение биосурфактантов в производстве моющих и чистящих средств	262
Контрольные вопросы	262
 ЗАКЛЮЧЕНИЕ	 264
 БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК ИСТОЧНИКОВ	 265

ВВЕДЕНИЕ

Экологическая биотехнология – это специальное применение биологических систем и процессов для решения задач охраны окружающей среды и рационального природопользования. Цель освоения дисциплины – формирование у студентов-экологов теоретических знаний и практических навыков, связанных с использованием современных методов экобиотехнологии.

Успешное освоение материала пособия способствует формированию ключевых компетенций, необходимых для эффективного решения профессиональных задач на основе глубокого понимания законов функционирования экосистем.

В результате успешного освоения дисциплины студенты будут:

- знать методы и средства планирования и организации исследований и разработок в области экобиотехнологии, виды современного технологического оборудования, принципы работы очистных сооружений, технологию разработки мероприятий по охране окружающей среды и обеспечению экологической безопасности;
- уметь применять методы анализа научно-технической информации, подбирать оборудование и программное обеспечение для экобиотехнологических расчетов, контролировать состояние окружающей среды с помощью современных методов экологического мониторинга;
- владеть методикой сбора, обработки, анализа и обобщения передового отечественного и международного опыта в области экобиотехнологии, а также навыками экобиотехнологических исследований окружающей среды, методами разработки мероприятий по охране окружающей среды и обеспечению экологической безопасности.

Глава 1. ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ КАК РАЗДЕЛ ОБЩЕЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

1.1. Основы биотехнологии

Биотехнология – это наука, которая изучает возможность использования биологических процессов, организмов или систем для решения определённых технологических задач, получения полезных продуктов и услуг [1, 2].

История применения биотехнологии в первую очередь связана с использованием микроорганизмов для производства продуктов питания. За несколько тысяч лет до нашей эры процессы брожения начали применяться для получения дрожжевого хлеба, творога, сыра, вина, уксуса и других продуктов. Однако использование данных методов осуществлялось на бытовом уровне, научное изучение принципов, лежащих в основе этих процессов, еще не проводилось.

Классическая биотехнология начала формироваться с 1800 года и развивалась до середины двадцатого века. Этот период характеризовался следующими важными научными открытиями:

- Открытие нуклеиновых кислот;
- Разработка метода культивирования бактерий с использованием твёрдых прозрачных питательных сред;
- Исследование процессов брожения Л. Пастером, Э. Бухнером;
- Исследования иммунитета и изобретение вакцины И. Мечниковым;
- Установление роли АТФ как универсального переносчика энергии в клетке;
- Открытие антибиотиков.

Впервые термин «биотехнология» предложил венгерский инженер Карл Эрик (Károly Ereky) в 1919 году, в книге «Биотехнология производства мяса, жира и молока на крупномасштабной сельскохозяйственной ферме» (нем. «Biotechnologie der Fleisch-, Fett- und Milcherzeugung im landwirtschaftlichen Grossbetriebe») (рис. 1). Термин «биотехнология» обозначал процесс, с помощью которого сырьё может быть биологически преобразовано в общественно полезные продукты. В своей книге К. Эрик описывал процесс крупномасштабного промышленного выращивания свиней с использованием сахарной

свеклы в качестве корма. Превращение сырья (свеклы) в целевой продукт (свинину) рассматривалось как ряд биотехнологических этапов. Процесс был назван биотехнологией, так как целевой продукт создавался в результате жизнедеятельности биологических систем [3].

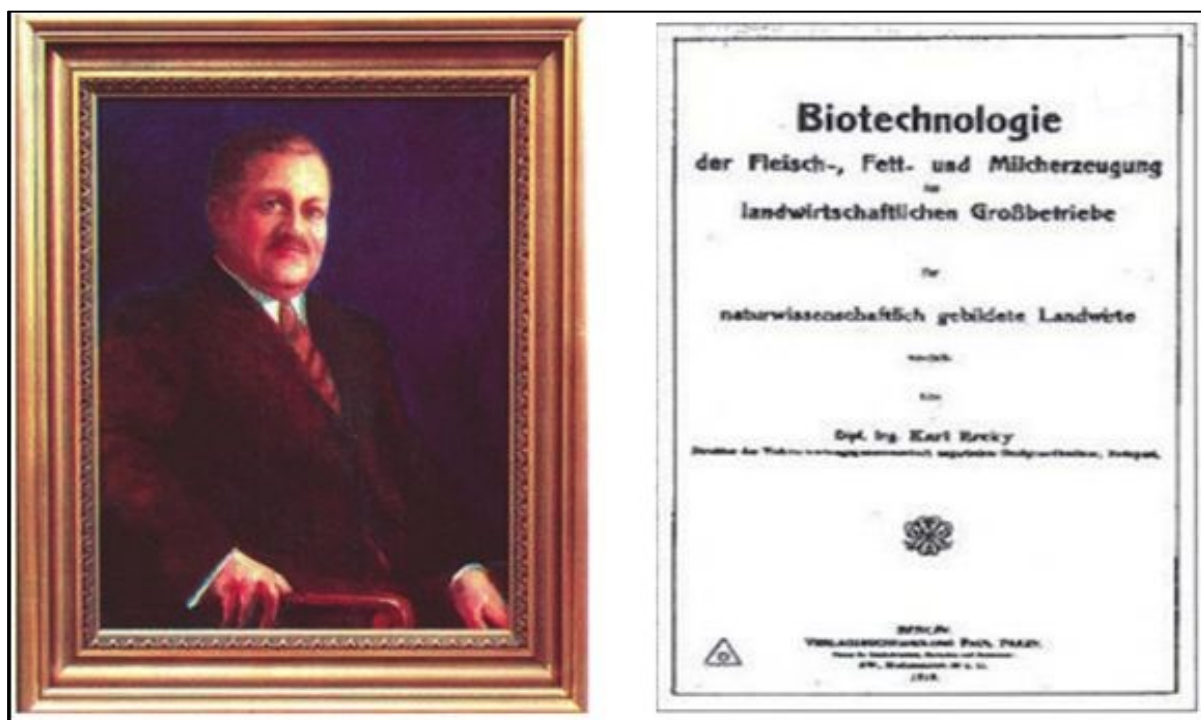


Рис. 1. Портрет К. Эрикe (слева) и титульный лист книги «Биотехнология производства мяса, жира и молока на крупномасштабной сельскохозяйственной ферме» (справа) [3]

После расшифровки структуры ДНК Д. Уотсоном и Ф. Криком в 1953 году произошло стремительное развитие молекулярной генетики, что послужило началу современного этапа развития биотехнологии. К данному периоду можно отнести ряд следующих открытий:

- 1950-е гг. – открытие рибосом Д.Э. Паладе.
- 1958 г. – А. Корнберг получил *in vitro* ДНК с генетической активностью.
- 1959 г. – открыто явление горизонтального переноса генов и продемонстрирована передача устойчивости к антибиотикам между разными видами бактерий.
- 1960 г. – открыта иРНК (мРНК).
- 1961 г. – Ф. Жакоб и Ж. Моно продемонстрировали концепцию оперона.

- 1962 г. – О. Шимомура исследовал зеленый флуоресцентный белок у медузы *Aequorea victoria*.
- 1963 г. – синтезирован первый искусственный инсулин.
- 1968 г. – открыто влияние расположения нуклеотидов в нуклеиновых кислотах на регуляцию синтеза белков в клетке.
- 1970 г. – открыты рестрикционные ферменты.
- 1972 г. – впервые использованы ДНК-лигазы.
- 1972 г. – очищенная обратная транскриптаза впервые использована для получения комплементарной ДНК из очищенной матричной РНК *in vitro*.
- 1973 г. – С. Коэн и Г. Бойер использовали бактериальные гены для проведения первого успешного эксперимента с рекомбинантной ДНК.
- Э. М. Саузерн разработал методику блоттинга ДНК («Саузерн-блоттинг»).
- 1975 г. – предложена теория цитоплазматической гибридизации и синтезированы первые в истории моноклональные антитела.
- 1976 г. – гены дрожжей были экспрессированы в бактериях *E. coli*.
- 1977 г. – разработаны процедуры для быстрого секвенирования длинных участков ДНК.
- 1977 г. – проведено первое успешное экстракорпоральное оплодотворение человека.
- 1978–1979 гг. – впервые использованы генетически модифицированные бактерии для синтеза человеческих инсулина и соматотропина.
- 1981 г. – клонировано первое животное – мышь.
- 1982 г. – получены первые трансгенные мыши.
- 1983 г. – К. Маллис открыл метод полимеразной цепной реакции (ПЦР).
- 1983 г. – получена первая искусственная хромосома и обнаружены первые генетические маркеры для специфических наследственных заболеваний.
- 1985 г. – впервые проведены полевые испытания генно-инженерных растений, устойчивых к вирусам, насекомым и бактериям.

- 1987 г. – обратная транскрипция и ПЦР были использованы для увеличения последовательностей матричной РНК.

- 1987 г. – описана технология ДНК-микрочипов, использующая набор различных ДНК в виде матриц для определения структуры экспрессии.

- 1990 г. – запущен проект «Геном человека».

- 1995 г. – создана первая полная последовательность генов живого организма для бактерии *Haemophilus influenzae*.

- 1996 г. – секвенирован полный геном дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

- 1997 г. – получена первая искусственная хромосома человека.

- 1998 г. – в лабораторных условиях была создана кожа человека.

- 1998 г. – культивированы эмбриональные стволовые клетки.

- 1998 г. – секвенирован полный геном червя *Caenorhabditis elegans*.

- 2000 г. – клонировали взрослую овцу (Долли).

- 2003 г. – завершили секвенирование генома человека.

- 2008 г. – К. Вентер полностью синтезировал генетический код паразитической бактерии *Mycoplasma genitalium*.

- 2008 г. – разработана первая молекула ДНК, состоящая почти полностью из искусственных компонентов.

- 2010 г. – К. Вентер показал, что синтетический геном может дублироваться самостоятельно.

В настоящее время биотехнология представляет собой синтез науки и производства, широко использует достижения генетической инженерии, манипулируя генетической информацией организмов для производства полезных продуктов.

Преимуществами биологических технологий в сравнении с химическими технологиями являются:

- 1) Проведение биотехнологических процессов при относительно невысоких температурах и давлениях;

- 2) Возможность производства специфических веществ, которые невозможно получать за счет химического синтеза;

- 3) В качестве сырья можно использовать дешевые отходы сельского хозяйства и промышленности;

4) Биотехнологические процессы близки к протекающим в природе естественным процессам;

5) Биотехнологические процессы производят меньше вредных отходов.

Различают и «генную биотехнологию» и «не генную биотехнологию» (рис. 2).

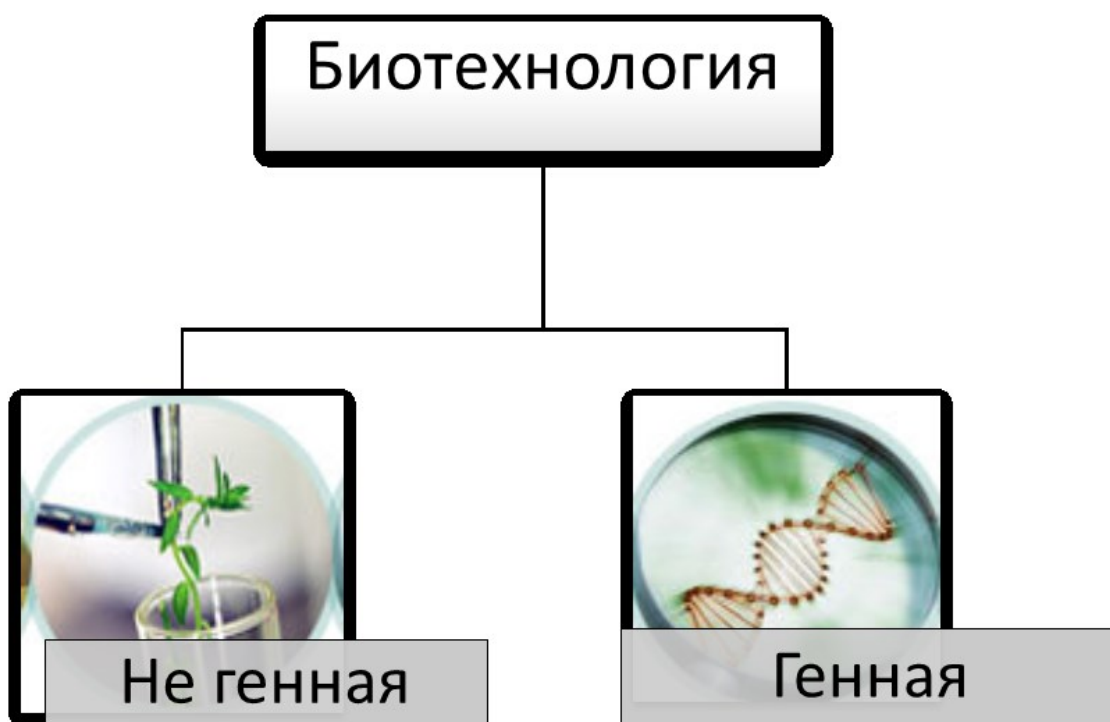


Рис. 2. Генная и не генная биотехнология

Исследования не генной биотехнологии проводятся с клетками, тканями и организмами. Примерами являются: культивирование тканей растений, получение гибридных семян, микробиологическая ферментация, использование биоразнообразия, промышленное применение биологических процессов, контроль и смягчение загрязнения.

Генная биотехнология работает на молекулярно-биологическом уровне, используя методы генной инженерии. Например, занимается переносом генов от одного организма к другому. Методы генетической модификации позволяют получить генетически модифицированные организмы, способные синтезировать продукты, которые невозможно получить естественным путем. *Генетически модифициро-*

ванный организм (ГМО) – организм, генотип которого был искусственно изменён при помощи методов генной инженерии. Генетически модифицированные сорта растений не только характеризуются повышенной урожайностью, но и меньшей потребностью в удобрениях и пестицидах, лучшей устойчивостью к болезням, вредителям, гербицидам и неблагоприятным условиям окружающей среды. Они широко используются в экологической биотехнологии для разложения химических веществ, создания биосенсоров для отдельных соединений или химических групп [2].

Объектами биотехнологии могут являться живые организмы (бактерии, археи, грибы, простейшие, растения, животные), клетки и ткани (растений, животных, человека), клеточные органоиды (клеточные мембраны, рибосомы, хлоропласты, митохондрии), биологические макромолекулы (белки, нуклеиновые кислоты), способные осуществлять модификацию исходного сырья с целью получения необходимого продукта (рис. 3). Основными объектами биотехнологических производств являются микроорганизмы, что обусловлено особенностью их метаболизма – способностью использовать большое разнообразие веществ в качестве источников энергии и углерода [4].

Главные требования к объекту при включении его в биотехнологический процесс [4]:

- 1) сохранение его основных физиолого-биохимических свойств в процессе длительного ведения биотехнологического процесса;
- 2) устойчивость к мутационным воздействиям;
- 3) резистентность к посторонней микрофлоре (контаминации);
- 4) безопасность для человека и окружающей среды;
- 5) высокие выходы продукта;
- 6) приемлемые технико-экономические показатели.



Рис. 3. Объекты биотехнологии

Биотехнология тесно связана с рядом таких наук, как: биохимия, молекулярная биология, клеточная биология, микробиология, генетика, медицина, инженерные технологии, экология, химия, физика и другие.

В свою очередь биотехнология оказывает влияние на различные технологии, основанные на применении биологических процессов в производстве, сельском хозяйстве, пищевой промышленности, медицине, охране окружающей среды и ресурсосбережении [1, 2].

Принято разделение биотехнологии на различные области, известные как цветовая классификация биотехнологий (рис. 4) [5]. В соответствии с представленной классификацией, экологическая биотехнология характеризуется как «серая».

Красная	Биомедицина, биофармацевтические препараты, диагностика
Желтая	Пищевая биотехнология, диетология
Голубая	Аквакультура, прибрежная и морская биотехнология
Зелёная	Сельскохозяйственная биотехнология, биоэнергетика, биоудобрения, биоремедиация, геомикробиология
Коричневая	Биотехнология засушливых зон и пустынь
Чёрная	Биотерроризм, биологическая война, биокриминалогия
Фиолетовая	Юридические, этические и философские вопросы биотехнологии
Белая	Промышленная биотехнология
Золотая	Биоинформатика, нанобиотехнологии
Серая	Экологическая биотехнология

Рис. 4. Цветовая классификаций биотехнологий [5]

1.2. Понятие экологической биотехнологии

Экологическая биотехнология – это раздел биотехнологии, занимающийся решением задач охраны окружающей среды и рационального природопользования путем промышленного применения биологических объектов и биологических процессов.

Развитие различных видов деятельности человека способствовало увеличению загрязнения окружающей среды. К концу XX века стало очевидным, что состояние окружающей среды может быть изменено только благодаря пониманию основных взаимосвязей между биологическими, биофизическими, биохимическими явлениями и процессами. В связи с этим произошло развитие направления экологической биотехнологии для решения проблем, связанных с экологическими рисками и управления ими. Стратегия «устойчивого развития», принятая на «Саммите Земли» в Рио-де-Жанейро в 1992 году определила направление преодоления экологического кризиса. Данная стратегия предусматривает удовлетворение потребностей человечества при одновременном сохранении здорового и жизнеспособного мира для будущих поколений. Одним из ключевых соглашений саммита стала Конвенция о биологическом разнообразии, которая устанавливает обязательства по поддержанию мировых экологических основ в процессе экономического развития. Таким образом, экологическую биотехнологию можно рассматривать как движущую силу комплексной охраны окружающей среды, ведущую к устойчивому развитию. Преодоление экологического кризиса возможно путем повышения эффективности использования биотехнологий для преобразования опасных отходов и загрязняющих веществ в полезные побочные продукты или безвредные метаболиты. Применение экологических биотехнологий в различных отраслях промышленности способствует экологическим и экономическим выгодам, включая снижение затрат на переработку и повышение качества продукции.

В 1992 году было создано Международное общество экологической биотехнологии – ISEB (International Society for Environmental Biotechnology), являющееся междисциплинарным обществом ученых, инженеров и других специалистов, объединяющих усилия для продвижения экологической биотехнологии. Международное общество экологической биотехнологии определяет экологическую биотехно-

логию как: «разработку, использование и регулирование биологических систем для восстановления загрязненной окружающей среды и экологически безопасных процессов».

Экологическая биотехнология связана с применением биотехнологии как новой технологии в контексте охраны и мониторинга окружающей среды, ресурсосбережения, обращения с отходами, а также сельского хозяйства. Благодаря использованию живых организмов совершенствуются методы экологически чистого производства, биоэнергетики, биоремедиации, биотрансформации. Экологическая биотехнология расширяет возможности предотвращения загрязнения и образования опасных отходов путем использования биотехнологических аналогов и разработки биоразлагаемых материалов [2].

Основные задачи экологической биотехнологии:

1. Обеспечение экологической безопасности действующих производств;
2. Создание ресурсосберегающих и «безотходных» технологий;
3. Очистка природных сред от техногенных загрязнений;
4. Восстановление плодородия земель, выведенных из хозяйственного пользования в результате деятельности человека;
5. Замена химических препаратов сельскохозяйственного назначения экологически чистыми биологическими препаратами;
6. Разработка биополимеров, биологических поверхностно-активных веществ;
7. Переработка отходов;
8. Предотвращение биокоррозии, биоповреждений, биообрастаний;
9. Биомониторинг и биотестирование.

Основные области применения экологической биотехнологии включают (рис. 5):

- 1) Биоремедиацию почвы.
- 2) Очистку сточных вод.
- 3) Очистку газовоздушных выбросов.
- 4) Биоэнергетику (усовершенствованные источники энергии на основе биологических процессов).
- 5) Контроль качества среды (биоиндикация, биомониторинг, биотестирование).

6) Предотвращение загрязнений окружающей среды (создание биосурфактантов, биоудобрений, биопестицидов, биополимеров).

7) Биотехнологическую переработку отходов.



Рис. 5. Основные области применения экологической биотехнологии

В Российской Федерации в составе Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук существует лаборатория экологической биотехнологии. Основными направлениями деятельности данной лаборатории являются:

1) Изучение механизмов взаимодействия микроорганизмов и растений в ассоциациях и симбиозах в условиях техногенного загрязнения окружающей среды для создания научных основ новых экологических и сельскохозяйственных биотехнологий.

2) Выяснение роли растительно-микробных взаимодействий в трансформации и деградации загрязнителей окружающей среды.

3) Исследование метаболических путей и ключевых ферментов деградации нефтяных углеводородов, полициклических ароматиче-

ских углеводов, пестицидов и других поллютантов бактериями, грибами, растениями, их ассоциациями и симбиозами.

3) Разработка и внедрение технологий биоремедиации (в том числе фито- и микоремедиации) загрязненных природных и хозяйственных объектов.

3) Поддержание и пополнение Коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН¹.

Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятия «биотехнология».
2. Перечислите преимущества биологических технологий перед химическими технологиями.
3. Перечислите объекты биотехнологии.
4. Назовите главные требования к объекту при включении его в биотехнологический процесс.
5. Перечислите области биотехнологий согласно цветовой классификации.
6. Дайте определение понятия «экологическая биотехнология».
7. Перечислите задачи экологической биотехнологии.
8. Перечислите основные области применения экологической биотехнологии.

¹ Лаборатория экологической биотехнологии ИБФРМ РАН. Режим доступа: https://ibppm.ru/laboratoriya_ekologicheskoy_biotehnologii.html?ysclid=m59vuww4uu412484646 (дата обращения: 26.05.2025)

Глава 2. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЙ В ЭКОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ

Экологический мониторинг – комплексная система наблюдений, оценки и прогноза изменений состояния окружающей природной среды под влиянием природных и антропогенных факторов.

Загрязнение воды, воздуха и почвы стало постоянной экологической проблемой из-за быстрой индустриализации и урбанизации. Мониторинг окружающей среды имеет огромное значение для её защиты. Здоровье экосистемы является основополагающей нормативной концепцией и представляет собой цель экологического менеджмента.

Экологический мониторинг осуществляется путем регулярного измерения набора выбранных критериев. В предыдущие десятилетия программы экологического мониторинга в основном были сосредоточены на измерении физических и химических параметров. Недостатками данных методов являются высокая стоимость и ограниченная информация о токсическом воздействии. Помимо химических измерений в физических средах, программы экологического мониторинга в последнее время включают определение уровней загрязняющих веществ в биоте, а также оценку различных реакций и параметров биологических или экологических систем.

Вредное воздействие токсичных химических веществ на экосистемы привело к увеличению спроса на системы раннего предупреждения, позволяющие обнаруживать токсиканты при очень низких концентрациях. Таким образом, экобиотехнология в защите окружающей среды тесно связана с токсикологией и экотоксикологией (рис. 6).

Токсикология – это наука, изучающая ядовитые вещества и их действие на живые организмы.

Экологическая токсикология – это наука, изучающая проблемы, связанные с особенностями взаимодействия поллютантов с компонентами экосистем. Экотоксикология рассматривает механизмы неблагоприятных эффектов воздействия загрязнителей на биологические мишени, как правило, на уровне популяций или экологической системы в целом. В сферу деятельности данной науки входит разработка принципов и методов оценки воздействия ксенобиотиков на

биологические объекты, регистрация ущерба, наносимого организмам, предотвращение возможного ущерба, разработка мер по устранению ущерба, перспективный анализ рисков.



Рис. 6. Взаимосвязь экологической биотехнологии, токсикологии и экологической токсикологии

Биоиндикация и биомониторинг должны основываться на комплексном подходе, то есть позволять делать выводы на уровне экосистем. Первыми были разработаны биологические методы, основанные на подсчете количества видов растений, животных микроорганизмов, а также количества особей этих видов. Современные методы биотехнологии в сочетании с информационными технологиями позволяют отслеживать процессы на молекулярном уровне, получать информацию в режиме реального времени и проводить компьютерный анализ в сложных экологических системах.

Способность реагировать на стрессоры является важной характеристикой всех живых систем. Стресс является движущей силой эволюции, обуславливая развитие видов и экосистем в целом. В течение эволюционных эпох диапазон изменения факторов стресса до-

вольно постоянен, и позволяет видам приспосабливаться к меняющимся условиям окружающей среды. Однако в результате деятельности человека окружающая среда подвергается воздействию новых, ранее не существующих веществ (ксенобиотиков), а также многих потенциально вредных веществ, выделяющихся в значительных количествах (например, тяжелых металлов). Накопление этих химических веществ оказывает сильную нагрузку на природные экосистемы. В Европе производится и продается 2604 различных химических веществ в количествах, превышающих 1000 тонн в год. Загрязнение, фрагментация и утрата среды обитания, усиление сельского хозяйства и демографическая нагрузка приводят к резким изменениям в биоразнообразии. Утрата биологического разнообразия представляет собой серьезную проблему и требует разработки соответствующих стратегий управления земельными ресурсами и надлежащих инструментов мониторинга. Помимо экологических последствий, утрата видового разнообразия может повлиять на экономические процессы. Охрана окружающей среды должна основываться на получении, оценке и прогнозе её состояния. Помимо спутниковых систем наблюдения и инструментальных методов измерения в режиме реального времени, следует шире использовать биоиндикаторные системы, которые предоставляют комплексную информацию об окружающей среде.

2.1. Биоиндикация и биомониторинг

Биоиндикация – это оценка состояния окружающей природной среды с помощью живых объектов. Объектами биоиндикационных исследований могут быть отдельные виды животных и растений, а также целые экосистемы. Сущность биоиндикации заключается в том, что определенные факторы среды создают возможность существования вида [6].

Биоиндикатор – это организм (часть организма/ сообщество организмов), который содержит информацию о качестве окружающей среды (или части окружающей среды).

Биоиндикация является инструментом традиционной природоохранной биологии. Индикаторные таксоны – это виды, чувствительные к процессам или загрязнителям, приводящим к изменению биоразнообразия. Они служат индикатором состояния конкретной среды

обитания, сообщества или экосистемы. Таксоны-индикаторы используются в качестве индикаторов биоразнообразия, для выявления последствий изменений окружающей среды, таких как изменение среды обитания и изменение климата в пространственном и временном масштабе. Исследования в области изменения климата часто фокусируются на определенных целевых видах, которые чувствительно реагируют на наблюдаемые параметры (такие как изменение количества осадков или температуры). Виды-индикаторы могут выступать в качестве заменителей других групп организмов или более крупных сообществ. Видовое богатство одной группы таксонов принимается за оценку видового богатства другого таксона или функционального типа. Показатели биоразнообразия коррелируют с генетическими переменными (аллельное разнообразие, инбридинг, гетерозиготность), факторами на популяционном или ландшафтном уровне (демография, динамика численности и метапопуляции) [7].

Биологический мониторинг – это система наблюдений и оценки прогноза изменений в биоте, вызванных факторами антропогенного происхождения. В задачи биомониторинга входит регулярно проводимая оценка качества окружающей среды с помощью специально выбранных живых объектов. В качестве таких объектов выступают биологические системы различных уровней организации и их реакции на внешние естественные и антропогенные воздействия. Для биологического мониторинга на организменном и популяционном уровне разрабатывается своя методика наблюдений и устанавливается определенный набор функциональных характеристик. Мониторинг популяций и биоценозов должен производиться в стационарных условиях как на эталонных участках, так и на территориях, подверженных антропогенному воздействию. Он включает наблюдения за видовым составом, обилием, структурой, продуктивностью и другими характеристиками. Особый интерес представляют наблюдения за аккумуляцией растениями и животными химических веществ, выделяемых в процессе промышленного производства, при аварийных выбросах или применяемых в сельском и лесном хозяйстве, их миграцией по цепям питания и распределением по трофическим уровням в биоценозах, расположенных в различных природных зонах. В качестве критериев оценки экологического состояния популяций и биоценозов выступают структурные и функциональные показатели, характеризующие со-

стояние растительности и животного мира. Среди них следует выделить такие показатели, как изменение видового состава фито- и зооценозов, уменьшение разнообразия видов в биоценозах, сокращение площади коренных ассоциаций, изменение плотности (численности) популяций видов-индикаторов и другие. Мониторинг биоразнообразия включает слежение и контроль за многообразием видов, флористическим и фаунистическим разнообразием территорий и акваторий, разнообразием биоценозов. Его задача состоит в том, чтобы регулярно составлять информацию о том, где и с какой скоростью изменяется биоразнообразие. В связи с этим разрабатываются стандартные методы мониторинга и определяются приоритеты, которые должны обеспечить накопление данных, необходимых для понимания современного и будущего статуса биоразнообразия. В настоящее время создаются системы мониторинга изменений биоразнообразия [8].

Биомониторинг может использовать временные и географические изменения в определенных биологических системах для представления изменений об окружающей среде. Некоторые организмы или сообщества могут реагировать на воздействие окружающей среды изменением, поддающемся измерению биологической функции или химического состава. Эти реакции называются биоиндикаторами или биомаркерами. Биомаркер – это поддающийся измерению биологический параметр, структурные или функциональные изменения которого указывают на воздействие окружающей среды в целом и загрязняющих веществ в частности [7]. Они используются в программах биомониторинга для получения биологической информации о воздействии загрязняющих веществ на живые организмы.

В биомониторинге могут быть использованы следующие биомаркеры:

- молекулярные (экспрессия генов, целостность ДНК);
- биологические (ферменты, специфические белки, индикаторные соединения);
- цитопатологические;
- гистопатологические;
- физиологические и поведенческие аспекты.

Биомаркеры должны обладать следующими характеристиками:

- чувствительность – они должны действовать как раннее предупреждение);

- специфичность для одного соединения, либо для класса соединений;
- простота в использовании;
- надежность;
- долговечность.

Биомонитор – это организм (часть организма/ сообщество организмов), который содержит информацию о количественных аспектах качества окружающей среды.

Так как биомониторинг является активной биоиндикацией, биомонитор всегда является биоиндикатором, но биоиндикатор не обязательно является биомонитором.

Биомониторы применяются в полевых условиях в течение определенного периода времени воздействия, по истечении которого анализируются ксенобиотики, поглощенные организмом, или регистрируются вызванные ими реакции. Индикаторные организмы, демонстрируют специфические или неспецифические эффекты в ответ на воздействие определенного элемента, соединения или ряда веществ. К таким эффектам относятся:

- изменения в морфологической, гистологической, клеточной структуре организмов;
- изменение метаболических и биохимических процессов организмов;
- изменение в поведении организмов;
- изменения в структуре популяции [8].

Классические флористические, фаунистические и биоценотические исследования фиксируют, преимущественно, неспецифичные реакции на воздействие загрязняющих веществ. Новейшие методы основаны на применении биомаркеров и биосенсоров.

Далее будут рассмотрены некоторые примеры биомониторинга окружающей среды.

Генетические исследования в экологическом мониторинге (генетический мониторинг)

Генетический мониторинг – это контроль и наблюдение за динамикой генетических изменений в популяциях живых организмов.

Загрязнение окружающей среды является причиной увеличения частоты мутаций и объема генетической нагрузки в популяциях людей и животных. Изменения генетического материала могут переда-

ваться последующим поколениям, в связи с чем генетический мониторинг имеет важное значение. Исследования могут проводиться на молекулярном, клеточном, организменном и популяционном уровнях (табл. 1). К исследуемым организмам относятся: бактерии, грибы, растений и животные [9].

Таблица 1. Общая характеристика генетического мониторинга [9]

Уровень исследования	Регистрируемые изменения генетического материала	Тестируемый материал
Молекулярный	ДНК-повреждения, внеплазменный синтез ДНК	Изолированная ДНК и РНК из клеток организмов <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>
Клеточный	Генные мутации, конверсия, анеуплоидия, сестринские хроматидные обмены, хромосомные aberrации, микроядра, клеточная трансформация	Одноклеточные организмы, отдельные клетки многоклеточных организмов <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>
Организменный	Доминантные летали, видимые и летальные мутации, соматическая и мейотическая рекомбинация	Одноклеточные и многоклеточные организмы
Популяционный	Генетическая структура популяций: частоты аллелей и генотипов	Группы одноклеточных и многоклеточных организмов

К генетическим тестам, используемым для выявления мутагенной и канцерогенной активности в окружающей среде относятся:

1) Тесты на выявление генных мутаций:

- тест Эймса с использованием бактерий сальмонелла (*Salmonella typhimurium*);
- тест на индукцию рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций у дрозофил (*Drosophila melanogaster*);
- тест на индукцию соматической рекомбинации у дрозофил;
- тест на выявление мутаций в пыльцевых зернах растений.

2) Тесты, регистрирующие индуцированные повреждения ДНК:

- выявление ДНК-аддуктов;
- метод ДНК-комет;

- анализ внепланового синтеза ДНК;
- метод щелочной элюции ДНК.

3) цитогенетические тесты (учет частоты хромосомных микроядер в клетках растений, животных и человека) [9].

Цитогенетический гомеостаз, выражающийся в поддержании кариотипа, является одним из показателей состояния организма, и заключается в оценке влияния загрязняющих веществ на клеточные структуры.

В цитогенетических исследованиях среди растений предпочтение отдается многолетним древесным видам. При анализе учитываются следующие показатели:

- митотическая активность;
- процентное соотношение количества клеток по стадиям митоза;
- доля патологических митозов среди общего числа делящихся клеток,
- спектр аномалий деления,
- частота встречаемости клеток с микроядрами;
- доля клеток с разным числом ядрышек в ядре;
- среднее число ядрышек на клетку [10].

В качестве биомаркеров для выявления мутагенного воздействия антропогенных факторов на животные организмы используются цитогенетические характеристики периферической крови амфибий, рыб, рептилий, птиц, обитающих вблизи мест обнаружения загрязнений. Самым простым и широко применяемым методом является микроядерный анализ, который заключается в подсчете частоты клеток с микроядрами и других цитологических аномалий в клетках крови. Достоинствами данного метода являются: информативность, простота, доступность, стабильность результатов, независимость от кариотипа исследуемого вида, возможность проводить тестирование в тканях с низкой митотической активностью, возможность проведения прижизненного неинвазивного скрининга для определения динамики изменения показателя с течением времени. У животных с ядерными эритроцитами, наряду с микроядрами, также встречается довольно широкий спектр морфологических типов ядерных и клеточных аномалий, которые могут предоставить дополнительную информацию об экотоксикологических эффектах. Таким образом, цитологический

анализ может включать следующие группы нарушений и составляющие их аномалии, характерные для животных с ядерными эритроцитами:

1) Цитогенетические нарушения:

- Наличие одного или нескольких микроядер разного размера и формы;
- Разветвленные микроядра – микроядра, соединенные хроматиновыми перемычками;
- Выпячивания (соседние ядра различной формы, ядра, соединенные 1–3 хроматидными перемычками);
- Ядра с нуклеоплазматическим хвостом;
- Клетка в кровотоке на стадии митоза.

2) Цитологические нарушения, которые условно делят на четыре группы:

2.1) Ядерные нарушения:

- Деформация ядра, при котором оно имеет неправильную форму, но сохраняет нормальные размеры. Имеется внутренняя или внешняя инвагинация ядерной оболочки различной формы и размера с множеством ядерных зачатков;
- Ядро, окруженное стенками, смещенное к краю цитоплазмы, иногда соприкасаясь с мембраной;
- Околяядерная вакуоль, которая характерна для начальных стадий разрушения ядра;
- Вакуолизированное ядро.

2.2) Нарушения ядра, связанные с делением клеток:

- Дольчатое ядро – начальная или незавершенная стадия амитоза или образования двуядерных клеток;
- Амитоз – простое деление клетки и ядра без делительного веретена, когда при растяжении они принимают форму гантели;
- Двуядерные клетки – внутри клетки нормального размера имеется два ядра. При этом размер и форма ядер не соответствуют норме, структура хроматина не является аномальной;
- Фрагментация ядра;
- Клетки с сочетанием аномалий.

2.3) Изменения формы, цвета и размера клеток:

- Пойкилоцитоз – изменение формы эритроцитов. Указывает на снижение эластичности клеточной мембраны, что характерно для подавления эритропоэза;

- Гипохромия – изменение цвета цитоплазмы клетки, указывает на недостаточное содержание гемоглобина;

- Анизоцитоз – эритроциты с изменённым размером самой клетки или ее ядра;

- Безъядерный эритроцит (шистоцит).

2.4) Дегенеративные изменения в клетках и ядрах:

- Вакуолизированная цитоплазма. В эритроците может быть от одной до нескольких вакуолей разного размера. Иногда вакуоль разрывает плазматическую мембрану клетки. Это связано с очищением клетки от вредных внеклеточных токсинов. Характерен при воздействии токсических факторов или на начальных стадиях развития патологического процесса в организме;

- Кариопикноз – утолщение хроматина ядра, который становится темным и бесструктурным;

- Кариорексис – распад ядерного хроматина на отдельные структуры;

- Кариолиз – это потеря хроматином способности окрашиваться и его растворение;

- Апоптоз;

- Лизис – поздняя стадия разрушения клетки. Процесс, заключающийся в распаде клетки. Ядро теряет свою структуру, цитоплазма часто отсутствует [11].

Использование микроорганизмов в биоиндикации и биомониторинге

Воздействие загрязняющих веществ также оказывает негативное влияние на микробиоценозы, что находит применение при биоиндикации и биомониторинге окружающей среды. Общие подходы к микробиотическому анализу качества природных объектов сводятся к характеристике структурных и функциональных особенностей микробиоты [12].

Исследование микробиоценозов широко используется для биоиндикации почв. Это связано с тем, что круговорот и преобразование веществ, производство биомассы, деградация токсинов регулируются микробным метаболизмом, следовательно, изменение структуры микробного сообщества влияет на экологическую функцию почвенных

экосистем. Основные направления исследований воздействия на микробное разнообразие почвенных экосистем включают:

1) Методы, основанные на измерениях параметров, отражающих активность и численность общих микробных сообществ: почвенное дыхание, микробную биомассу, ферментативные процессы почвенных микроорганизмов;

2) Филогенетический анализ с использованием метагеномики или секвенирования гена 16S рРНК;

3) Функциональное микробное разнообразие, отражающее способность микробного сообщества использовать набор субстратов [13].

К структурным характеристикам относятся показатели общей численности и состава представителей микробных сообществ. Изменения в составе микробиоценоза могут свидетельствовать о загрязнении. Например, доминирование родококков, увеличение или доминирование численности щелочелюбивых и щелочеустойчивых бактерий служат индикаторами антропогенного влияния на почвы. Показатели изменения родовой структуры и снижения антибиотического потенциала актиномицетных сообществ служат индикатором повышенного содержания тяжелых металлов [12]. К методам исследования структуры микробиома почв относятся определение биомассы микробного углерода и эргостерола в качестве индикаторов общей микробной и грибковой биомассы, а также высокопроизводительное секвенирование. Например, анализ ампликонных библиотек, основанный на секвенировании 16S рРНК, выявил изменения в составе прокариотического сообщества почвы под воздействием антибактериальных препаратов, что может быть продемонстрировано графиком сравнения обилия бактерий на уровне рода по исследованным образцам (рис. 7) и тепловой картой динамики обилия бактерий на уровне отряда (рис. 8). Структура микробных сообществ также оценивается по показателям альфа- и бета-биоразнообразия [13].

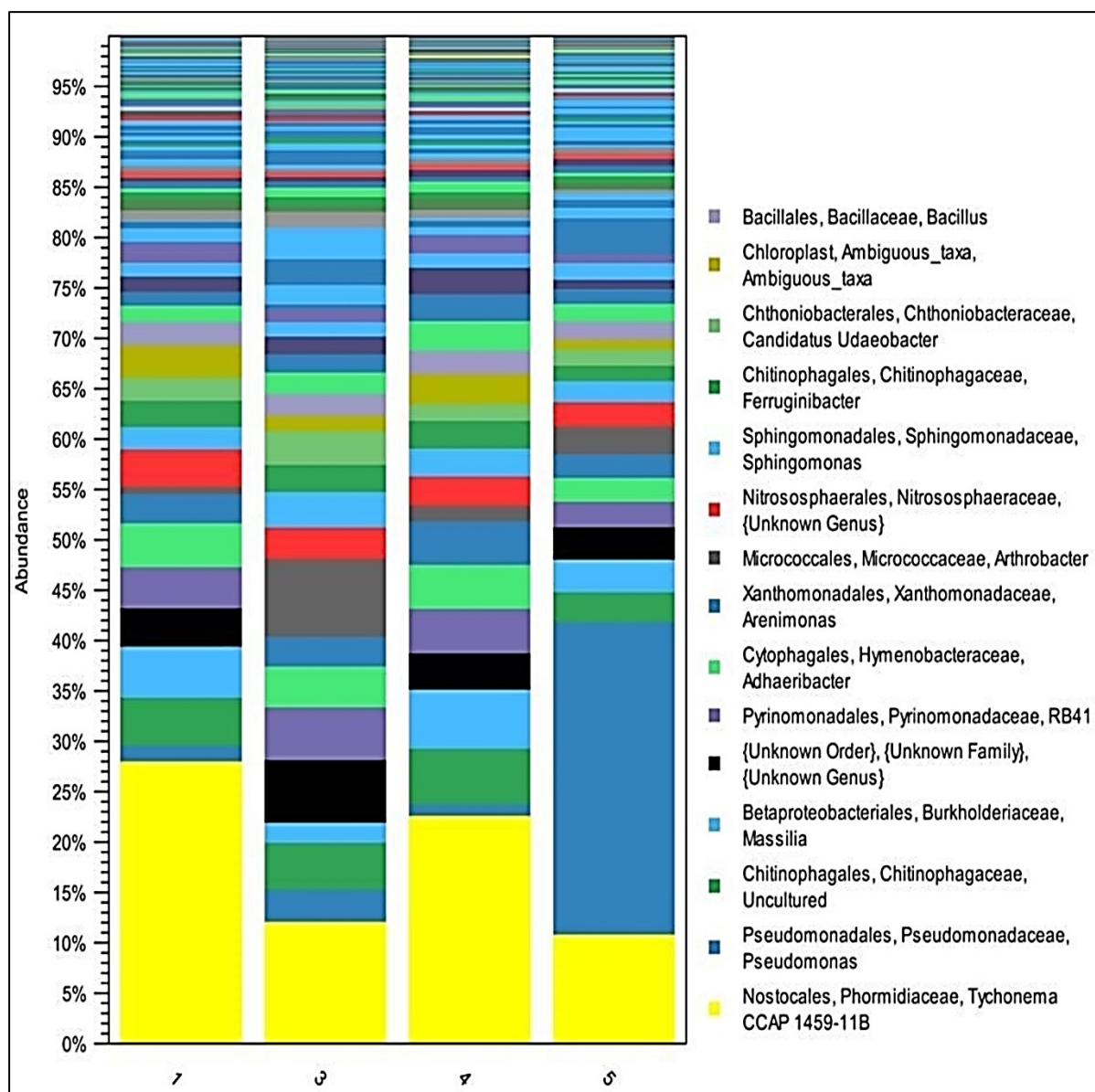


Рис. 7. Графическое сравнение обилия бактерий на уровне рода по исследованным образцам. Ось ординат отображает обилие (Abundance) в %. Цифрами по оси абсцисс обозначены образцы почв: 1 – необработанная почва (контроль), 2 – почва, обработанная бензилпенициллином, 3 – почва, обработанная окситетрациклином, 4 – почва, обработанная тилозином [13]

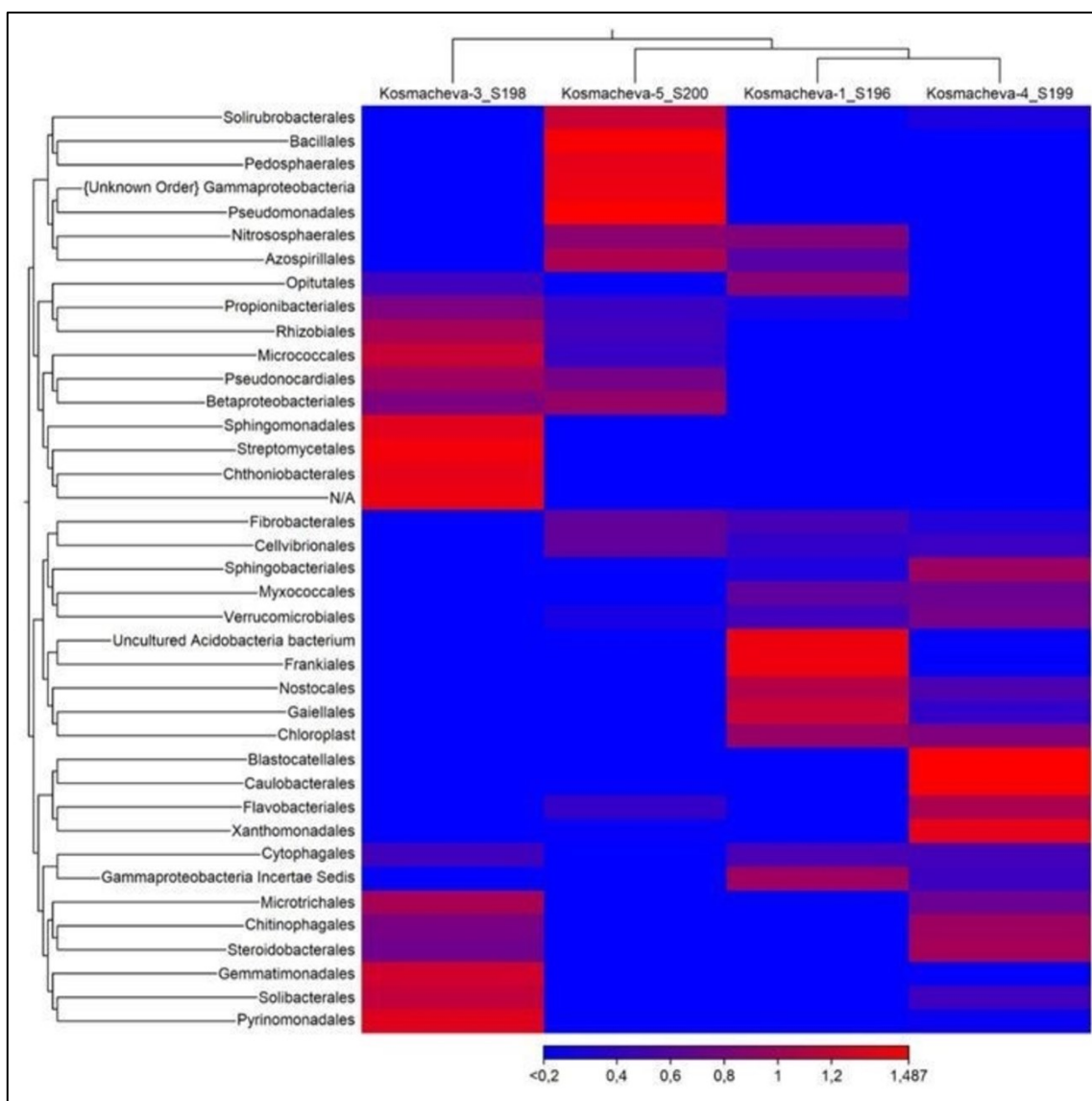


Рис. 8. Тепловая карта динамики обилия бактерий на уровне отряда. Сверху указаны почвенные образцы: незагрязненная почва (1), загрязненная бензилпенициллином (2), тилозином (4), окситетрациклином (3) [13]

Среди экофизиологических параметров функционирования почвенной микробиоты наиболее часто оценивают показатели ферментативной активности и почвенного дыхания. Активность ферментов указывает на способность микробных сообществ осуществлять биохимические превращения, такие как окислительно-восстановительные процессы, гидролиз органических соединений, синтез и распад гумуса, которые необходимы для поддержания гомеостаза экосистемы и качества почвы. В связи с этим, устойчивое функционирование почвенных экосистем в значительной мере обусловлено биологической активностью бактериальных и грибных сообществ, обеспечивающих

круговорот вещества и энергии. В многочисленных исследованиях показано, что воздействие таких поллютантов, как тяжелые металлы, нефтепродукты, поверхностно-активные вещества, пестициды, лекарственные препараты, снижает ферментативную активность почв, что приводит к нарушению гомеостаза экосистем.

Микробная индикация объектов окружающей среды также включает санитарно-гигиенические исследования. Наличие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, их количественный и видовой состав являются критериями качества и эпидемиологической безопасности. Например, бактерии группы кишечной палочки служат показателем фекального загрязнения среды.

Растительные организмы в биоиндикации и биомониторинге

Фитодиагностика окружающей среды – это оценка состояния окружающей среды с помощью растительных организмов. Она включает два методических подхода: фитоиндикацию и фитотестирование.

Фитоиндикация – это способ определения свойств природной среды, основанный на изучении состояния растений по различным признакам. Различают:

- пассивную фитоиндикацию, при которой наблюдения за растениями проводят в природных экосистемах;
- активную фитоиндикацию, при которой оценку состояния проводят в контролируемых условиях у растений, посаженных на определенных участках [12].

Среди фитоиндикационных показателей выделяют:

1) Статические – показатели, которые характеризуют статус растения в определенный момент времени. К ним относятся:

- метрические – такие, как: число, вес, размер морфоструктур;
- аллометрические – показатели, которые характеризуют соотношение разных частей растений в развитии. Например, площадь листьев на единицу фитомассы. Эти показатели являются более стабильными, так как имеют меньшую внутригрупповую дисперсию.

2) Динамические – показатели, которые характеризуют темпы роста и формирования особей растений и их отдельных частей за определенные промежутки времени. Они подразделяются на:

- метрические – характеризуют динамику в онтогенезе отдельного метрического признака, например, относительная скорость формирования поверхности листьев;

- аллометрические – характеризуют динамику в онтогенезе аллометрических соотношений [12].

Биомаркерами загрязнения окружающей среды также служат биохимические параметры растений, такие как: активность пероксидазы, перекисного окисления липидов, содержание антиоксидантов. Например, активность пероксидазы увеличивается при загрязнении тяжелыми металлами. Ртуть вызывает ингибирование активности нитратредуктазы.

Использование растений для биологического мониторинга имеет как преимущества, так и недостатки (табл. 2).

Таблица 2. Преимущества и недостатки использования растений для биомониторинга

Преимущества	Недостатки
1) Экономичность, которая обусловлена низкой себестоимостью. 2) Растения имеют широкий ареал обитания. 3) Могут быть использованы для качественного и количественного анализа. 4) Могут применяться для непрерывного и комплексного мониторинга. 5) Могут использоваться как для локального мониторинга, так и для мониторинга на больших расстояниях.	1) Растения подвержены сезонным и климатическим колебаниям и стрессам. 2) В основном используются в долгосрочных исследованиях, так как краткосрочные изменения трудно зарегистрировать. 3) При проведении сравнительных исследований необходимо выбирать один и тот же вид в связи с тем, что разные виды обладают различными свойствами биоаккумуляции.

Далее приведены некоторые примеры использования растительных организмов для биоиндикации.

Так как листовая пластина является весьма чувствительным органом, по изменению её состояния можно оценить загрязнение почвы и заградмосферного воздуха. Одним из критериев является изменение окраски листьев. Например, под влиянием тяжелых металлов наблюдается хлороз, при воздействии хлоридов – пожелтение краев листьев, при воздействии оксидов серы – покраснение. Другими важными характеристиками являются размер и форма листьев. Показатель флук-

тулирующей асимметрии листьев основан на различии между левой и правой половинами листа. Он используется в фитоиндикации при определении общего уровня антропогенного воздействия. При возрастающем воздействии неблагоприятных факторов показатель флуктуирующей асимметрии листьев увеличивается. В настоящее время применяется специальное программное обеспечение, которое автоматически измеряет площадь поверхности, форму, периметр, зазубренность, повреждение, симметрию, а также определяет индекс симметрии листа (рис. 9) [12, 14].

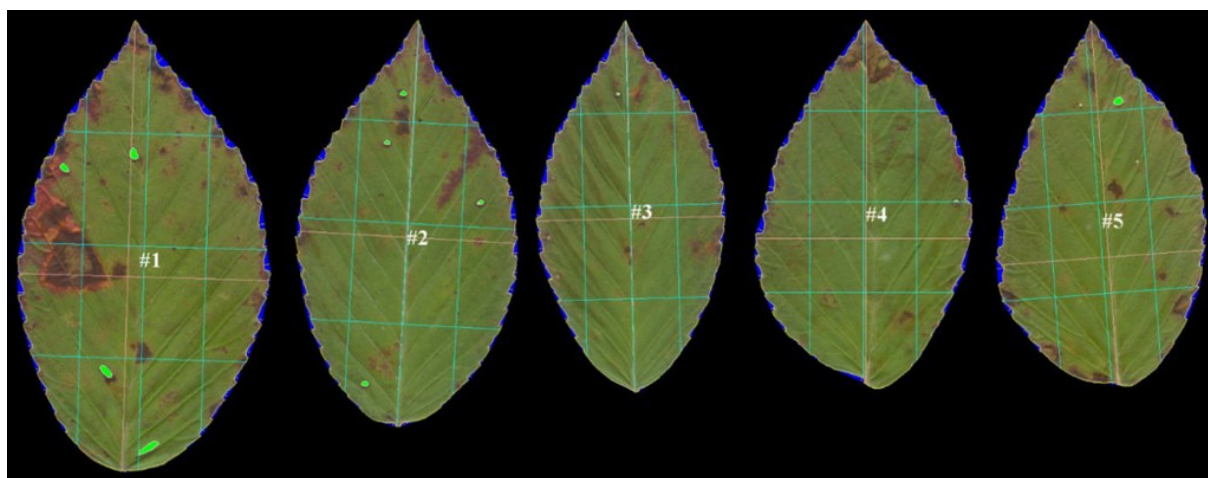


Рис. 9. Обработка листьев песчаной ежевики (*Rubus cuneifolius*) с помощью программного обеспечения LAMINA [14]

Палиноиндикация – это метод оценки качества среды обитания и уровня её загрязнения, при котором в качестве тест-объекта применяются пыльца растений (рис. 10). Данный метод широко используется в различных странах мира. При воздействии загрязнения пыльца претерпевает морфологические, физиологические, ультраструктурные и биохимические изменения. Физиологические изменения можно оценить по жизнеспособности пыльцы с помощью тестов на основе прорастания пыльцы и роста пыльцевых трубок. Установлено, что с повышением уровня загрязнения, увеличивается доля стерильной пыльцы. Изменения биохимического состава могут заключаться в трансформации вторичной структуры пыльцевых белков. Морфологические изменения заключаются в нарушении размеров, формы и целостности пыльцевых зерен. При загрязнении окружающей среды обнаруживается повышенное количество тератоморфной пыльцы

(карликовой, гигантской, с нарушениями экзина). В зонах, подверженных промышленному воздействию и интенсивному движению автомобильного транспорта, увеличивается количество мелких пыльцевых зерен, что обусловлено нарушением процесса роста и деления клеток при образовании первичных клеток археспориума и тетрад микроспор. В условиях высокого уровня твердых пылевых частиц, углекислого газа и оксидов азота в атмосферном воздухе установлено усыхание экзина пыльцы, разрывы экзина, расширение внутренней стенки и выделение протопласта в окружающую среду [15, 16].

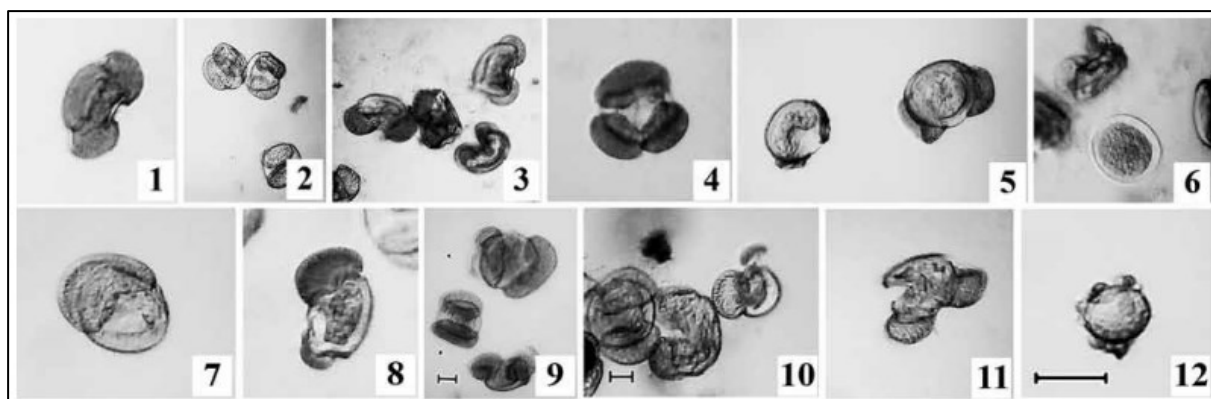


Рис. 10. Микрофотографии пыльцевых зерен сосны обыкновенной: 1 – нормальное, 2 – без содержимого, 3 – неравномерно окрашенные с редуцированным содержимым, 4 – гипертрофированное с тремя воздушными мешками, 5 – с редуцированными воздушными мешками, 6 – без воздушных мешков, 7 – с одним воздушным мешком, 8 – разномешковое, 9 – гигантское, 10 – карликовое, 11 – с разрывами экзины, 12 – карликовое с наростами на экзине. Масштабная линия на микрофотографиях соответствует 20 мкм [15]

При палиноиндикации и палинологическом мониторинге важен выбор чувствительных видов растений, характерных для исследуемой территории. Примерами используемых видов являются: подорожник большой (*Plantago major*), крапива двудомная (*Urtica dioica*), одуванчик лекарственный (*Taraxacum officinale*), кипрей узколистный (*Chamaenerion angustifolium*), пастушья сумка обыкновенная (*Capsella bursa-pastoris*), лисохвост луговой (*Alopecurus pratensis*), ежа сборная (*Dactylis glomerata*), марь белая (*Chenopodium album*), сыть круглая (*Cyperus rotundus*), традесканция бледная (*Tradescantia pallida*), гребенщик нильский (*Tamarix nilotica*), кукуруза обыкновенная (*Zea mays*), рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia*), сирень обыкновенная (*Syringa vulgaris*), сирень венгерская (*Syringa josikae*), липа сердце-

видная (*Tilia cordata*), липа крупнолистная (*Tilia platyphyllos*), липа серебристая (*Tilia argentea*), липа тёмно-зелёная (*Tilia euchlora*), дуб турецкий (*Quercus cerris*), дуб черешчатый (*Quercus robur*), дуб красный (*Quercus rubra*), гинкго билоба (*Ginkgo biloba*), шиповник морщинистый (*Rosa rugosa*), акация нильская (*Acacia nilotica*), берёза пушистая (*Betula pubescens*), клен ясенелистный (*Acer negundo*), яблоня ягодная (*Malus baccata*), осина обыкновенная (*Populus tremula*), сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris*), ель обыкновенная (*Picea abies*), вяз гладкий (*Ulmus laevis*), вяз перистоветвистый (*Ulmus pinnato-ramosa*), азадирахта индийская (*Azadirachta indica*), сизигиум тминный (*Syzygium cumini*), кокосовая пальма (*Cocos nucifera*), павловния войлочная (*Paulownia tomentosa*), эвкалипт красный лесной (*Eucalyptus tereticornis*), конский каштан обыкновенный (*Aesculus hippocastanum*), платан кленолистный (*Platanus x acerifolia*) [15, 16].

Наземные мхи используются в качестве биоиндикаторов с 1960-х годов для решения следующих задач:

- Документирование химического состава атмосферы;
- Составление карт эколого-геохимических изменений в окружающей среде;
- Определение основных источников загрязнения атмосферы.

Мхи обладают разными аккумуляционными способностями по отношению к химическим элементам. Концентрации микроэлементов в тканях мха зависят от вида, морфологии, литологии коренных пород, климата, гидрологии и эдафических условий. Различная способность к ассимиляции приводит к ограничению в выборе конкретного вида мха для биомониторинга. Наиболее широко они используются как индикаторы загрязнения тяжелыми металлами. Рекомендуемыми видами являются: плевроциум Шребера (*Pleurozium schreberi*), гилокомиум блестящий (*Hylocomium splendens*), гипнум кипарисовый (*Hypnum cupressiforme*), псевдосклероподиум чистый (*Pseudoscleropodium purum*), дикранум многоножковый (*Dicranum polysetum*), аулакомниум болотный (*Aulacomnium palustre*), сфагнум центральный (*Sphagnum centrale*), сфагнум узколистный (*Sphagnum angustifolium*), сфагнум оттопыренный (*Sphagnum squarrosum*), фонтиналис противопожарный (*Fontinalis antipyretica*), а также некоторые мхи родов *Stereophyllum* и *Brynus*. Для мониторинга атмосферы урбанизированных территорий рекомендуется пилезия многоцветковая

(*Pylaisia polyantha*). Пробоотбор выполняется на высоте дыхания человека.

Применение мхов для биологического мониторинга атмосферного воздуха имеет как преимущества, так и недостатки (табл. 3).

Таблица 3. Преимущества и недостатки использования мхов для биомониторинга атмосферного воздуха

Преимущества	Недостатки
1) Не имеют корневой системы, поэтому поглощают химические вещества из атмосферы. 2) Не имеют кутикулы, что приводит легкому проникновению ионов металлов в клеточные стенки. 3) Являются лучшими адсорбентами, чем сосудистые растения. 4) Широко распространены. 5) Содержат высокие концентрации микроэлементов. 6) Обладают высокой способностью к катионообмену, что позволяет удерживать и транспортировать многие элементы. 7) Простота и дешевизна методов.	1) Пространственно-временные колебания могут привести к ошибкам в отборе проб и изменению биодоступности микроэлементов. 2) Токсическое воздействие микроэлементов на мхи может привести к непреднамеренной биоконцентрации или биомагнификации. 3) Различные пределы переносимости элементов у разных видов мхов приводят к ошибочной интерпретации реакций организма. 4) Процессы, влияющие на механизмы поглощения и связывания, изучены недостаточно. 5) Для получения репрезентативных данных в течение года необходимо собрать большое количество образцов. 6) Метод применяется в основном для незагрязненных районов, поскольку в загрязненных районах мхи-биоиндикаторы могут отсутствовать.

Лишайники представляют собой симбиотические ассоциации грибов (микобионт) и микроскопических зелёных водорослей (фикобионт) или цианобактерий (цианобионт). Данные организмы также используются при биомониторинге. **Лихеномониторинг** – это комплекс методов, заключающийся в использовании лишайников в качестве биоиндикаторов при оценке качества природной среды. Лишайники были признаны потенциальными индикаторами загрязнения

воздуха в Европе в XIX веке и до настоящего времени широко используются для исследования загрязнения атмосферы.

Свойства лишайников, благодаря которым они используются для целей мониторинга:

- Имеют большое соотношение площади поверхности к объему.
- Не имеют корней, поэтому пассивно поглощают влагу и из атмосферного воздуха, поэтому содержание химических элементов в лишайниках может отражать состав окружающего воздуха.
- Способны поглощать аэрозоли и газы всей поверхностью слоевища в связи с отсутствием устьиц и кутикулы.
- Способны к постоянному накоплению загрязняющих веществ.
- Характеризуются медленным ростом и длительным жизненным циклом.
- Повсеместно распространены.

Х.Х. Трасс разделил методы лишеноиндикации на три группы:

1) Методы, основанные на изучении изменений, происходящих в лишайниках под влиянием загрязнений. У индикаторного вида, чувствительного к загрязнению исследуют такие параметры, как: толщина слоевища, внешний вид апотециев и перитециев, цвет и количество пигментов, изменение биомассы и скорости роста, целостность мембран, содержание растворимых белков, кислотность и электропроводность клеточного сока, содержание тяжелых металлов, серы, радионуклидов и других поллютантов в слоевище лишайника.

2) Методы, основанные на изучении изменений видового состава лишайников, происходящих под влиянием загрязнений.

3) Методы изучения лишайниковых сообществ в загрязненных районах и составление специальных карт. Основаны на том, что изменение видового состава лишайников под влиянием загрязнений вызывает изменения в их сообществах. Данные изменения регистрируют сравнением лишайниковых группировок: а) произведенным одним методом на одной и той же территории через определенные промежутки времени; б) произведенным одновременно одинаковыми методами на однотипных участках обследуемой местности, различающихся по степени загрязнения. Для изучения особенностей лишайникового покрова выбранных участков используют учетные площадки, на которых фиксируют виды лишайников и процент покрытия [17–19].

Еще одним методом лишеноиндикации является трансплантация (пересадка) лишайников с фоновой территории на исследуемую местность. Данный метод позволяет выявлять влияние исследуемых условий при размещении лишайников определенным образом относительно источника загрязнения. Также применяется контролируемая фумигация, которая заключается в создании точечного источника загрязнения и возможности имитации влияний специфических загрязнителей на лишайники. Для экспонирования могут использоваться натуральные субстраты с произрастающими на них лишайниками: ветви и кора деревьев, обломки горных пород и др. Применяются также специальные приспособления: деревянные диски и щиты (рис. 11), деревянные боксы, «лишайниковая карусель» (рис. 12), нейлоновые нити и сети (рис. 13) [17, 19].



Рис. 11. Слева – часть лишайникового диска с *Physcia solediosa*. Справа – лишайниковый диск, содержащий *Physcia solediosa* (верхний ряд) и *Ramalina stenospora* (нижний ряд) [20]

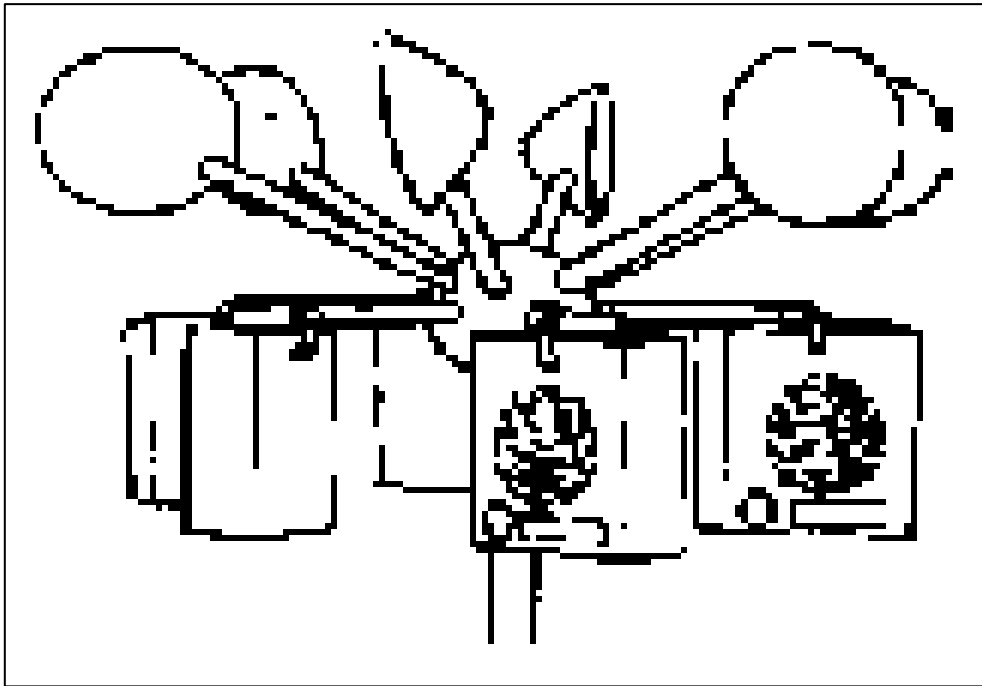


Рис. 12. Лишайниковая карусель. Источник:
https://bio.1sept.ru/view_article.php?ID=200202107



Рис. 13. Нейлоновая сеть с лишайником [21]

Лишайники проявляют различную чувствительность к атмосферным загрязнителям, которая зависит от ряда факторов: вида загрязнения, субстрата, на котором произрастает лишайник, климатических особенностей местообитания. Чувствительность связана с понятием полеотолерантности, характеризующим устойчивость лишайников к химическому загрязнению атмосферного воздуха. В настоящее время разработаны шкалы полеотолерантности лишайников для различных регионов.

По реакции к загрязнению воздуха виды лишайников делят на три категории:

1) Самые чувствительные – исчезающие на начальных этапах загрязнения. Преимущественно, к ним относятся кустистые виды с связи с большей площадью поглощающей поверхности. Примерами самых чувствительных лишайников являются: амандинея точечная (*Amandinea punctata*), артония сизая (*Arthonia caesia*), артония лучистая (*Arthonia radiata*), бацидия розовая (*Bacidia rosella*), бриория двуцветная (*Bryoria bicolor*), леканактис пихтовый (*Lecanactis abietina*), леканора запутанновидная (*Lecanora subintricata*), ринодина скудная (*Rinodina exigua*), уснея членистая (*Usnea articulata*).

2) Среднечувствительные – приходящие на смену погибшим чувствительным видам.

3) Самые выносливые к загрязнению. Устойчивость этих видов обусловлена наличием морфологических и биохимических механизмов защиты: плотность кортекса, высокая буферная емкость клетки, наличие антиоксидантов, способность к энзиматической детоксификации загрязняющих веществ. К наиболее выносливым видам относятся лишайники родов *Lecanora*, *Xanthoria*, *Physcia*. Например, леканора коницеовидная (*Lecanora conizaeoides*) обильно развивается при высоких концентрациях диоксида серы. Виды, толерантные к высокому содержанию металлов относятся к родам: *Acarospora*, *Aspicilia*, *Cladonia*, *Lecanora*, *Lecidea*, *Porpidia*, *Rhizocarpon*, *Stereocaulon*, *Tremolecia* [17, 19].

Животные, используемые в биомониторинге и биоиндикации

Животные также используются в мониторинге окружающей среды в качестве биоиндикаторов, при этом определяют такие показатели, как:

- численность популяций,

- изменения в структуре популяции,
- поведенческие изменения,
- генетические мутации,
- физиологические, морфологические, гистологические изменения,
- изменение метаболических и биохимических процессов,
- химический состав тканей и органов.

По характеру реакций на внешние воздействия, выделяют:

- количественные биоиндикаторы, для которых характерно изменение численности популяций в условиях нарушения условий среды.
- качественные биоиндикаторы, по присутствию или отсутствию которых можно дать характеристику биоценоза [8].

Основные критерии, которым должны соответствовать виды животных-биоиндикаторов:

- чувствительность,
- широкая распространенность,
- доступность в большом спектре местообитаний в течение сезона,
- невысокая миграционная способность,
- питание в исследуемых экосистемах,
- высокий метаболизм,
- быстрое чередование генераций,
- легкость наблюдения и измерения определяемых параметров,
- достаточная изученность экологии и жизнедеятельности,
- экономичность в использовании [8, 22].

Для биоиндикации почвы широко используются беспозвоночные. На урбанизированных территориях они являются индикаторами распространения тяжелых металлов, радионуклидов, кислых осадков, свидетельствуют об изменении водного режима почв.

Биоиндикационный потенциал разных групп почвенных беспозвоночных неодинаков. Высокой чувствительностью к антропогенным воздействиям характеризуются сообщества микроартропод. К данным организмам относятся членистоногие размером 0,1–2 мм. Они широко используются при биоиндикации почв. Крупные почвенные беспозвоночные также имеют высокую индикационную ценность [8].

Устоявшимся в биоиндикационных исследованиях считается стратифицированный подход (tier-подход), ранжированный по четырем уровням:

1) Первый уровень представляют одновидовые исследования, при которых анализ экотоксичности проводится по реакциям модельных видов.

2) Второй уровень представляют многовидовые исследования, проводимые обычно в экспериментальных микрокосмах с определенной почвой. В почве одновременно с исследованиями популяций разных видов беспозвоночных, измеряются функциональные параметры: вымывание токсиканта, дыхание почвы, разложение растительных остатков, энзиматическая активность и некоторые другие.

3) Третий уровень представляют собой почвенные модельные экосистемы или интактные монолиты почв, в которых после искусственного загрязнения измеряются плотность природной популяции видов и функциональные параметры почвенной биоты. Данный уровень наиболее важен с точки зрения гетерогенности почв и почвенного населения.

4) Четвертый уровень представляют естественные экосистемы и их изучение в полевых условиях [8].

В связи с тем, что птицы и млекопитающие, находятся на самом высоком трофическом уровне, они способны накапливать загрязняющие вещества. Поэтому в биомониторинге и биоиндикации окружающей среды используется определение содержания микроэлементов в организме определенных видов-биоиндикаторов. Резкое сокращение популяции хищных птиц связывается с широким использованием пестицидов в сельском хозяйстве. Среди наземных млекопитающих в основном встречаются представители следующих отрядов: парнокопытные (*Artiodactyla*), зайцеобразные (*Lagomorpha*), хищные (*Carnivora*), рукокрылые (*Chiroptera*), грызуны (*Rodentia*), насекомоядные (*Insectivora*). Предпочтение отдается грызунам из-за их широкого распространения, легкости добычи и возможности сопоставления с результатами лабораторных исследований. Кроме того, они являются частью рациона хищных птиц и млекопитающих, участвуют в передаче микроэлементов между звеньями наземных пищевых цепей. Однако у грызунов и других мелких млекопитающих скорость метаболизма выше, а продолжительность жизни короче в сравнении с

крупными млекопитающими и человеком, что обуславливает различия в трансформации микроэлементов. Таким образом, для косвенной оценки хронического воздействия загрязняющих веществ на млекопитающих используются хищные животные средних размеров, например, обыкновенная лисица (*Vulpes vulpes*), песец (*Vulpes lagopus*), обыкновенный шакал (*Canis aureus*), енотовидная собака (*Nyctereutes procyonoides*), канадская выдра (*Lontra canadensis*), речная выдра (*Lutra lutra*), американская норка (*Neovison vison*), росомаха (*Gulo gulo*), европейский барсук (*Meles meles*), американский енот (*Procyon lotor*). Определение содержания микроэлементов в травоядных млекопитающих позволяет выявить неблагоприятные последствия, связанные с избытком или дефицитом микроэлементов у самих животных и их популяций, а также определить загрязнение пищевых цепочек и оценить риски для здоровья человека. К данным видам относятся: благородный олень (*Cervus elaphus*), европейская косуля (*Capreolus capreolus*), олень чернохвостый (*Odocoileus hemionus*), олень белохвостый (*Odocoileus virginianus*), лось европейский (*Alces alces*), горный северный олень (*Rangifer tarandus*).

При экологическом мониторинге водоемов используются виды-индикаторы согласно методике В. Сладечека. Для исследования количества воды определяют видовую принадлежность гидробионтов, проводят анализ наличия и количества видов-индикаторов разной сапробности. Для идентификации видов-индикаторов используются как методы микроскопирования, так и секвенирования на основе маркерных генов (например, ген 18S рРНК). Идентификация гидробионтов по маркерным генам позволяет определять виды с очень малыми размерами и организмы на личиночной стадии [23]. Кроме того, проводятся исследования химического состава тканей и органов животных для определения загрязнения вод, особенно тяжелыми металлами. Например, наиболее подверженные воздействию ртути рыбы, рыбообразные птицы и млекопитающие. Поэтому именно они чаще всего используются в исследованиях ртутного загрязнения водоемов [22].

В настоящее время в качестве биоиндикаторов широко используются генетически модифицированные организмы. Трансгенные рыбы применяются для обнаружения опасных химических веществ в водной среде. Например, выведена трансгенная линия рыб данио-рерио (*Danio rerio*), несущая челночную векторную плазмиду для об-

наружения мутагенов в водной среде. Плазмида содержит ген *gprL* *Escherichia coli* [24].

2.2. Биотестирование

Биотестирование – это процедура установления токсичности среды с помощью тест-объектов, сигнализирующих об опасности независимо от того, какие вещества и в каком сочетании вызывают изменения жизненно важных функций у тест-объектов. Принцип метода биотестирования основан на чувствительности живых организмов к экзогенному воздействию [6].

Для изучения процедуры биотестирования важно понимание основных терминов: тест-система, тест-объект, тест-культура, тест-реакция, тест-параметр.

Тест-система – это пространственно ограниченная совокупность чувствительных биологических элементов (сенсоров) и исследуемой среды, в которой они находятся [6].

Тест-объект представляет собой пробу или образец, который подвергается исследованию и оказывает воздействие, вызывая тест-реакцию. В качестве тест-объекта могут выступать пробы воды, почвы, донных отложений, отходов, химических веществ, продуктов промышленного производства и т.д. [6, 25].

Тест-культура (тест-организм) – чувствительный организм, используемый для оценки токсичности методом биотестирования. К тест-организмам относятся определенные виды микроорганизмов, растений, животных, грибов [6, 25].

Тест-реакция – закономерно возникающая ответная реакция тест-системы на воздействие комплекса внешних факторов. К Тест-реакциям относятся: изменение морфологических, физиологических, биохимических параметров тест-организма [6, 25].

Тест-параметр является количественным выражением тест-реакции. Критерием токсичности служит значение тест-параметра, или правило, на основании которого делают вывод о токсичности исследуемой пробы [6, 25].

Достоинствами данного метода являются:

- экспрессность,
- доступность,

- простота экспериментов,
- экономичность.

Среди микроорганизмов бактериальной природы в биотестировании широко используются биолюминисцентные бактерии, относящиеся к родам *Photobacterium* (*Photobacterium phosphoreum*, *Photobacterium leiognathi*) и *Vibrio* (*Vibrio fischeri*, *Vibrio harveyi*), а также штаммы кишечной палочки [12]. Использование бактериальной биолюминесценции в экологическом мониторинге также рассмотрено в разделе 2.3. Органическое загрязнение вод можно обнаружить с помощью цианобактерий, среди которых применяются микроцистис (*Microcystis*), анабена (*Anabaena*).

К простейшим, используемым в биотестировании относятся инфузории, например, инфузория-туфелька (*Paramecium caudatum*), стилонихии (*Stylonychia mytilus*), *Tetrahymena pyriformis*, *Spirostomum ambiguum*. В качестве тест-реакций выступают: количественный учет, изменение спонтанной двигательной активности [6, 25, 26]. Подсчет простейших может осуществляться с помощью микроскопа или специального аналитического оборудования. Одним из таких средств измерения является импульсный фотометр – концентратомер БИОТЕСТЕР-2М (рис. 14). Принцип его работы основан на специфической реакции инфузории туфельки на присутствие токсического вещества. В нижнюю часть вертикальной оптической кюветы помещается взвесь инфузорий, в верхнюю часть – испытуемая проба. При воздействии токсических веществ инфузории перемещаются в чистую среду. Относительное уменьшение вышедших в верхнюю часть кюветы инфузорий по сравнению с контрольной взвесью определяет индекс токсичности.

Фитотестирование – это процедура биотестирования, основанная на ответной реакции растений определенного вида. Данный метод используется для определения качества семян, оценки экологического качества природных сред, установления токсичности или биоактивности различных материалов, отходов, химических веществ. Выделяют три группы методов фитотестирования: лабораторные, вегетационные и микроделяночные [6, 25].



Рис. 14. Концентратор БИОТЕСТЕР-2М

В качестве тест-объектов широко используются водоросли, такие как: хлорелла (*Chlorella*), спирулина (*Arthrospira*), навикула (*Navicula*), сценедесмус (*Scenedesmus*), ульва (*Ulva*), фукус (*Fucus*), ламинария (*Laminaria*). Данные организмы считаются надежными индикаторами загрязнения благодаря своей высокой чувствительности, доступности, простым методам культивирования. Тест-реакциями служат: скорость роста, накопление биомассы, эффективность фотосинтеза.

При фитотестировании часто используются семена высших растений в качестве тест-организмов (рис. 15). При этом рекомендовано использование семян не менее двух растений, относящихся к разным классам. К видам однодольных растений относятся: пшеница мягкая (*Triticum aestivum*), ячмень обыкновенный (*Hordeum vulgare*), овес посевной (*Avena sativa*), рожь посевная (*Secale cereale*), рис посевной (*Oryza sativa*), сорго зерновое (*Sorghum vulgare*). К видам двудольных растений относятся: кукуруза сахарная (*Zea mays*), кресс-салат (*Lepidium sativum*), латук посевной (*Lactuca sativa*), редька посевная (*Raphanus sativus*), вика посевная (*Vicia sativa*), рапс (*Brassica napus*), китайская капуста (*Brassica chinensis*), кочанная капуста (*Brassica oleracea var. capitata*), репа огородная (*Brassica rapa*), свёкла обыкновенная (*Beta vulgaris*), горчица белая (*Sinapis alba*), клевер луговой

(*Trifolium pratense*), горох посевной (*Pisum sativum*), томат обыкновенный (*Lycopersicon esculentum*), морковь обыкновенная (*Daucus carota*), огурец обыкновенный (*Cucumis sativa*), соя культурная (*Glycine max*). Тест-реакциями служат: всхожесть, энергия прорастания, длина корней и проростков [6, 25].



Рис. 15. Прорастание пшеницы в модельных лабораторных экспериментах по фитотестированию почвы [13]

Одним из популярных методов биотестирования, основанных на применении растений является *Allium test* (рис. 16). Он представляет собой тест-систему на основе растения лук репчатый (*Allium cepa*). *Allium test* рекомендован экспертами Всемирной Организации Здравоохранения в качестве стандарта в цитогенетическом мониторинге окружающей среды. К тест-реакциями относятся: хромосомные aberrации, митотический индекс, ядерные аномалии [27].

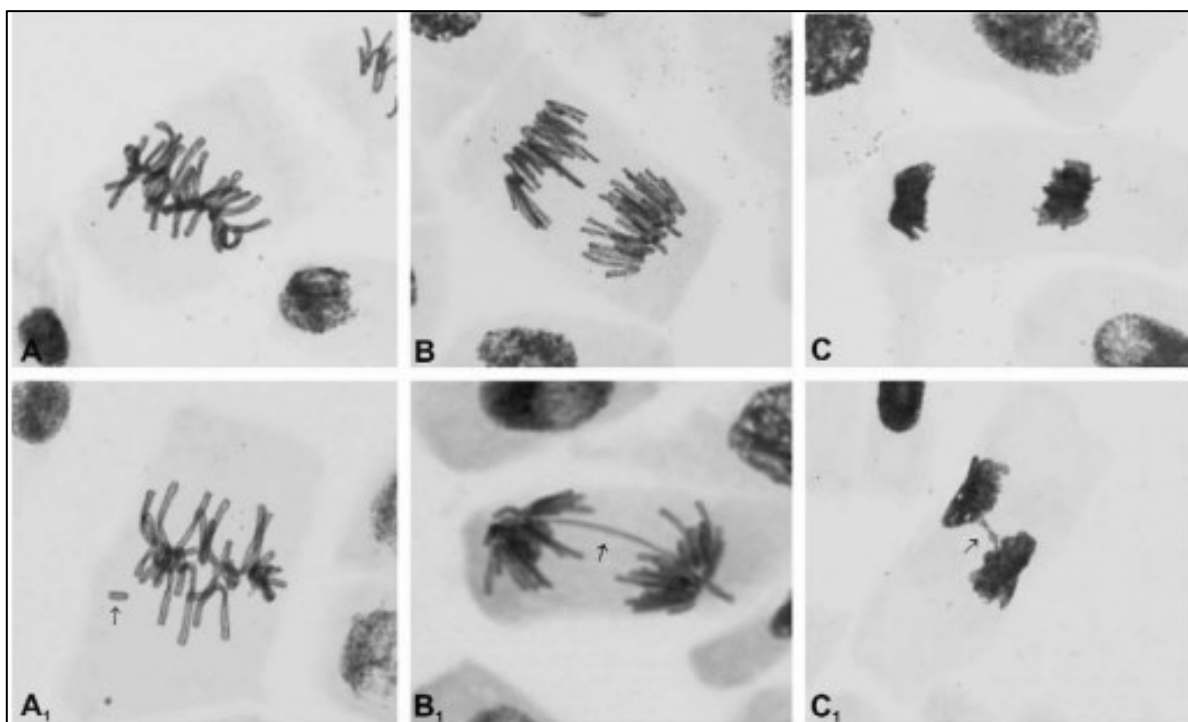


Рисунок 16. Хромосомные aberrации в меристематических клетках *Allium cepa*, подвергшихся воздействию химических агентов. А – нормальная метафаза; А1 – метафаза с разрывом хромосомы; В – нормальная анафаза; В1 – анафаза с хромосомным мостиком; С – нормальная телофаза; С1 – телофаза с хромосомным мостиком [27]

Низшие ракообразные рекомендованы в качестве стандартных тест-культур во многих документах по оценке качества водных сред. Широко используются дафнии (*Daphnia magna*, *Daphnia pulex*, *Daphnia longispina*, *Daphnia carinata*.), цериодафнии (*Ceriodaphnia dubia*, *Ceriodaphnia affinis*, *Ceriodaphnia reticulata*), артемии (*Artemia salina*), а также *Thamnocephalus platyurus*, *Heterocypris congruens*. Самыми распространенными тест-организмами, являются представители рода *Daphnia* (рис. 17). Методы биотестирования с использованием дафний основаны на регистрации смертности при воздействии токсических веществ [25].



Рис. 17. *Daphnia magna*. Источник:
<https://freshwaterbiodiversity.org.bd/species/daphnia-magna/>

Для биотестирования проб воды в качестве тест-организмов используются мальки рыб. В стандартах по биотестированию рекомендуется применение гуппи (*Poecilia reticulata*) и данио рерио (*Brachudanio rerio*). Тест-реакциями являются: доля погибших особей, спонтанная двигательная активность зародышей рыб.

2.3. Биосенсоры в экологическом мониторинге

В настоящее время для мониторинга окружающей среды применяются биологические методы с использованием биодатчиков и иммуноанализов. При этом широко используются биосенсорные устрой-

ства, с помощью которых осуществляется быстрое и высокоспецифичное обнаружение многочисленных загрязнителей.

Биосенсор – это автономное интегрированное устройство, которое способно предоставлять конкретную количественную или полук количественную аналитическую информацию, используя элемент биологического распознавания (биохимический рецептор), который находится в прямом пространственном контакте с элементом датчика [28].

В мониторинге окружающей среды биосенсоры используются для определения параметров загрязнения почвы, воздуха, питьевых, поверхностных и подземных вод. С помощью биосенсоров производят:

- Измерение концентраций химических веществ (гербицидов, пестицидов, полихлорированных дифенилов, хлорированных углеводородов, поверхностно-активных веществ, нефтепродуктов, ароматических соединений, CH_4 , CO , CO_2 , SO_2 , NH_3 , NO_2 , и других).
- Оценку негативных биологических эффектов, таких как токсичность, вызванных химическими загрязнителями.
- Обнаружение патогенных микроорганизмов, таких как сальмонелла и кишечная палочка.

Биосенсор состоит из двух основных компонентов – биологического и физического (рис. 18):

1) Биологический компонент – это чувствительный биологический элемент, состоящий из иммобилизованного биологического чувствительного материала. В качестве биологического элемента (тест-объекта) выступают ферменты, антитела, нуклеиновые кислоты, рецепторы, органеллы, микроорганизмы, клетки или ткани животных и растений (рис. 19). Выбор биологического материала зависит от анализируемого вещества и таких факторов, как специфичность, стабильность при эксплуатации, способность сохранять чувствительность при определенной температуре, кислотности, и др. [28, 29]

2) Физический компонент состоит из преобразователя и системы обработки сигналов. Функция преобразователя заключается в преобразовании биохимических сигналов, возникающих в результате взаимодействия анализируемого вещества с биологическим элементом, в электрический или оптический сигнал, который может быть измерен и количественно определен. Для соединения биологического

компонента с преобразователем используется полимерная пленка или мембрана. Система обработки сигналов позволяет считывать и записывать усиленные сигналы [28].

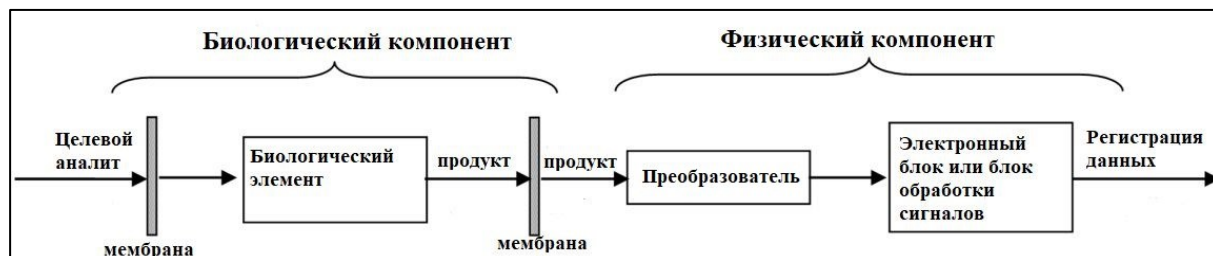


Рис. 18. Схематическое изображение биосенсора [28]

Таким образом, принцип действия биосенсора заключается в том, что анализируемое вещество проходит через мембрану и взаимодействует с иммобилизованным чувствительным биологическим элементом, образуя продукт (O_2 , CO_2 , H_2O , NH_3 , H_2S , и другие). Продукт проходит через следующую мембрану к преобразователю, который преобразует биохимический сигнал в электрический или оптический сигнал, который затем усиливается. Система обработки сигналов позволяет считывать и записывать усиленные сигналы.

Биосенсоры классифицируются в зависимости от:

- принципа биологического распознавания (иммуносенсоры, аптасенсоры, геносенсоры, ферментные биосенсоры);
 - метода передачи сигнала (оптические, электрохимические, пьезоэлектрические);
 - химической трансдукции (биоаффинные и биокаталитические).
- Биоаффинные сенсоры состоят из иммунных компонентов (антиген/антитело), лектинов и нуклеиновых кислот. Биокаталитические – из ферментов, кофакторов, тканей и клеток.

Кроме того, биосенсоры могут быть непрямого или прямого типа. В биосенсорах прямого типа биологический компонент помещается непосредственно на электрод. В биосенсорах непрямого типа используются два электрода (чувствительный и эталонный). Биосенсоры прямого типа обеспечивают большую чувствительность и точность, поскольку электроны передаются от анализируемого вещества к чувствительному биологическому элементу, а затем непосредственно к электроду (преобразователю).

Тест-объект биосенсорного устройства должен удовлетворять ряду требований, главными из которых являются [29]:

- 1) доступность;
- 2) относительно невысокая стоимость;
- 3) безопасность в эксплуатации;
- 4) селективность по отношению к определяемому веществу или группе веществ;
- 5) воспроизводимость результатов анализа;
- 6) работоспособность в заданном диапазоне параметров среды.



Рис. 19. Типы тест-объектов биосенсорных устройств

При изготовлении биосенсорных устройств биологические тестирующие компоненты иммобилизуются, то есть подвергаются специальной обработке. Выбор метода иммобилизации зависит от природы биомаркера, природы субстрата, конфигурации используемого преобразователя [29].

Процедура иммобилизации решает ряд задач:

- повышение чувствительности и селективности;

- обеспечение высокой работоспособности и долговечности биосенсора;
- отсутствие потерь биологических компонентов из-за растворения и диспергирования в среде;
- обеспечение тесного контакта биологических элементов с физико-химическим преобразователем;
- стабилизация активности биологического компонента;
- пространственное разделение отдельных молекул;
- предохранение от биологического повреждения [29].

Основными методами иммобилизации являются:

1) Иммобилизация путем адсорбции на носителях. Сущность метода заключается в инкубировании раствора белка или суспензии клеток в водной взвеси носителя с последующим отмыванием неадсорбированных элементов. В качестве носителей используется ряд органических и неорганических веществ. Основным недостатком данного метода является слабая фиксация тест-объекта на носителях. При изменении температуры, кислотности, ионной силы раствора есть риск десорбции. В случае обратимой десорбции, возможна регенерация иммобилизованного препарата. Для увеличения сорбционной способности применяется предварительная обработка носителей гидрофобными соединениями с последующей адсорбцией тест-объекта. Также используется обработка растворами солей металлов Ti, Cr, Sn, Al. В адсорбции белка существенную роль играют координационные связи, водородные связи, электростатическое взаимодействие. Предварительная обработка носителей увеличивает их сорбционную способность более чем в 40 раз, повышает удельную активность иммобилизованных препаратов, биологические элементы приобретают устойчивость в растворах высокой ионной силы. Метод иммобилизации путем адсорбции удобен при использовании в качестве биомаркеров клеток и клеточных органелл [29].

2) Включение в пространственную сетку гелей. Преимуществами данного метода являются: протекание в мягких условиях, относительная простота и не высокая трудоёмкость, отсутствие химической модификации глобул белка при включении в гель, отсутствие денатурации. Используются различные синтетические органические и неорганические гели. Относительно часто тест-объекты иммобилизуются включением в полиакриламидный гель, который образуется при

реакции акриламида с N,N'-метилен-бис-акриламидом (сшивающим агентом). Присутствие в полимеризационном растворе сшивающего агента способствует образованию поперечных связей между растущими полиакриламидными цепями, в результате чего гель приобретает структуру трехмерной сетки, ячейки которой захватывают клетки или молекулы белка. Механические свойства геля влияют на активность тест-объекта и зависят от степени полимеризации и качества сшивки, которую можно регулировать. Разработаны методы получения сферических частиц, обладающих микронным диаметром, путем полимеризации в мицеллах. Полиэтиленгликольметакрилатный гель образуется при сополимеризации метакрилатэтиленгликоля и диметакрилат этиленгликоля, который является сшивающим агентом. Полиэтиленгликольметакрилатные гели сходны с полиакриламидными, но обладают улучшенными механическими свойствами и прозрачностью. Полисахаридные и полиионитные гели отличаются тем, что их пространственная структура образуется за счет ковалентных водородных и ионных связей [29].

3) Иммобилизация путем сшивания бифункциональными реагентами. Применяется для получения мембран, используемых в ферментных электродах. В раствор фермента добавляется реагент, обладающий двумя или большим числом реакционноспособных групп. Глобулы белка сшиваются с образованием пространственной сетки. Иммобилизация ферментов путем сшивания бифункциональными реагентами осуществляется четырьмя способами:

- непосредственным сшиванием белков (тест-объектов);
- сшиванием биологических тестирующих элементов с инертными белками;
- адсорбцией тест-объектов на водонерастворимом носителе с последующей обработкой бифункциональным реагентом;
- активацией носителей бифункциональными реагентами с последующей иммобилизацией тест-объекта.

Наиболее часто для этих целей используются глутаровый диальдегид, гексаметилендиизоцианат, адипинат, диазобензидин 3,3-дианизидин, 4,4-диизотиоцианатдифенил-2,2-дисульфоновая кислота, симтрихлортриазин [29].

4) Ковалентная сшивка с носителями. Иммобилизованные данным способом биологические элементы используются в аналити-

ческих миниреакторах, где необходимы высокая механическая прочность и стабильность биокатализаторов. Иммобилизация выполняется путем пришивания ферментов к носителям, содержащим реакционно-способные группы, а также к предварительно активированным носителям. Наиболее часто модифицируются $-\text{NH}_2$ группа лизина, $-\text{COOH}$ группы аспарагиновой и глутаминовой кислот, гистидина, цистеина и тирозина. При этом реагенты не должны реагировать с аминокислотными остатками, ответственными за функциональное действие белков. Носители, содержащие реакционноспособные группы, в основном представляют собой органические полимеры, получающиеся путем сополимеризации малеинового ангидрида с этиленом или акриловой кислотой. Они содержат реакционноспособные ангидридные группировки, которые легко реагируют со свободными аминогруппами ферментов. Процесс образования ковалентных связей характеризуется высокими энерго- и трудозатратами. Для осуществления ковалентной сшивки применяются вспомогательные реагенты, например, бромацил [29].

5) Иммобилизация микрокапсулированием. Водные растворы белков включают в полупроницаемые микрокапсулы размером от одного до нескольких сотен микрон. Микрокапсулирование проводится методами межфазной коацервации и межфазной поликонденсации. При межфазной коацервации белки-реагенты растворяются в водной фазе инертного белка, который улучшает их свойства, обволакиваются микроскопической сферической ультратонкой мембраной. Микрокапсулы образуются при энергичном перемешивании ферментного раствора с органическим растворителем и последующим добавлением раствора нитрата целлюлозы, из которого формируются стенки микрокапсул. Диаметр их зависит от степени дисперсности эмульсии. При межфазной поликонденсации стенки сферических микрокапсул образуются в реакциях соединений на разделе фаз. Включение ферментов в полые волокна также является одним из методов иммобилизации микрокапсулированием. При добавлении водного раствора фермента к раствору полимера в несмешивающемся с водой растворителе получается эмульсия, из которой формируются волокна. Ферменты захватываются в полые волокна благодаря их пористой структуре [29].

В зависимости от того, основой какого аналитического устройства является иммобилизованный фермент, применяется тот или другой метод фиксации белков. В системах на основе мини-реакторов необходимы прочно пришитые к носителю иммобилизованные тест-объекты, поэтому здесь целесообразна ковалентная сшивка. В устройствах, действие которых определяется диффузией растворов и веществ через слой иммобилизованного фермента (в электродах, подложках для флуоресцентных измерений), применяются ферменты, включенные в гели и сшитые с бифункциональными реагентами. Наиболее сложными являются ковалентное пришивание и микрокапсулирование, обеспечивающие высокую стабильность связи между носителем и тест-объектом. Наиболее универсальным методом иммобилизации является включение ферментов в гидрофильные гели, позволяющее получить в иммобилизованном виде подавляющее большинство тест-объектов [29].

Фермент-метаболитные биосенсоры

Ферменты – это макромолекулы, в основном белковой природы, которые функционируют как биокатализаторы за счет увеличения скорости реакции. Механизм действия ферментов связан со снижением энергии активации.

Ферменты являются наиболее распространенными тест-объектами биосенсорных устройств. Механизм действия заключается в образовании фермент-субстратного комплекса. Фермент активирует субстрат, образуется каталитически активный комплекс. На молекуле фермента субстрат вступает в соответствующую химическую реакцию, в результате которой образуется фермент-продуктный комплекс. Процесс завершается выделением продуктов реакции и регенерацией фермента (рис. 20).

Принцип действия данного типа биосенсоров заключается в том, что молекулы фермента, образующие чувствительный элемент, распознают молекулы субстрата, присутствующего в растворе. Образующийся продукт реакции регистрируется детекторным элементом биосенсора.

В зависимости от способа контроля анализируемых веществ биосенсоры на основе ферментов подразделяются на прямые и не-прямые. Принцип действия прямых ферментных биосенсоров основан на измерении концентрации анализируемого вещества или образу-

щихся продуктов в ходе ферментативных реакций. Принцип действия непрямых ферментных биосенсоров основан на регистрации ингибирования фермента анализируемым веществом [28].

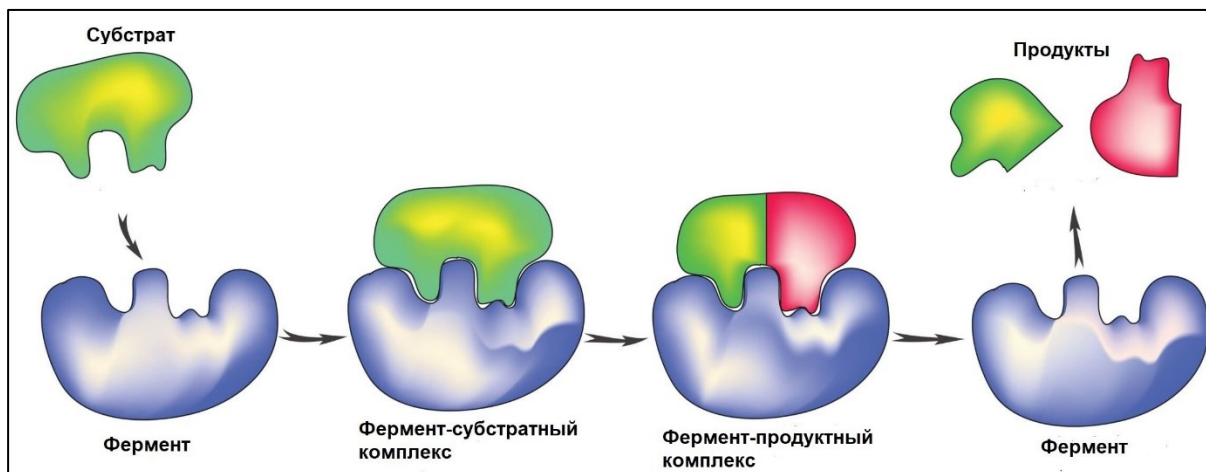


Рис. 20. Механизм действия ферментов

Ферменты катализируют различные реакции и подразделяются на шесть классов:

- 1) оксидоредуктазы;
- 2) трансферазы;
- 3) гидролазы;
- 4) лиазы;
- 5) изомеразы;
- 6) лигазы.

По специфичности действия на субстраты ферменты подразделяются на два класса:

1) **Высокоспецифичные** – обладают почти абсолютной специфичностью только по отношению к определенному субстрату. Другие субстраты с близкородственной структурой расщепляются ими гораздо медленнее. Примерами являются: АМФ-деаминаза, аспартаза, глутаматдекарбоксилаза, глутаматдегидрогеназа, глюкозооксидаза, инвертаза, каталаза, лактатдегидрогеназа, лизиндекарбоксилаза, люциферазы, малатдегидрогеназа, мутаротаза, нитратредуктаза, нитриредуктаза, уреаза, урикиназа, тирозиндекарбоксилаза, фенилаланиндекарбоксилаза, холестериноксидаза. Использование таких ферментов в биосенсорах позволяет селективно определять субстраты в присутствии других соединений.

2) Обладающие групповой специфичностью – ферменты, специфичные по отношению к какому-либо определенному классу субстратов. Примерами являются: алкогольдегидрогеназа, арилсульфатаза, β -глюкозидаза, диаминооксидаза, оксидазы D-аминокислот, оксидазы L-аминокислот, пенициллиназа, пенициллинамидаза, пероксидаза, протеазы, полифенолоксидаза, холинэстераза, щелочная фосфатаза. Такие ферменты используются в биосенсорах для обнаружения антибиотиков, токсичных гидросилированных производных бензола и других классов соединений.

Использование ферментов в качестве тест-объектов биосенсоров имеет ряд преимуществ и недостатков (табл. 4).

Таблица 4. Преимущества и недостатки использования ферментов в качестве тест-объектов биосенсоров [29]:

Преимущества	Недостатки
1) Высокая селективность. 2) Высокая чувствительность. 3) Возможность подбора фермента с необходимыми свойствами. 4) Каталитическая активность ферментов позволяет снизить пределы обнаружения по сравнению с обычными методами связывания. 5) Относительно низкая стоимость. 6) Доступность.	1) Ферменты подвержены инактивации при хранении. 2) Влияние факторов окружающей среды на каталитическую активность ферментов. 4) Биосенсоры на основе ферментов в основном пригодны для определения содержания биогенных веществ. 5) Срок службы датчика ограничен стабильностью фермента.

Антитела как тест-объекты биосенсоров

Антитела – это особый класс гликопротеинов, присутствующих в сыворотке крови, тканевой жидкости или на клеточной мембране, которые распознают и связывают антигены.

Антиген – это высокомолекулярное соединение, несущее признаки генетически чужеродной информации, которое при попадании в организм распознается его иммунной системой и способно вызывать иммунный ответ, направленный на его удаление (элиминацию).

Молекулы антител вырабатываются в ответ на проникновение антигена. Эта реакция называется иммунной. Молекулы антител (Ат) соединяясь с молекулами антигенов (Аг), образуют комплекс анти-

ген-антитело ([Ат-Аг]). При протекании такой реакции *in vitro* происходит образование осадка или помутнение жидкости – реакция преципитации. В осадок выпадают или вызывают помутнение коагуляты комплекса антиген-антитело. Антитела имеют особые участки связывания с антигеном, комплементарные соответствующим структурам молекул антигена. Обычно в результате взаимодействия антигенов и антител образуется трехмерная структура в виде решетки из чередующихся молекул антигенов и антител.

Современные методы иммунного анализа основаны на количественной оценке концентрации комплекса антиген-антитело. На оценках количественного соотношения компонентов реакции антиген-антитело базируются все известные методы иммунного анализа. В настоящее время иммуноферментный анализ (ИФА) является одним из наиболее быстро развивающихся аналитических методов, применяется в паразитологии, вирусологии, бактериологии, токсикологии, сельском хозяйстве. Иммуноферментный анализ используется в экологическом контроле для определения в окружающей среде и промышленных отходах поверхностно-активных веществ, диоксинов, полихлорированных дифенилов, эстрогенов и соединений, негативно влияющих на функции эндокринной системы. А также для оценки эффективности бактериальных удобрений и мониторинга почвенных микробоценозов.

Приенение антител в качестве тест-объектов биосенсоров имеет как преимущества, как и недостатки (табл. 5).

Таблица 5. Преимущества и недостатки использования антител в качестве тест-объектов биосенсоров [29]:

Преимущества	Недостатки
1) Высокая селективность. 2) Высокая чувствительность. 3) Возможность определять содержание как антигенов, так и антител. 4) Относительная доступность материала.	1) Высокая стоимость. 2) Плохая регенерация и трудности иммобилизации. 3) Необходимость дополнительной модификации («пришивка метки»). 4) Пригодность для анализа относительно ограниченного круга веществ.

Рецепторы как тест-объекты биосенсоров

Рецепторы – компоненты биологических мембран, обладающие высокой степенью избирательности по отношению к молекулам, взаимодействующим с ними. Рецепторы перспективны в качестве тест-объектов для биосенсорных устройств. Ограничением их использования является то, что свойства рецепторов в основном проявляются в составе живого организма. Поэтому в биосенсорах в основном используется биологический препарат, содержащий рецепторы, а не изолированный рецептор [30].

Нуклеиновые кислоты как тест-объекты биосенсоров

Принцип биосенсорики на основе ДНК основан на высокоспецифичной гибридизации комплементарных нитей ДНК. Биосенсоры на основе нуклеиновых кислот применяются для обнаружения фрагментов ДНК, биологических или химических видов.

Особенности нуклеиновых кислот, обеспечивающие возможность применения в биосенсорах:

1. Двухцепочечные нуклеиновые кислоты существуют в разных пространственных формах, различающихся по физико-химическим свойствам. Изменение внешних условий инициирует переход между этими формами.

2. Двухцепочечные молекулы нуклеиновых кислот, отрицательно заряженные фосфатные группы которых нейтрализованы противоионами, являются «жесткими». Одноцепочечные нуклеиновые кислоты – «гибкие».

3. Для молекул нуклеиновых кислот характерна оптическая активность.

4. Каждая цепь молекулы нуклеиновой кислоты содержит химические группы, различающиеся по своей реакционной способности.

Биосенсоры на основе нуклеиновых кислот могут создаваться с использованием одно-, так и двухцепочечных молекул. ДНК может использоваться в нативной форме (двухцепочечная ДНК (ds-ДНК)), и в модифицированной (одноцепочечная ДНК (ss-ДНК)). В зависимости от типа нуклеиновой кислоты, могут использоваться разные принципы распознавания [28].

Биосенсоры на основе нуклеиновых кислот подразделяются на две группы: основанные на аффинности (геносенсоры и аптасенсоры) и каталитические (ДНК-эзимы и аптазимы) [28].

Аптамеры – синтетические молекулы ДНК и РНК, способные высокоспецифично узнавать определенные молекулы-мишени за счет образования уникальной пространственной структуры. Преимуществами аптамеров являются:

- возможность их отбора практически для любой заданной мишени;
- возможность химического или химико-ферментативного синтеза в препаративных количествах;
- возможность введения химических модификаций;
- длительный срок хранения;
- устойчивость в широком диапазоне условий [30].

Среди физико-химических преобразователей (детекторных элементов) биосенсоров, преимущественно, используются электрохимические и оптические, реже – акустические, кондуктометрические, калориметрические, пьезоэлектрические, электрохемилюминесцентные. Биосенсоры отображают концентрацию анализируемого вещества в виде измеримого электрического сигнала. Основное предъявляемое к биосенсорам требование – способность улавливать определенный вид аналита и не реагировать на другие присутствующие вещества.

Клеточные биосенсоры

Недавно было предложено, чтобы биосенсорные технологии на основе клеток, то есть анализ биоэлектрического распознавания (BERA), использовали живые функциональные клетки в гелевой матрице в сочетании с сенсорной системой, которая способна измерять изменения электрических свойств клеток. Клетки, способные специфически взаимодействовать с целевым анализируемым веществом, создают уникальную структуру электрического потенциала в результате своего взаимодействия с этим анализируемым веществом.

Классификация биосенсоров по способу передачи сигнала представлена на рисунке 21.

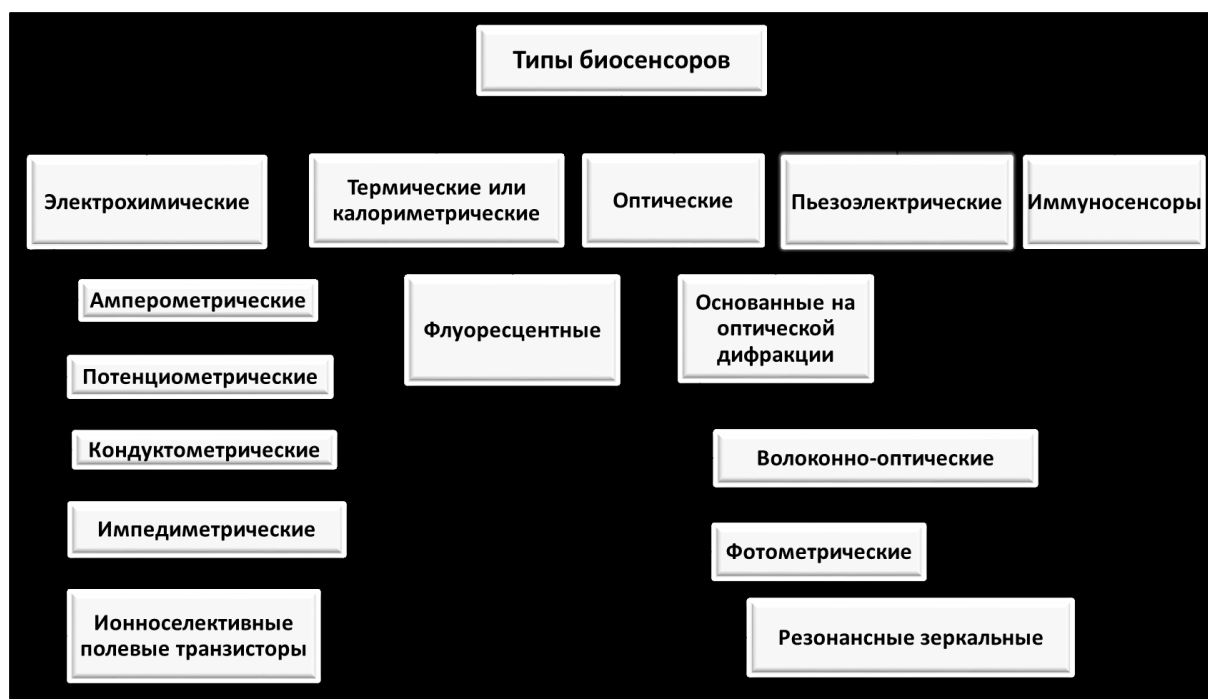


Рис. 21. Классификация биосенсоров по способу передачи сигнала

1) Электрохимические биосенсоры основаны на измерении электрических свойств биологических систем. Чаще всего они используют окислительно-восстановительные ферменты и основаны на ферментативном катализе реакции, в ходе которой образуются или расходуются электроны. К преимуществам таких биосенсоров относятся: способность распознавать материалы не повреждая систему, низкая стоимость, простота конструкции, легкость использования. К электрохимическим биосенсорам относятся следующие:

- Амперометрические биосенсоры. Они измеряют изменение тока, возникающее в результате биоэлектрохимической реакции электроактивных материалов, при подаче постоянного напряжения между электродами. Изменение тока зависит от концентрации вещества в растворе. Часто используются для определения таких анализируемых веществ, как глюкоза и лактат.

- Потенциометрические биосенсоры измеряют накопление потенциала заряда на рабочем электроде по сравнению с электродом сравнения, что приводит к биоэлектрохимической реакции, когда между электродами протекает незначительный ток.

- Импедиметрические биосенсоры измеряют изменение импеданса (или электрического сопротивления) в результате биоэлектрохимических реакций между электродами. Состоят из двух электродов

с приложенным переменным напряжением и амплитудой до 100 мВ. Импедиметрические биосенсоры менее распространены по сравнению с потенциометрическими и амперометрическими.

- Ионоселективные полевые транзисторы – это классические полевые транзисторы, которые имеют чувствительную к ионам поверхность. Электрод датчика покрыт селективно проницаемым полимерным слоем, через который могут диффундировать ионы. За счет взаимодействия ионов с полупроводником электрический потенциал поверхности изменяется. В дальнейшем биосенсор осуществляет измерение изменения потенциала [28].

2) Оптические биосенсоры. Оптический преобразователь используется в оптических биосенсорах для использования оптических принципов измерения биологической активности. К преимуществам таких биосенсоров относятся: возможность применения *in vivo*, анализ веществ с использованием различных длин волн. Оптические биосенсоры могут быть основаны на флуоресценции или оптической дифракции.

- Флуоресцентные биосенсоры обладают высокой селективностью и чувствительностью. Примером может служить биосенсорное устройство «Биотокс-10М» (рис. 22). Принцип его действия основан на регистрации слабых световых потоков биосенсора «Эколюм» с помощью фотоэлектронного умножителя, работающего в режиме счета анодных импульсов. «Эколюм» (рис. 22) представляет собой тест-объект, основанный на люминесцентных бактериях и бактериальной люциферазе, который реагирует изменением интенсивности спонтанной биолюминесценции. Люминометр «Биотокс-10М» измеряет биолюминесценцию в видимом диапазоне спектра, автоматически вычисляет интегральный индекс токсичности исследуемого образца. Достоинствами метода являются быстрота, высокая чувствительность и достоверность оценки загрязнения окружающей среды и токсичности проб. Данное устройство может использоваться для экспресс-контроля отходов и сбросов промышленных предприятий; контроля технологических процессов в режиме реального времени; определения уровня токсичности проб воды, почвы, грунтов и донных отложений.



Рис. 22. Биосенсорное устройство «Биотокс-10М» (слева), тест-система «Эколюм» (справа)

- Биосенсоры, основанные на оптической дифракции, содержат кремниевую пластину, покрытую белком с помощью ковалентных связей. Кремниевая пластина подвергается воздействию ультрафиолетового излучения инактивируя антитела в незащищенных областях. При инкубации пластинчатого чипа с анализируемым веществом в активных областях образуются связи антиген-антитело. Это позволяет создать дифракционную решетку, генерирующую дифракционный сигнал при освещении. Полученный сигнал может быть измерен. Биосенсоры на основе оптической дифракции классифицируются на: резонансные зеркальные, волоконно-оптические, фотометрические.

3) Термические и калориметрические биосенсоры основаны на термической количественной оценке выделения или поглощения тепла во время биохимической реакции. Изготавливаются путем иммобилизации биомолекул на датчиках температуры. Выделение или поглощение тепла при биохимической реакции пропорционально общему количеству молекул продукта. Таким образом, термические биосенсоры измеряют теплоту реакции при вступлении анализируемого вещества в контакт с биокомпонентом. Биосенсоры могут использовать биологические молекулы (антитела, ферменты, нуклеиновые кислоты) или живые биологические системы (клетки, ткани, органы) для обнаружения и распознавания. Термические биосенсоры широко применяются, так как термическая активность является одной из важнейших составляющих биохимических реакций. К преимуществам данного типа биосенсоров относятся нечувствительность к оптиче-

ским и электрохимическим свойствам анализируемого вещества и отсутствие необходимости в частой калибровке.

4) Пьезоэлектрические биосенсоры соединяют в себе биологический и пьезоэлектрический компоненты. Принцип работы основан на взаимосвязи между резонансной частотой колеблющегося пьезоэлектрического кристалла и массой, адсорбированной на его поверхности. Пьезоэлектрические биосенсоры чувствительны к изменениям массы, плотности, вязкости образцов, контактирующих с их активной поверхностью. Для этого используются кристаллы, подвергающиеся упругой деформации при приложении к ним электрического потенциала. Переменный потенциал создает в кристалле волну с частотой, зависящей от его упругих свойств. Покрытие кристалла элементом биологического распознавания, приводит к связыванию целевого анализата с рецептором и изменению резонансной частоты.

5) Иммуносенсоры представляют собой аналитические устройства, использующие иммунохимическую реакцию с антигеном или антителом в качестве элемента биологического распознавания. Биологические элементы иммуносенсоров состоят из антител или антигенов. Иммуносенсоры обладают высокой селективностью и чувствительностью благодаря специфическому связыванию [28].

В целом, применение бисенсорных устройств в экологическом мониторинге имеет ряд достоинств и недостатков (табл. 6).

При мониторинге окружающей среды наиболее широко используются иммуносенсоры и ферментативные биосенсоры. Возрастает применение аптасенсоров в связи с легкостью модификации, термической стабильностью, синтезом *in vitro*, возможностью конструирования их структуры, различения мишеней с различными функциональными группами и регибридизации.

Таблица 6. Достоинства и недостатки использования биосенсоров в экологическом мониторинге [28]

Достоинства	Недостатки
1) Портативность – они имеют небольшие размеры. 2) Невысокая стоимость. 3) Простота использования. 4) Высокая чувствительность и селективность. 5) Высокая точность и воспроизводимость результатов. 6) Возможность анализа в режиме реального времени благодаря скорости и непрерывности использования. 7) Небольшое время отклика (обычно менее минуты). 8) Большое количество образцов может быть обработано с меньшими затратами труда. 9) Возможность измерять неполярные молекулы, на которые не реагируют большинство измерительных устройств.	1) Невозможность тепловой стерилизации из-за денатурализации биологического материала. 2) Стабильность биологического материала зависит от условий окружающей среды. 3) Клетки биосенсора могут быть поражены нецелевыми молекулами, проникающими через мембрану.

Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятия «экологический мониторинг».
2. Дайте определение понятия «токсикология».
3. Дайте определение понятия «экологическая токсикология».
4. Дайте определение понятия «биоиндикация».
5. Дайте определение понятия «биоиндикатор».
6. Дайте определение понятия «биологический мониторинг».
7. Дайте определение понятия «биомонитор».
8. Перечислите биомаркеры, используемые в биомониторинге.
9. Перечислите основные характеристики биомаркеров, используемых при биомониторинге.
10. Перечислите эффекты, которые возникают у биоиндикаторов в ответ на воздействие определенных веществ.
11. Дайте определение понятия «генетический мониторинг».

12. На каких уровнях проводятся исследования при генетическом мониторинге?

13. Перечислите основные группы генетических тестов, используемых для выявления мутагенной и канцерогенной активности в окружающей среде.

14. Какие показатели учитываются в цитогенетических исследованиях растений?

15. Какие группы нарушений исследуются при цитологическом анализе животных с ядерными эритроцитами?

16. Перечислите основные направления исследований воздействия на микробное разнообразие почвенных экосистем.

17. Какие параметры оценивают среди экофизиологических параметров функционирования почвенной микробиоты?

18. Дайте определение понятия «фитодиагностика окружающей среды».

19. Дайте определение понятия «фитоиндикация».

20. Что такое активная фитоиндикация?

21. Что такое пассивная фитоиндикация?

22. Перечислите фитоиндикационные показатели.

23. Перечислите биохимические параметры растений, которые служат биомаркерами загрязнения окружающей среды.

24. Перечислите преимущества использования растений для биомониторинга.

25. Перечислите недостатки использования растений для биомониторинга.

26. На чём основана биоиндикация окружающей среды по показателю флуктуирующей асимметрии листьев?

27. Дайте определение понятия «палиноиндикация».

28. В чём состоит суть палиноиндикации?

29. Для решения каких задач в качестве биоиндикаторов используются мхи?

30. Перечислите преимущества использования мхов для биомониторинга атмосферного воздуха.

31. Приведите примеры мхов, используемых для биомониторинга.

32. Перечислите недостатки использования мхов для биомониторинга атмосферного воздуха.

33. Дайте определение понятия «лихеномониторинг».

34. Перечислите свойства лишайников, благодаря которым они используются для целей мониторинга.

35. Перечислите три основные группы методов лишайноиндикации согласно Х.Х. Трассу.

36. Перечислите способы трансплантации лишайников при лишайноиндикации.

37. Перечислите три категории лишайников по реакции к загрязнению воздуха. Приведите примеры.

38. Какие показатели определяют при использовании животных в качестве биоиндикаторов?

39. Перечислите основные критерии, которым должны соответствовать виды животных-биоиндикаторов.

40. Охарактеризуйте четыре уровня tier-подхода.

41. Приведите примеры животных, используемых для биоиндикации.

42. Дайте определение понятия «биотестирование».

43. Дайте определение понятия «тест-система».

44. Дайте определение понятия «тест-объект».

45. Дайте определение понятию «тест-культура» («тест-организм»).

46. Дайте определение понятия «тест-реакция».

47. Перечислите достоинства метода биотестирования.

48. Приведите примеры бактерий, применяемых в биотестировании.

49. Приведите примеры простейших, применяемых в биотестировании.

50. Приведите примеры растений, применяемых в биотестировании.

51. Приведите примеры животных, применяемых в биотестировании.

52. Дайте определение понятия «фитотестирование».

53. Перечислите тест-реакции, определяемые при использовании простейших в биотестировании.

54. Перечислите тест-реакции, определяемые при использовании водорослей в биотестировании.

55. Перечислите тест-реакции, определяемые при использовании семян высших растений в биотестировании.

56. Дайте определение понятия «биосенсор».

57. Перечислите функции биосенсоров.
58. Перечислите основные элементы биосенсоров.
59. По каким принципам классифицируются биосенсоры?
60. Что может являться тест-объектом биосенсора?
61. Перечислите основные требования, предъявляемые к тест-объекту биосенсорного устройства.
62. Что такое иммобилизация тест-объекта биосенсора?
63. Какие задачи решает процедура иммобилизации тест-объекта биосенсора?
64. Перечислите основные методы иммобилизации тест-объекта биосенсора.
65. Дайте характеристику фермент-метаболитных биосенсоров.
66. Дайте определение понятия «фермент».
67. Перечислите преимущества использования ферментов в качестве тест-объектов биосенсоров.
68. Перечислите недостатки использования ферментов в качестве тест-объектов биосенсоров.
69. Охарактеризуйте биосенсоры на основе антител.
70. Дайте определение понятия «антитело».
71. Дайте определение понятия «антиген».
72. Перечислите преимущества использования антител в качестве тест-объектов биосенсоров.
73. Перечислите недостатки использования антител в качестве тест-объектов биосенсоров.
74. Охарактеризуйте биосенсоры на основе рецепторов.
75. Охарактеризуйте биосенсоры на основе нуклеиновых кислот.
76. Перечислите особенности нуклеиновых кислот, обеспечивающие возможность применения в биосенсорах.
77. Дайте определение понятия «аптамеры».
78. Перечислите преимущества аптамеров.
79. Охарактеризуйте клеточные биосенсоры.
80. Перечислите основные типы биосенсоров по способу передачи сигнала.
81. Перечислите достоинства использования биосенсоров для экологического мониторинга.
82. Перечислите недостатки использования биосенсоров для экологического мониторинга.

Глава 3. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЧИСТКА ГАЗОВОЗДУШНЫХ ВЫБРОСОВ

К загрязняющим атмосферу относятся вещества, содержащиеся в концентрациях, превышающих фоновые, которые могут оказать неблагоприятное воздействие на человека, животных и растения, а также здания и сооружения, материалы и оборудование [4]. Классификация загрязняющих веществ представлена на рисунке 23.

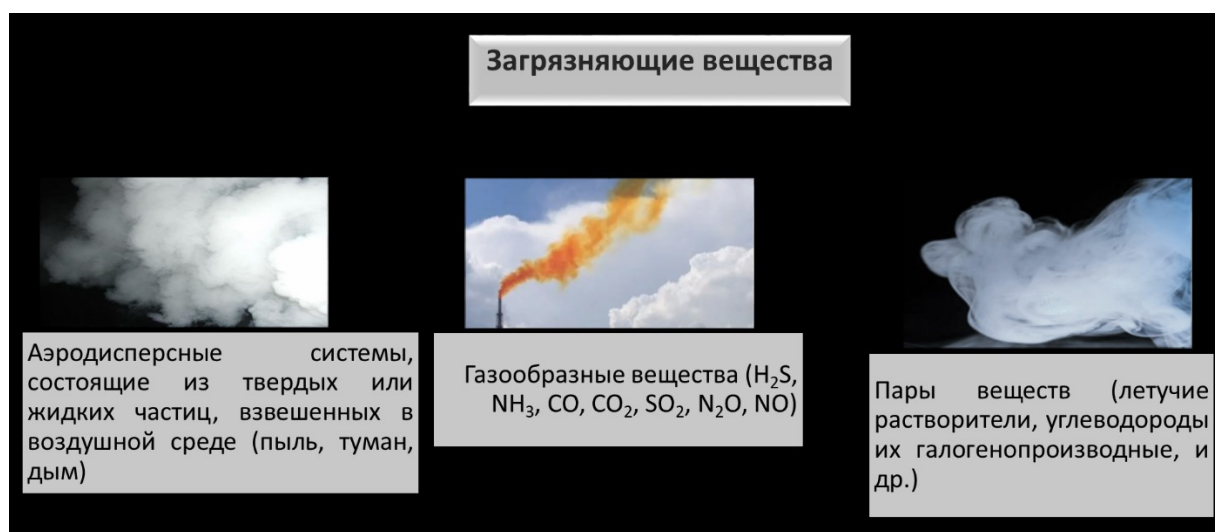


Рис. 23. Классификация загрязняющих веществ [4]

Газовоздушные выбросы – это выбросы вредных веществ в атмосферу, которые подразделяются на естественные и антропогенные.

Естественные выбросы происходят за счёт природных процессов. К ним относятся, например, вулканическая деятельность, ветровая эрозия, дым от лесных и степных пожаров.

Антропогенные, в том числе техногенные, выбросы образуются в результате деятельности человека.

Основными источниками загрязнения атмосферы антропогенного характера являются [4]:

- объекты энергетики, сжигающие твёрдое, жидкое и газообразное топливо;
- промышленные предприятия (особенно, предприятия нефтеперерабатывающей, перерабатывающей, химической, пищевой промышленности);
- транспорт;

- крупные сельскохозяйственные предприятия;
- отстойники сточных вод;
- установки по обеззараживанию и утилизации отходов.

Причинами выбросов загрязнителей в атмосферу являются [4]:

- 1) отсутствие или неэффективная локализация источников выделения газов и пыли;
- 2) недостаточная герметичность, конструктивные недостатки производственного оборудования, его техническая неисправность;
- 3) неправильное ведение технологических процессов.

Для предотвращения попадания загрязнений в атмосферу применяются технологии очистки на основе физических, химических и биологических методов, а также их сочетания (рис. 24).



Рис. 24. Методы очистки газовойоздушных выбросов

Первые установки для биохимической очистки воздуха стали использоваться в 40-х годах XX века в полупромышленных масштабах. В 1953 г. в США Р.Д. Помрой получил патент на «Удаление запаха газовых потоков с помощью микробиологических культур» для промышленного применения.

Биологические методы очистки основаны на сорбции загрязняющих веществ из газового потока водной фазой и последующей де-струкции сорбированных веществ микроорганизмами. Микроор-ганизмы способны разрушать широкий спектр загрязнителей даже в ма-

лых концентрациях в обычных условиях с образованием углекислого газа и воды в качестве конечных продуктов (рис. 25). Наиболее эффективны биологические методы для удаления загрязнений в диапазоне 5–1000 мг/м³ [4, 31, 32].

Большинство токсических загрязнителей атмосферы может быть разрушено монокультурами микроорганизмов. Примерами являются следующие бактерии [32]:

- р. *Pseudomonas* способны использовать в качестве единственного источника углерода, серы или азота свыше 100 соединений – загрязнителей биосферы;
- р. *Nocardia* разрушают стерилы и ксилит;
- р. *Mycobacterium* – винилхлорид;
- р. *Hyphomicrobium* – дихлорэтан;
- р. *Xanthobacterium* – этан и дихлорэтан;
- *Thiobacillus thiooxidans*, *Thiobacillus thioautotrophicus*, *Thiobacillus intermedius* и другие тионовые бактерии осуществляют биохимическое окисление молекулярной серы, сероводорода и других сернистых соединений с образованием сульфатов;
- *Bacillus stearothermophilus* содержат фермент роданазу, который катализирует превращение цианида в тиоцианат, а иммобилизованная цианидгидратаза гидролизует цианид до формамида.

Наиболее широким спектром катаболических путей характеризуются почвенные микроорганизмы [32].

Кроме того, разработан метод очистки воздуха, насыщенного сероводородом, сернистым ангидридом и парами серной кислоты, путем пропускания через интенсивную культуру микроводоросли *Chlorella* [32].

Для повышения эффективности биологического метода применяют смешанные культуры, имеющие большой каталитический потенциал, следовательно, большую деструктурирующую способность. Так аэробное окисление восстановленных газов осуществляется газотрофами – водородными, серными и тионовыми бактериями, нитрификаторами, карбоксидобактериями, метанотрофами, метилотрофами [4, 32].

В настоящее время существует три основных типа установок для биологической очистки газовоздушных выбросов: биофильтры, биоскрубберы и биореакторы с омываемым слоем.

Основными параметрами, которые необходимо учитывать при проектировании систем биологической очистки газоздушных выбросов, являются:

1. Характеристики загрязняющего газа (концентрация, скорость потока, наличие частиц, температура).
2. Выбор фильтрующего материала.
3. Влажность фильтрующего материала.
4. Микроорганизмы.



Рис. 25. Система биологической очистки воздуха. Источник:
<https://www.bmbpurification.com/en/air-biofilters/>

3.1. Биофильтры

Биофильтрация – это биологический процесс, используемый для обработки летучих органических и неорганических соединений, в ходе которого микроорганизмы, подвергают содержащиеся в воздухе загрязняющие вещества биологическому разложению. Схема процесса биофильтрации представлена на рисунке 26.

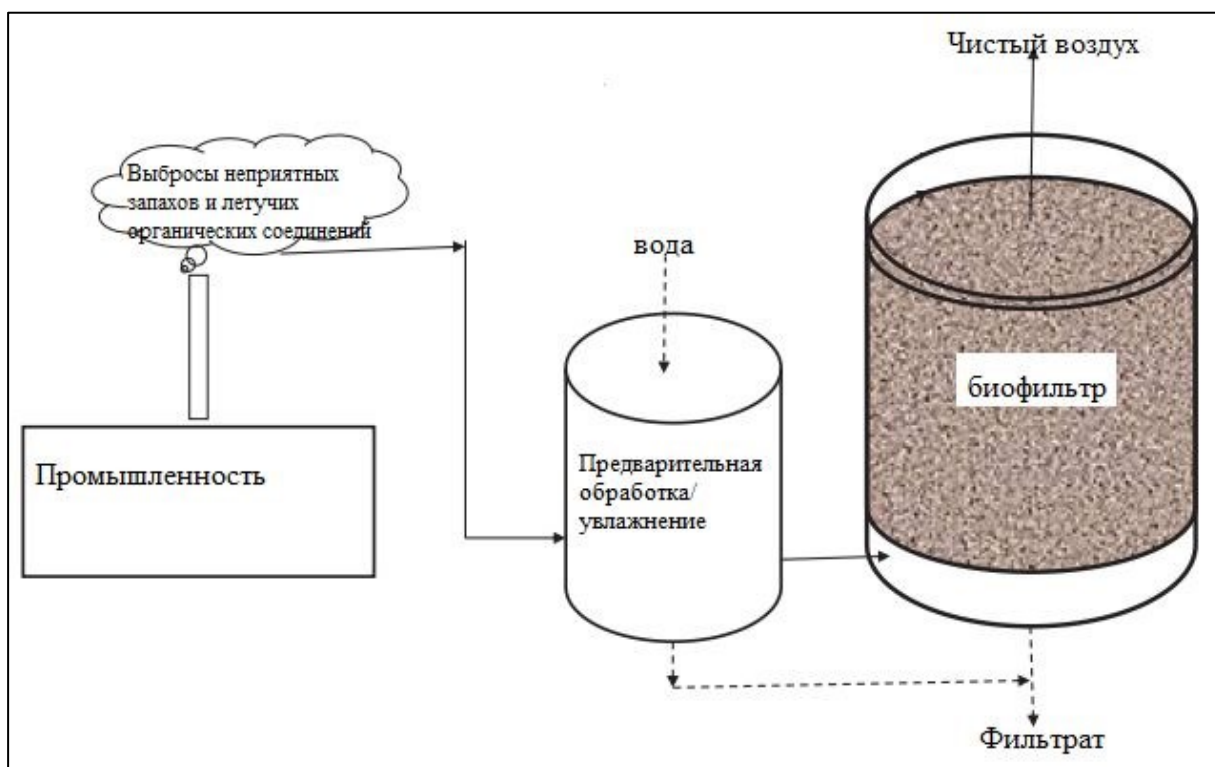


Рис. 26. Процесс биофильтрации [33]

Биофильтры состоят из фильтрующего материала, который служит опорой для микроорганизмов. В качестве фильтрующего слоя используются материалы природного происхождения (почвы, торф, солома, кора, опилки, различные виды компоста или органических отходов, диатомит, активированный уголь и другие), имеющие высокую влагоёмкость и являющиеся источниками минеральных веществ для микроорганизмов. Перечисленные носители более пригодны для удаления органических загрязнений с помощью гетеротрофных микроорганизмов. В качестве носителя также могут использоваться неорганические материалы: керамика, цеолит, гравий, крупнозернистый песок, пластмассы. Они подходят для окисления загрязнений автотрофной

микрофлорой: нитрификаторами, серобактериями, тионовыми бактериями. Воздух проходит через фильтрующий материал, на поверхности которого загрязняющие вещества переходят в тонкую биопленку. Микроорганизмы, иммобилизуемые в биопленке, разлагают загрязняющие вещества. В результате происходит полное разложение загрязняющих веществ без образования опасных побочных продуктов [4, 31, 32].

В зависимости от формы биофильтры подразделяются на плоские и многоярусные. Также выделяют биофильтры закрытого и открытого типа.

Для обеспечения стабильной работы биофильтров принимают следующие меры [4, 31, 32]:

- Воздух, подаваемый на очистку в биофильтр, предварительно увлажняют.
- При заполнении фильтрующего слоя для снижения аэродинамического сопротивления в материал добавляют гранулы из синтетических полимерных материалов.
- Для предотвращения резкого закисления материала фильтрующего слоя в ходе трансформации органики в него добавляют карбонат кальция.
- С целью избежания ингибирования микроорганизмов, входящих в состав биофильтра, в материал вносят активированный уголь.
- Высота слоя носителя, форма и размер частиц должны быть такими, чтобы не допускать отложения частиц пыли и лишь небольшую потерю давления. В наиболее распространённых конструкциях биофильтров высота фильтрующего слоя не превышает 1–1,5 м.
- Оптимальная влажность фильтрующего слоя составляет 40–60% от веса материала носителя. Увлажнение обеспечивается распылением воды.
- Температурный режим в биофильтре поддерживается постоянным.

Эффективность работы биофильтра определяется газодинамическими параметрами фильтрующего слоя, спектром и концентрацией присутствующих в воздухе веществ и ферментативной активностью микроорганизмов. Скорость удаления загрязняющих веществ может лимитироваться диффузией веществ из газовой фазы в биокаталитический слой и скоростью протекания биохимических реакций в клет-

ках микроорганизмов. При высокой входной концентрации вредных веществ в воздухе процесс их деструкции в ходе прохождения потока через фильтрующий слой неравномерен. Сначала разрушаются легкодоступные вещества [32].

Биофильтры являются наиболее часто применяемыми, но менее эффективными системами для биологической очистки газовой воздушной выбросов [31, 32]. Их использование имеет как преимущества, так и недостатки (табл. 7).

Таблица 7. Достоинства и недостатки биофильтров в очистке газовой воздушной выбросов

Достоинства	Недостатки
1) Простота конструкции. 2) Небольшие энергозатраты.	1) Низкая концентрация биомассы. 2) Невысокая производительность. 3) Занимают большие площади.

3.2. Биоскрубберы

Биоскрубберы – абсорбционные аппараты, в которых орошающей жидкостью (абсорбентом) служит водная суспензия микроорганизмов. Находящиеся в газовой воздушной выбросах загрязняющие вещества абсорбируются водой, а затем расщепляются микроорганизмами. Учитывая, что биохимические реакции протекают с относительно невысокой скоростью, в составе газоочистной установки предусматривается промежуточная емкость для очистки воды. Она выполняется в виде отдельного реактора, либо komponуется в нижней части скруббера. Микроорганизмы находятся во взвешенном состоянии или закреплены на насадке [4, 31, 32].

Процесс очистки воздуха в биоскруббере осуществляется в две стадии в двух различных установках. На первом этапе разлагаемое соединение сначала абсорбируется в жидкой фазе, расположенной в заполненной жидкостью абсорбционной башне. Процесс заключается в том, что поток газа направляется против потока жидкости, в котором поглощаются загрязняющие вещества и кислород. В результате воздух выходит очищенным. На второй стадии загрязненная вода поступает в аэротенк, где она регенерируется. В ходе очистки сложные

органические вещества окисляются микроорганизмами, формирующими активный ил, до конечных продуктов с образованием биомассы. Регенерация абсорбента осуществляется микроорганизмами в аэротенках, часто со вторичными отстойниками. В этом случае, возможна одновременная очистка загрязнённого газа и сточных вод. Регенерированная промывная вода перекачивается насосами обратно в абсорбер [4, 31, 32].

Применяют различные типы абсорберов: барботажные, насадочные, распылительные, форсуночные и т.д. Цель конструктивных усовершенствований заключается в увеличении площади поверхности раздела фаз, которая определяет эффективность абсорбции [4, 31, 32].

Биоскрубберы являются подходящими системами для обработки соединений, хорошо растворяющихся в воде.

Примеры биоскрубберов представлены на рисунках 27 и 28.

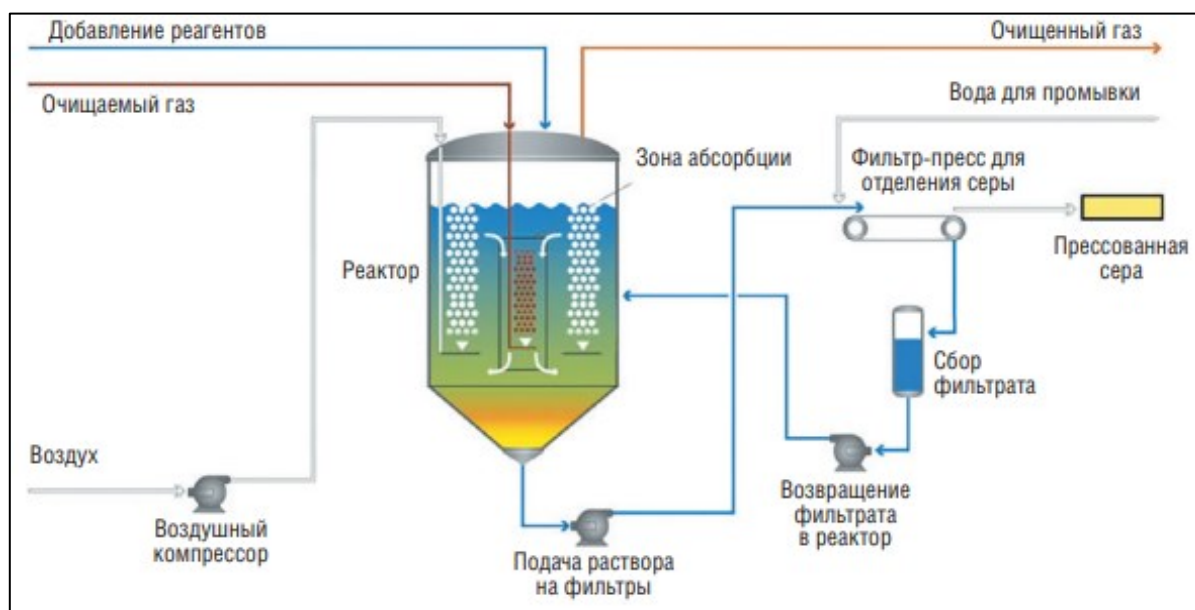


Рис. 27. Технологическая схема работы безнасадочного скруббера Lo-Cat компании Merichem с системой очистки каталитического раствора от образовавшейся серы [34]



Рис. 28. Жидкостной скруббер Sulferox компании Shell для удаления сероводорода с помощью ионов железа Fe (III) и вспомогательное оборудование к нему [34]

3.3 Биореакторы с омываемым слоем

Биореактор с омываемым слоем представляет собой промежуточное решение между биоабсорбером и биофильтром. Рабочим элементом в биореакторе являются клетки микроорганизмов, иммобилизованные на искусственных носителях. Микроорганизмы расположены на поверхности насадки в виде биопленки. Принцип действия биореактора с омываемым слоем заключается в том, что при прохождении загрязненного воздуха через слой насадки, вещества, подлежащие деструкции, распределяются между газовой фазой и водной

пленкой, покрывающей элементы насадки, за счет диффузии доставляются к биопленке и разрушаются в ней. Скорость процесса газоочистки в биореакторе с омываемым слоем может лимитироваться либо скоростью диффузии загрязнений из газовой фазы через водную пленку к поверхности биопленки, либо скоростью их деструкции микроорганизмами. Скорость диффузии зависит от природы индивидуальных веществ и разности концентраций на внешней и внутренней границах водной пленки, скорость деструкции определяется активностью ферментов микроорганизмов. В процессе газоочистки слой насадки орошается водой, содержащей минеральные соли и микроэлементы, необходимые для питания микроорганизмов. В орошающей воде корректируется значение pH. Вода циркулирует в системе, из заборника на орошение подается насосом, по мере загрязнения направляется на очистку и заменяется свежей. Биореакторы с омываемым слоем являются наиболее перспективными системами для биологической очистки воздуха. Они характеризуются значительно более высокой удельной производительностью, обусловленной высокой концентрацией биомассы в рабочем объеме реактора вследствие создания благоприятных условий для иммобилизации микроорганизмов. Также биореакторы с омываемым слоем более компактны, чем биофильтры и требуют меньше воды для орошения по сравнению с биоскрубберами [4, 31, 32].

Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятия «газовоздушные выбросы».
2. Приведите классификацию загрязняющих веществ.
3. Приведите примеры аэродисперсных загрязняющих веществ.
4. Приведите примеры газообразных загрязняющих веществ.
5. Приведите примеры паров загрязняющих веществ.
6. Приведите примеры естественных выбросов загрязняющих веществ в атмосферу.
7. Перечислите основные источники загрязнения атмосферы антропогенного характера.
8. Перечислите основные причины выбросов загрязнителей в атмосферу.

9. Перечислите основные физические методы очистки газовоздушных выбросов.

10. Перечислите основные химические методы очистки газовоздушных выбросов.

11. На чем основаны биологические методы очистки газовоздушных выбросов?

12. Приведите примеры монокультур микроорганизмов, которые могут разрушать загрязнители атмосферного воздуха.

13. Почему для повышения эффективности биологического метода очистки газовоздушных выбросов применяют смешанные культуры микроорганизмов?

14. Перечислите три основных типа установок для биологической очистки газовоздушных выбросов.

15. Перечислите основные параметры, которые необходимо учитывать при проектировании систем биологической очистки газовоздушных выбросов.

16. Дайте определение понятия «биофильтрация».

17. Дайте общую характеристику устройства биофильтра.

18. Какие меры необходимо принять для обеспечения стабильной работы биофильтров?

19. От чего зависит эффективность работы биофильтра?

20. Перечислите достоинства биофильтров.

21. Перечислите недостатки биофильтров.

22. Дайте определение понятия «биоскрubber».

23. Дайте общую характеристику устройства биоскруббера.

24. Дайте общую характеристику устройства биореактора с омываемым слоем.

Глава 4. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЧИСТКА СТОЧНЫХ ВОД

4.1. Сточные воды и методы их очистки

Сточные воды – это воды, отводимые после использования в бытовой и производственной деятельности человека.

Компоненты сточных вод имеют химическую, физическую, и биологическую природу. Они могут оказывать негативное воздействие на окружающую среду, в том числе выраженную в загрязнении и изменении биоразнообразия водных экосистем.

В зависимости от источника загрязнений сточные воды классифицируют на (рис. 29):

1) Бытовые (хозяйственно-бытовые, хозяйственно-фекальные) – это воды, которые образуются в жилых помещениях и общественных зданиях. Их особенностью является относительное постоянство состава, содержат 50–60% органических веществ (белки, жиры, углеводы и продукты их разложения) и 40–50% минеральных (частицы кварцевого песка, глины, фосфаты, гидрокарбонаты, аммонийные соли) [4, 35].

2) Производственные – это воды, образующиеся в технологическом процессе, при добыче и обогащении полезных ископаемых, воды от охлаждения продуктов и агрегатов. Характеризуются неравномерностью притока и непостоянством состава, которые зависят от используемых технологических процессов, вида продукции и применяемого сырья [4, 35].

3) Атмосферные – это воды, которые образуются при выпадении атмосферных осадков. Их особенностью является неравномерность по объему и составу загрязнений. Содержат большое количество кварцевого песка, глинистых частиц, нефтепродуктов. В ливневых водах с территории промышленных предприятий присутствуют загрязнители, характерные для данного производства. Атмосферные воды собирают в системы ливневого водосбора [4, 35].

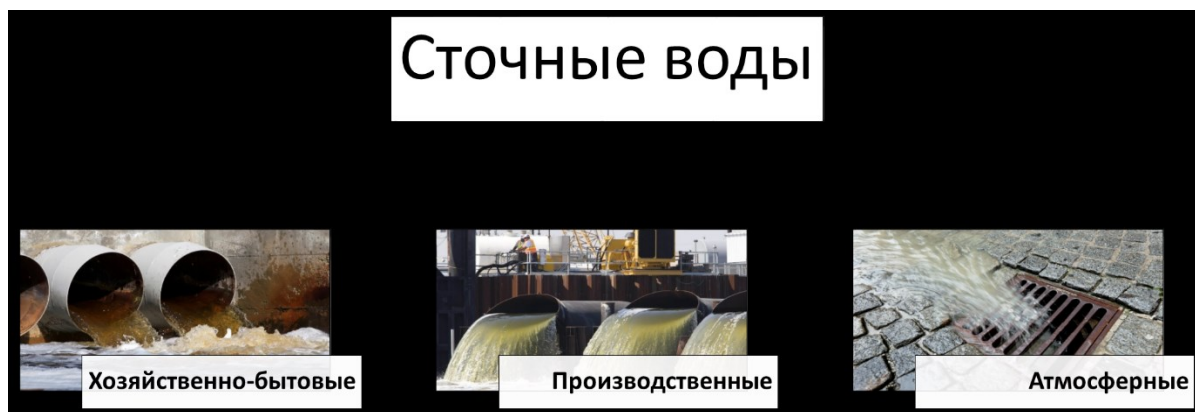


Рис. 29. Классификация сточных вод в зависимости от источника загрязнений

В зависимости от природы загрязнений сточные воды классифицируют на (рис. 30):

1) Содержащие преимущественно минеральные загрязнения. К ним относятся сточные воды металлургического, машиностроительного, рудодобывающего производства, предприятий по производству минеральных удобрений, кислот, строительных изделий и материалов [35].

2) Содержащие преимущественно органические загрязнения. К ним относятся сточные воды предприятий пищевой, биотехнологической, целлюлозно-бумажной промышленности, производства пластмасс, каучука и некоторые другие [35].

3) Содержащие и минеральные, и органические загрязнения. К ним относятся сточные воды предприятий нефтедобывающей, нефтеперерабатывающей, нефтехимической фармацевтической, промышленности и другие [35].

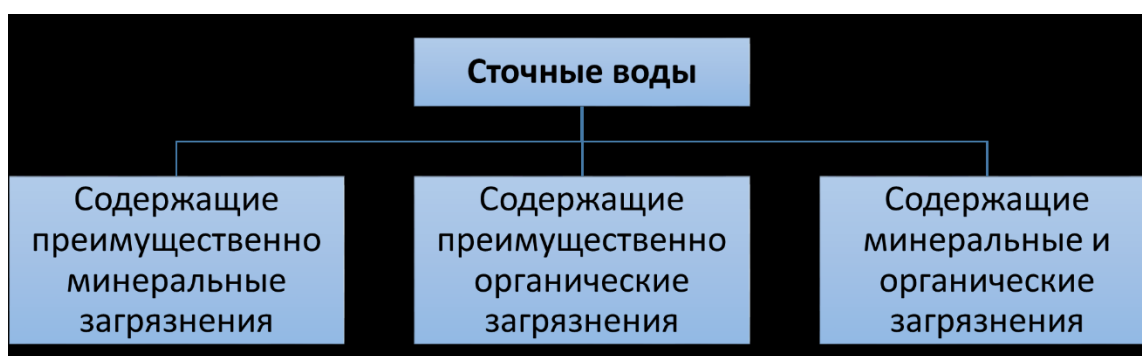


Рис. 30. Классификация сточных вод в зависимости от природы загрязнений

В зависимости от уровня загрязнения производственные сточные воды классифицируют на (рис. 31):

1) Слабозагрязненные – сточные воды, которые могут быть переданы в систему канализации предприятия или города без предварительной обработки и при этом не окажут отрицательного воздействия на работу очистных сооружений [35].

2) Загрязненные – сточные воды, которые могут быть переданы в систему канализации предприятия без предварительной обработки в цехах, но при этом для общего стока предприятия может потребоваться специальная локальная очистка перед подачей в городскую систему канализации [35].

3) Сильнозагрязненные (концентрированные) – стоки отдельных стадий технологического процесса, требующие специальной предварительной обработки перед сбросом в систему канализации предприятия. Эти стоки могут содержать специфические загрязнения в количествах, которые делают возможным и экономически целесообразным их извлечение, регенерацию или обезвреживание [35].

4) Токсичные – сточные воды, локальная очистка которых технически невозможна или экономически нецелесообразна, они содержат токсичные, неокисляемые или трудноокисляемые вещества. Такие воды запрещается сбрасывать в канализацию, они должны быть локализованы и переработаны либо уничтожены [35].

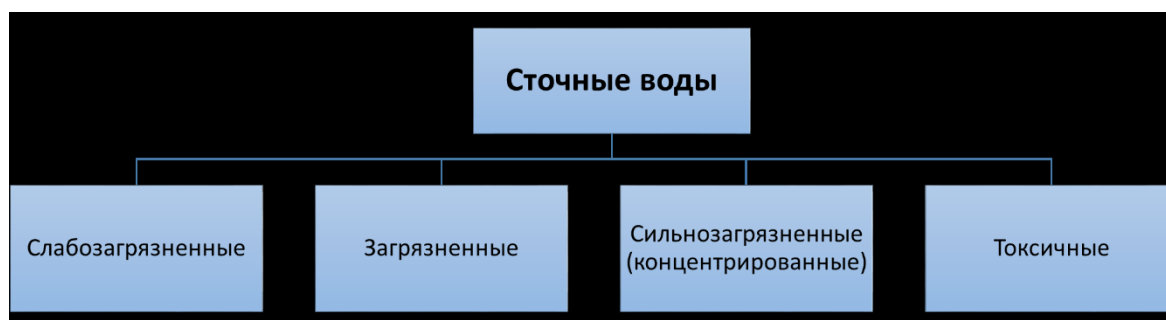


Рис. 31. Классификация сточных вод в зависимости от уровня загрязнения

По химическому составу сточные воды представляют собой раствор органических и неорганических веществ, концентрации которых обусловлены их происхождением. Сточные воды предприятий могут содержать кислоты, щелочи, органические вещества, соли тяжелых металлов. В стоках нефтеперерабатывающих и нефтехимических предприятий присутствуют нефтепродукты, альдегиды, ароматиче-

ские соединения. В сточных водах предприятий пищевой и перерабатывающей промышленности и животноводческих комплексов обнаруживаются легкоокисляемые органические вещества. Загрязненные сточные воды промышленных предприятий нуждаются в предварительной очистке перед подачей в городскую систему канализации.

Очистка сточных вод – это комплекс мероприятий, позволяющих удалить из сточных вод загрязнения и патогенные микроорганизмы перед выпуском в водоёмы [4].

Существует четыре группы методов очистки сточных вод (рис. 32):

1. Механические методы используют на первом этапе очистки для удаления взвешенных веществ, нерастворенных органических и минеральных примесей.

2. Химические методы применяют на завершающем этапе очистки перед подачей в систему оборотного водоснабжения либо перед спуском в водоем.

3. Физико-химические методы применяют как самостоятельные методы очистки сточных вод предприятий, так и в сочетании с другими методами.

4. Биологические методы очистки сточных вод основаны на способности микроорганизмов использовать в качестве питательных веществ многие органические и неорганические соединения, содержащиеся в сточных водах.

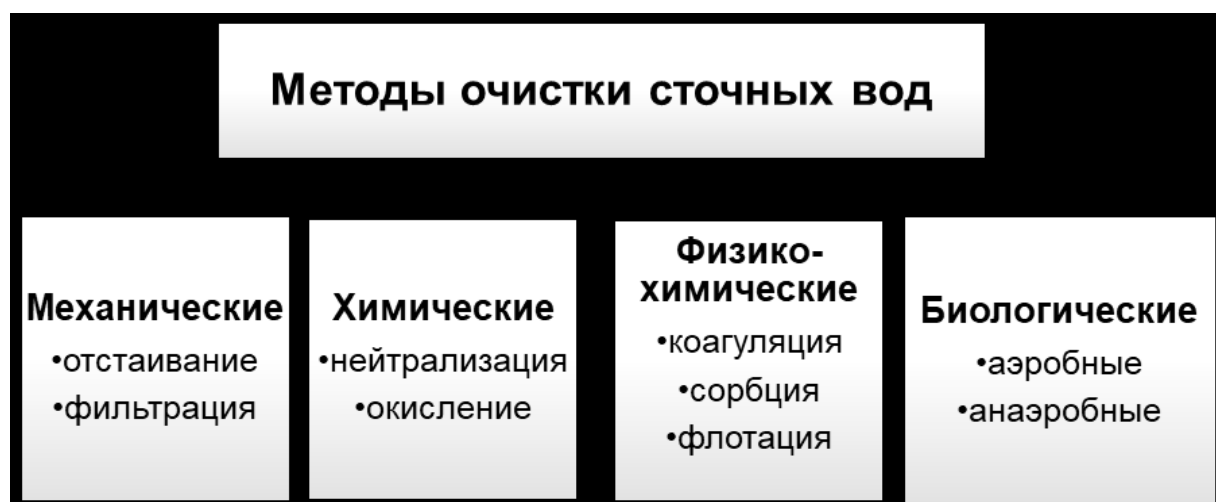


Рис. 32. Методы очистки сточных вод

При выборе конкретных методов очистки необходимо учитывать следующие показатели:

- источник сточных вод;
- форму загрязняющих веществ (взвешенные, коллоидные, растворенные);
- способность загрязняющих веществ к биологическому разложению;
- токсичность компонентов;
- требуемое качество сточных вод;
- стоимость;
- наличие очистных устройств и земельного участка [4].

Установки для очистки сточных вод классифицируют в зависимости от их производительности.

Преимущества биологической очистки обусловлены особенностями жизнедеятельности микроорганизмов. К ним относятся:

- 1) широкий спектр удаляемых органических и неорганических соединений [4];
- 2) образование простых конечных продуктов (в аэробных условиях – CO_2 , ионы NO_3^- , SO_4^{2-} , в анаэробных условиях – CH_4 , NH_3 , H_2S) [4];
- 3) отсутствие вторичного загрязнения воды [4].

Биологическую очистку сточных вод осуществляют в естественных условиях и в специализированных очистных сооружениях, в аэробных и анаэробных условиях (рис. 33).

В естественных условиях аэробная очистка осуществляется по принципу самоочищения воды (в биологических прудах), по принципу самоочищения почвы (на полях орошения и полях фильтрации). Биологическая очистка сточных вод в искусственно созданных условиях производится в биофильтрах, аэротенках.

Анаэробная очистка сточных вод осуществляется в анаэробных реакторах, которые включают: системы с взвешенно-сесиментируемой биомассой, системы с прикрепленной биомассой и гибридные системы.



Рис. 33. Разнообразие методов биологической очистки сточных вод

Пример станции очистки сточных вод приведен на рисунке 35.



Рис. 35. Станция очистки сточных вод [36]

4.2. Биологические пруды

Биологические пруды – это самоочищающиеся водные объекты, содержащие микроорганизмы и предназначенные для очистки хозяйственно-бытовых, производственных, поверхностных сточных вод в условиях, близких к естественному течению биохимических процессов. В настоящее время биопруды применяют как самостоятельные сооружения биологической очистки либо для глубокой очистки сточных вод после сооружений искусственной биологической очистки [37].

Различают следующие типы биологических прудов:

- Биопруды с естественной аэрацией (окислительные), в которые кислород поступает путём диффузии из атмосферного воздуха через поверхность воды (рис. 36). Глубина такого сооружения составляет до 1,5 м. В придонных слоях происходит анаэробное разложение загрязнений сапрофитными микроорганизмами. В средних слоях воды осуществляется окисление растворенных органических веществ гетеротрофными микроорганизмами. В поверхностной зоне автотрофные организмы (преимущественно, водоросли) вырабатывают кислород и потребляют продукты жизнедеятельности (диоксид углерода, нитраты, фосфаты). Изъятие «вторичной» биомассы в биопрудах осуществляется простейшими и рачками. Данный тип биологических прудов наиболее эффективен при ясной и теплой погоде. В холодное время года они используются в качестве ёмкостных сооружений для сбора оседающих примесей [35].

- Биопруды с искусственной аэрацией. Подача сжатого воздуха осуществляется с помощью механических или пневматических аэраторов. Глубина сооружений достигает 3,5 м. Эффективность очистки составляет 80–95%. Применяются более широко, чем биопруды с естественной аэрацией [35].

- Анаэробные биопруды. Предназначены для очистки сточных вод и полужидких отходов при высоких нагрузках по органическим загрязнениям. Применяются в условиях теплого климата для переработки отходов производства мяса, овощей, навоза и др. Для получения стока, пригодного для сброса в водоем, за анаэробным биопрудом следует аэробное сооружение [35].

- Биопруды с высшей водной растительностью, в которых по определенной схеме высаживают камыш (*Scirpus sylvaticus* L.), тростник (*Phragmites australis*), рогоз (*Typha angustifolia* L.), эйхорнию толстоножковую (*Eichhornia crassipes*), телорез (*Stratiotes* spp.) и другие водные культуры. Растения интенсифицируют процесс очистки, биоаккумулируют тяжелые металлы и другие загрязняющие вещества. Преимуществом их использования является более легкое удаление из биологических прудов высших растений в сравнении с водорослями, что предотвращает вторичное загрязнение водоема продуктами разложения биомассы [35].

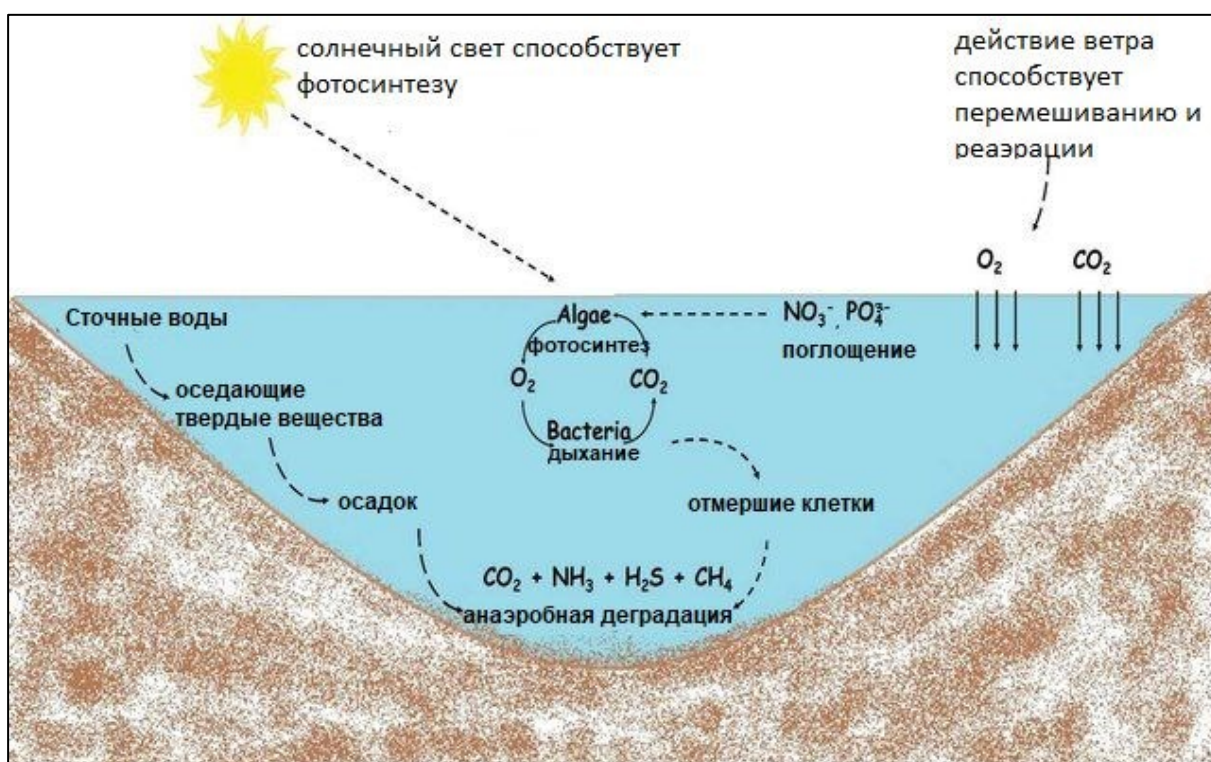


Рис. 35. Схематичное изображение окислительного биологического пруда [38]

Существуют биопруды искусственного и естественного происхождения.

Биологические пруды могут быть контактные, проточные и серийные (состоящие из каскада прудов).

К недостаткам биологических прудов относятся:

- длительная переработка отходов,
- необходимость большой площади,
- благоприятные условия для размножения насекомых.

4.3. Поля орошения и поля фильтрации

Очистка сточных вод на полях орошения и фильтрации основана на самоочищении почвы. Задерживаемые органические загрязнения вместе с бактериями обволакивают частицы почвы и образуют биологическую пленку. Очистка сточных вод при этом осуществляется за счет протекания ряда процессов:

- Сорбция, ионный обмен, комплексообразование с частицами почвы [35].

- Биологическое окисление загрязнений в аэробных условиях. Биологическая пленка адсорбирует загрязняющие вещества из сточных вод. Аэробные бактерии окисляют органические вещества с образованием углекислого газа, нитритов и нитратов. Процесс протекает на глубине до 20–40 см, где обеспечивается удовлетворительная аэрация атмосферным воздухом [35].

- Анаэробное разложение загрязнений, поступивших на более глубокие уровни. Происходит процесс денитрификации, на окисление органических веществ расходуется кислород, освобождающийся от нитратов [35].

- Ассимиляция растениями, почвенными животными [35].

Поля орошения – это участки земли, подготовленные для естественной биологической очистки сточных вод и выращивания сельскохозяйственных растений (преимущественно, технических культур). Таким образом, создание полей орошения на определенной территории решает сразу две задачи: очистка сточных вод и развитие сельского хозяйства. На поля орошения направляют сточные воды, прошедшие биологическую очистку. Для орошения наиболее пригодными являются сточные воды пищевой, химической, легкой промышленности, а также предприятий по производству минеральных удобрений, азотной кислоты и другие. Оптимальные грунты для устройства полей орошения – песчаные и супесчаные. Порядок орошения, среднегодовые расходы сточных вод, количество вносимых со сточными водами азота, фосфора и калия устанавливаются по графику севооборота. Сроки полива и объемы сточных вод зависят от погодных условий. В межполивной период стоки подлежат хранению в полевых накопителях. Избыток воды собирается в накопители и вновь направляется на орошение. В зонах с избыточной влажностью вода из дре-

нажной системы сбрасывается в водоем. При невозможности приема воды на орошение, она должна направляться на поля фильтрации, служащие аварийным резервом полей орошения. Активный слой грунта, в котором происходят процессы очистки сточных вод, достигает 1,5 метров, поэтому поля орошения устраиваются при уровне грунтовых вод не выше 1,5 м от поверхности земли [35, 37].

В России первые поля орошения появились в Москве в конце XIX века. Главная насосная станция московской канализации начала перекачивать нечистоты на Люблинские поля орошения (рис. 36) в июле 1898 года. Там они проходили почвенную очистку и использовались в качестве удобрения для сельскохозяйственных культур. С 1914 года выращивание сельскохозяйственных культур прекратилось в связи с перегрузкой системы, далее поля выполняли функцию фильтрации.

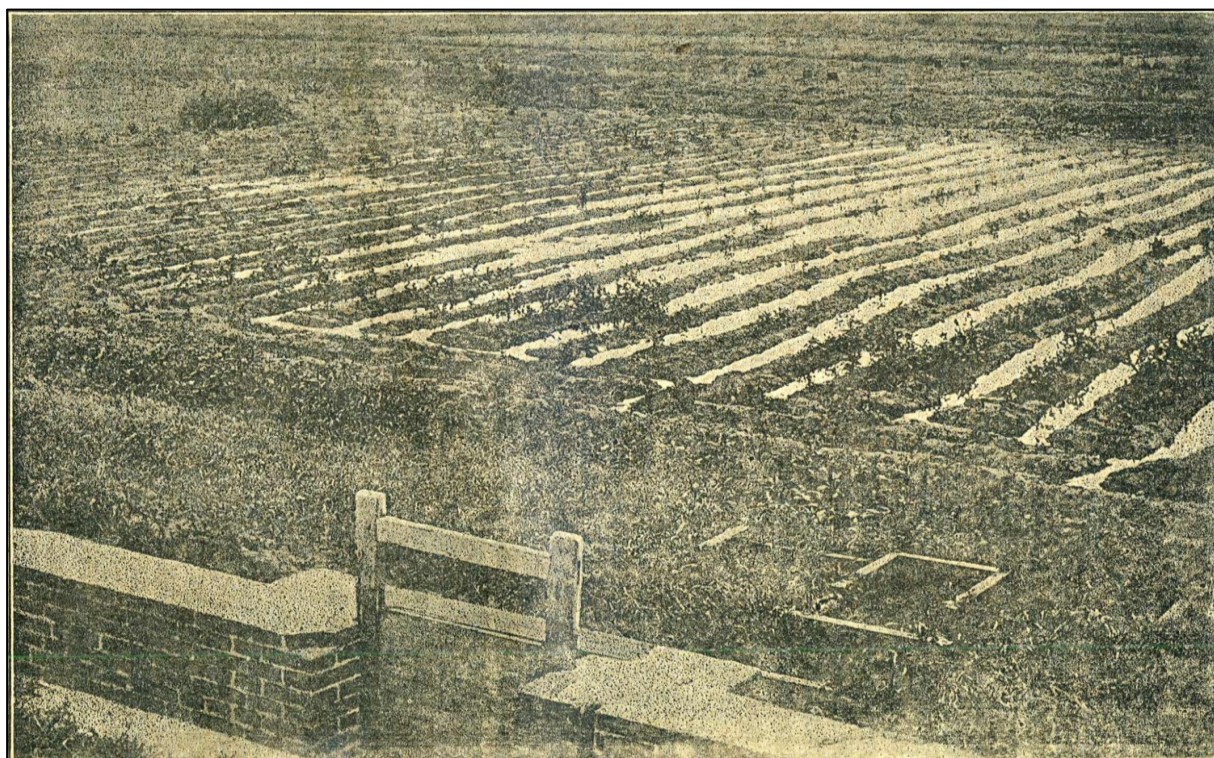


Рис. 36. Люблинские поля орошения

В зависимости от расположения очистных сооружений различают [37]:

1) Коммунальные поля орошения – это участки земли, подготовленные для естественной биологической очистки сточных вод.

Размещаются вблизи населенных пунктов, производят биологическую доочистку сточных вод, поступающих со станций очистки. Таким образом, очистка сточных вод является их основной функцией, а сельскохозяйственное использование – дополнительной. На коммунальные поля орошения даётся максимально возможная нагрузка сточных вод с учетом самоочищающей способности почвы и потребности во влаге и удобрении сельскохозяйственных культур.

2) Земледельческие поля орошения – это участки, подготовленные для естественной биологической очистки сточных вод и выращивания сельскохозяйственных культур. Основная их задача – внесение в почву влаги и удобрений, дополнительная задача – очистка сточных вод. Земледельческие поля орошения принимают небольшую нагрузку сточных вод на единицу площади, требуют меньше затрат на оборудование по сравнению с коммунальными полями орошения.

Поля фильтрации – это водоочистные сооружения, представляющие собой участок земли, на поверхности которого распределяют сточные воды в целях их очистки. Предназначены только для очистки сточных вод. Принцип работы заключается в окислении органических загрязнений гетеротрофными микроорганизмами, фиксации и использовании продуктов окисления, автотрофными микроорганизмами и растениями. Высшие растения также необходимы для биоаккумуляции и выноса из почвы избытка биогенных элементов, сохранения морфологических свойств почв. Перегрузка полей фильтрации приводит к резкому ухудшению фильтрационных свойств грунта вследствие интенсивного роста грибов и размножения факультативных микроорганизмов, нарушению кислородного режима, закисанию почвы и в конечном итоге к потере аэробных окислительных свойств почвы. Восстановлению свойств почвы способствует периодическая вспашка полей [37].

Коммунальные поля орошения и поля фильтрации состоят из карт, представляющих собой отдельные участки, спланированные горизонтально или с небольшим уклоном, ограниченные по периметру земляными валиками, не затопляемые весенними водами. Поля орошения и фильтрации располагают таким образом, чтобы избежать загрязнения грунтовых вод, служащих источниками водоснабжения. Сточные воды поступают на карты полей орошения и фильтрации по

оросительной сети, представляющую собой систему открытых каналов и лотков [37].

К отрицательным последствиям применения почвенного метода очистки сточных вод на полях относится накопление в почве загрязняющих веществ, не подвергающихся биологическому окислению и негативно влияющих на биоценоз почвы.

4.4. Биологические фильтры

Биологические фильтры – это сооружения, в которых биологическая очистка сточных вод осуществляется при фильтрации через слой крупнозернистого материала, поверхность зерен которого покрыта биологической пленкой, заселенной аэробными микроорганизмами. При фильтрации сточных вод через слой загрузки происходит адсорбция биологической пленкой тонкодиспергированных, коллоидных и растворенных веществ. Аэробные бактерии окисляют органические вещества с образованием углекислого газа, нитритов и нитратов. Процесс биохимического окисления в биофильтрах происходит интенсивнее, чем на полях орошения и полях фильтрации в связи с искусственно созданными оптимальными условиями [35, 37].

Выделяют два основных типа систем биологической фильтрации:

1) Струйный фильтр, в котором среда неподвижна относительно потока жидкости (рис. 37). Обычно представляют собой системы, в которых через слои среды проходят сточные воды. Струйный фильтр работает за счет образования биопленки на среде, которая разлагает органические соединения и аммоний в сточных водах. Распределители потока равномерно распределяют сточные воды по поверхности среды (рис. 38). Когда сточные воды самотеком перемещаются по среде, растворимые и коллоидные органические вещества усваиваются образующейся на среде биопленкой. Избыток биомассы удаляется из среды, и вместе с очищенными сточными водами поступают в осветлитель, где твердые частицы оседают и отделяются от очищенных сточных вод. На этом этапе очищенные сточные воды сбрасываются, либо возвращаются в фильтрующую среду для дальнейшей очистки. Струйный фильтр состоит из слоя крупнозернистого материала (камни, рейки, щебень, шлак, сфагнум, торфяной мох,

пластмассы) поверх которого подается сточная вода. При просачивании сточных вод на поверхности материала происходит рост микроорганизмов. Сточные воды проходят через неподвижную популяцию микроорганизмов, обеспечивая контакт между микроорганизмами и органическими загрязнителями, что способствует процессам разложения. Сточные воды с помощью насоса подаются в верхнюю часть фильтрующего устройства и собираются внизу в отстойнике. Кислород поступает с помощью естественной или искусственной вентиляции. По мере роста биопленки образуется анаэробная микрофлора, из-за препятствия проникновения кислорода через утолщающуюся биопленку. По мере увеличения размера биопленки, её части отслаиваются, и после сбора в отстойник они очищаются или оседают. Струйные фильтры эффективны для небольших населенных пунктов [2].

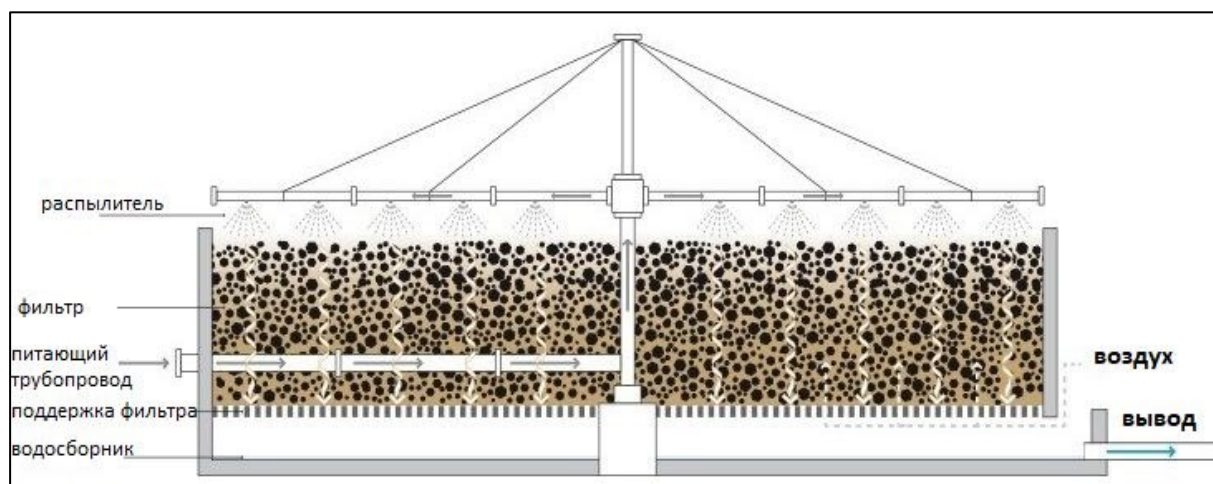


Рисунок 38. Схема струйного фильтра [39]



Рис. 38. Пластиковый фильтрующий элемент с поворотным гидравлическим распределителем (слева) и система распределения крупным планом (справа) [39]

2) Среда находится в движении относительно сточных вод. Например, вращающийся биологический диск или вращающийся биологический контактор (рис. 39–40). Данный процесс биологической очистки разработан в 60 годах XX века и способен выдерживать резкие скачки органической нагрузки. Вращающиеся биологические контакторы состоят из расположенных близко друг к другу медленно вращающихся пластиковых дисков на валу, который приводится в движение двигателем. Сточные воды проходят через фильтрующую среду. Биомасса постоянно стекает с дисков, некоторое количество взвешенной биомассы образуется в каналах для сточных вод, по которым вращаются диски, что делает необходимым установку дополнительного осветлителя. Вращение дисков позволяет прикрепленной биомассе соприкасаться с атмосферным воздухом и сточными водами. Кислород поступает к биомассе за счет естественного поверхностного переноса. Размер биопленки регулируется силами вращения, предотвращая чрезмерный рост биопленки, который может ограничить доступ кислорода к аэробным бактериям. Избыточная биомасса удаляется через конечный отстойник или осветлитель, где микроорганизмы оседают в виде суспензии. Такие системы проще в эксплуатации и имеют более длительное время контакта бактерий с загрязнителями, чем струйные фильтры [2].

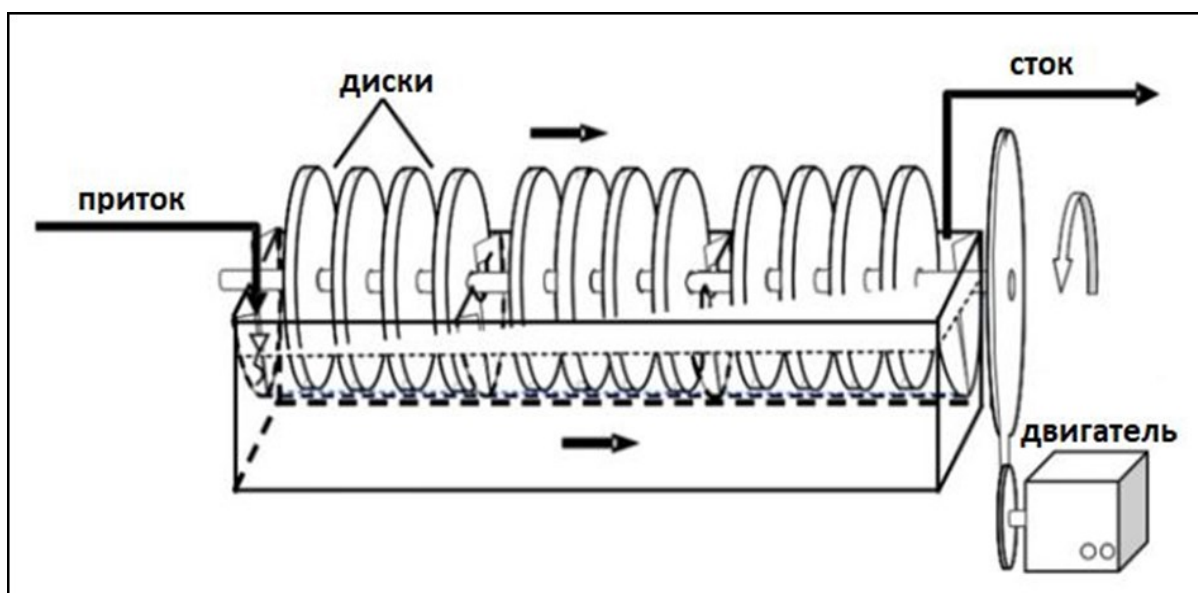


Рис. 39. Схема вращающегося биологического контактора [40]

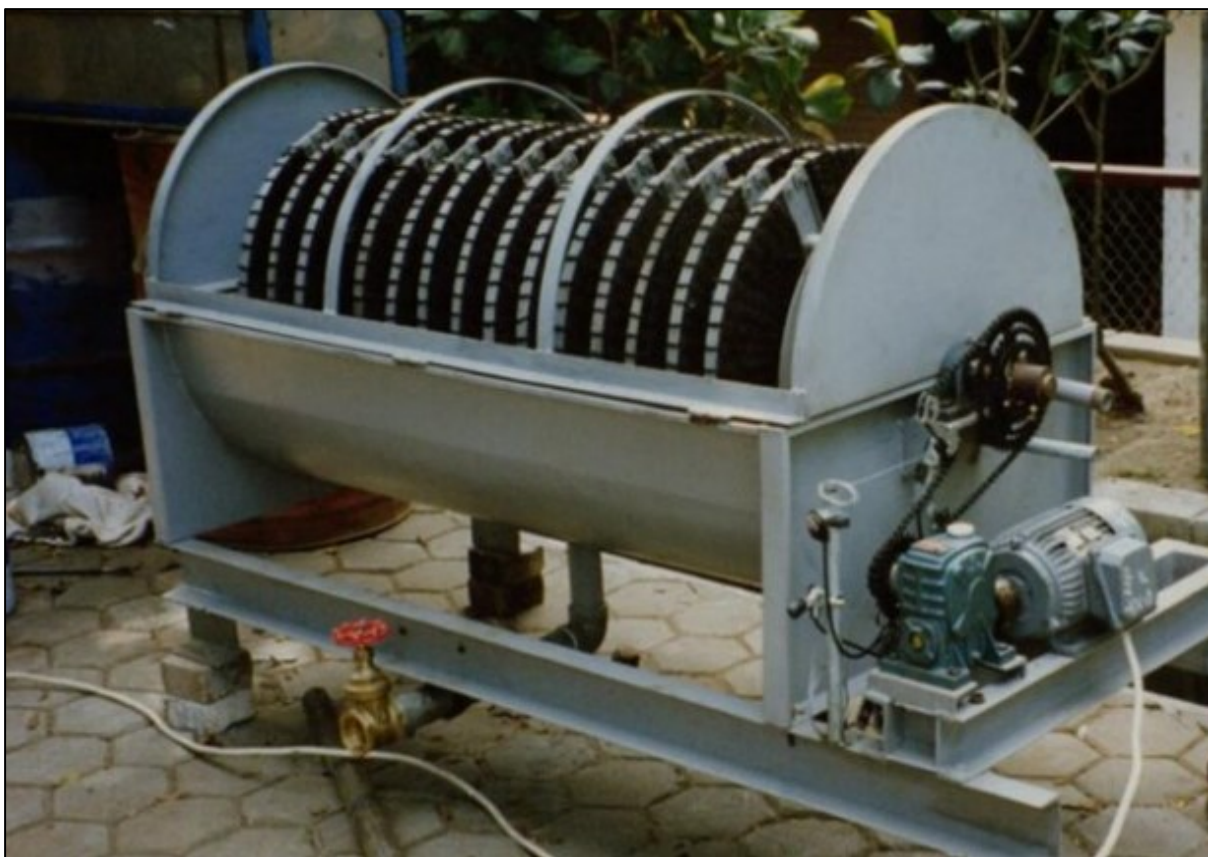


Рис. 40. Вращающийся биологический контактор [41]

Первые биологические фильтры были изобретены в Великобритании в 1893 году. С начала XX века они начали использоваться в Европе. Высоконагружаемые биофильтры (аэрофильтры), созданные в СССР, в 1929 году введены в эксплуатацию в составе Кожуховской станции аэрации в Москве. В других странах высоконагружаемые биофильтры начали применять с 1936 года [37].

В настоящее время, преимущественно, применяются биофильтры непрерывного действия, на которые сточные воды подаются непрерывно с небольшими интервалами времени. Такие биофильтры состоят из следующих основных элементов:

- 1) ограждающие стены, располагаемые по периметру биофильтра, удерживающие фильтрующий материал [37];
- 2) дренажное устройство, представляющее дырчатое дно биофильтра, на котором располагается фильтрующая загрузка [37];
- 3) сплошное днище, расположенное под дренажом на расстоянии 0,4–0,6 м, благодаря чему образуется междудонное пространство [37];

4) фильтрующая загрузка, состоящая из щебня твердых пород, гравия, керамзита, котельного шлака, пластических масс и других подобных материалов [37];

5) устройство для равномерного распределения сточных вод по поверхности фильтрующего слоя с небольшими интервалами времени [37].

Непрерывно действующие биологические фильтры разделяются на капельные и высоконагружаемые [37].

- Капельные (стандартные) биофильтры применяются для полной биологической очистки сточных вод. Задержанные в биофилт্রে органические вещества почти полностью подвергаются биохимическому окислению. Характерной особенностью является небольшая нагрузка сточных вод. Высота биофилттра составляет 1–2 метра. Расчет капельных биофилттров производится по их окислительной мощности, которая зависит от температуры сточных вод и наружного воздуха, характера загрязнений сточных вод, загрузки [37].

- Высоконагружаемые биофильтры отличаются от капельных значительно большей нагрузкой сточных вод. Высота биофилттра составляет 2–4 метра. Увеличенная нагрузка приводит к большим скоростям фильтрации, способствующим постоянному выносу биопленки. Загрузка высоконагружаемых биофилттров состоит из крупных частиц (4–6 см). Благодаря большим скоростям фильтрации и усиленному обмену воздуха происходит адсорбция загрязнений сточных вод и биохимическое окисление легко окисляющихся органических веществ. Трудно окисляющиеся вещества вымываются из филттра с отмирающей биопленкой, поэтому после высоконагружаемых биофилттров устанавливаются вторичные отстойники для выделения вынесенной биопленки. Биохимическая очистка сточных вод, прошедших через высоконагружаемые биофильтры, может быть неполной. При полной биологической очистке часто требуется рециркуляция сточных вод [37].

Кислород, необходимый для жизнедеятельности аэробных микроорганизмов, поступает на биологические фильтры путем вентиляции, которая также необходима для удаления углекислого газа, образующегося в процессе жизнедеятельности микроорганизмов. Вентиляция биофилттров может быть естественной и искусственной. При естественной вентиляции движение воздуха в фильтрующей загрузке

происходит вследствие разности температур очищаемых сточных вод и воздуха. Если температура сточных вод выше температуры воздуха, то движение воздуха в загрузке биофильтра будет восходящим, в обратном случае – нисходящим. При равенстве температур движение воздуха становится неустойчивым, и возможно прекращение доступа его в тело биофильтра. Интенсивность вентиляции биофильтров зависит от их высоты и размеров зерен загрузки. Чем выше биофильтры, тем лучше тяга воздуха. Чем мельче зерна фильтрующего материала, тем меньше объем пустот между ними, и тем больше сопротивлений при движении воздуха в фильтре. Доступ воздуха в биофильтр обеспечивается через дренаж путем устройства отверстий или щелей в ограждающей поверхности стен на высоте междудонного пространства. При искусственной вентиляции воздух подается вентиляторами в закрытые шатры биофильтров либо нагнетается в междудонное пространство. При этом воздух предварительно подогревается [37].

Температура в теле биофильтра должна быть выше 4–6°C. Нормальная работа биофильтров обеспечивается равномерным распределением сточных вод по их поверхности. В качестве распределительных устройств применяются спринклеры, желоба и трубы с отверстиями в стенках, качающиеся желоба, катучие оросители, реактивные оросители. Для накапливания сточных вод и периодической подачи их на биофильтр используется дозирующий бак [37].

К недостаткам биофильтров относятся:

- 1) распространение неприятных запахов [37];
- 2) потребность в большом количестве фильтрующего материала [37];
- 3) большие территории для размещения [37].

4.5. Аэротенки и активный ил

Аэротенк – это биологический реактор, который представляет собой очистное сооружение биологической очистки сточных вод активным илом (рис. 41–42). Аэротенки являются основными сооружениями аэробной биологической очистки с активным илом. Вода из аэротенка подается во вторичный отстойник, где происходит разделение очищенной сточной воды и суспензии активного ила. При этом одна часть активного ила удаляется из системы, а другая часть (воз-

вратный, рециркулируемый ил) возвращается в аэротенк для повышения его производительности и сокращения количества избыточного ила. Аэротенки представляют собой резервуары глубиной 3–6 м с механической или пневматической подачей воздуха для аэрации. Воздух перемешивает обрабатываемую жидкость с активным илом и насыщает её кислородом, необходимым для жизнедеятельности аэробных организмов биоценоза активного ила аэротенков [42, 43].

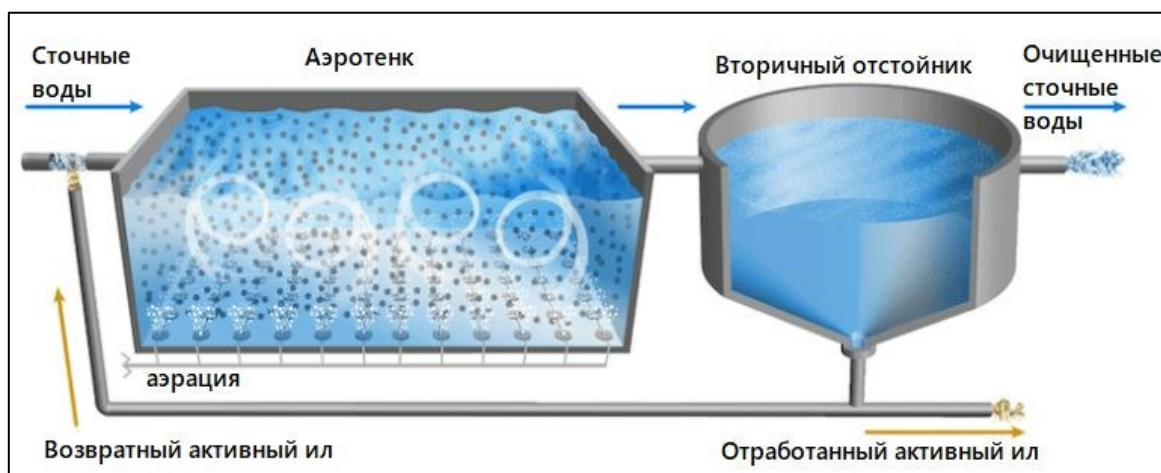


Рис. 41. Схема устройства аэротенка



Рис. 42. Аэротенк. Источник:

http://www.kraskom.com/dat/user/novosti/2013/08/21/IMG_2638.JPG

В зависимости от степени загрязненности и объема сточной воды, состава загрязнений и условий очистки применяют различные гидродинамические режимы организации потока воды, её циркуляции, подачи возвратного активного ила и аэрирования. Рабочие концентрации активного ила в аэротенках составляют 1–5 г/л по сухому веществу при времени пребывания сточной воды в системе от нескольких часов до нескольких суток. Для очистки в аэротенке часто необходимо дополнительно подавать биогенные элементы, прежде всего азот и фосфор. Аэротенки применяются для очистки сточных вод от широкого диапазона загрязнителей. При аэробной очистке сточных вод протекают два наиболее важных микробиологических процесса: окисление органического углерода и нитрификация [42–44].

Активный ил – искусственно выращиваемый биоценоз, который производит биологическую очистку сточных вод. Активный ил представляет собой хлопья коричнево-бурого цвета, состоящие из большого числа микроорганизмов (рис. 43).

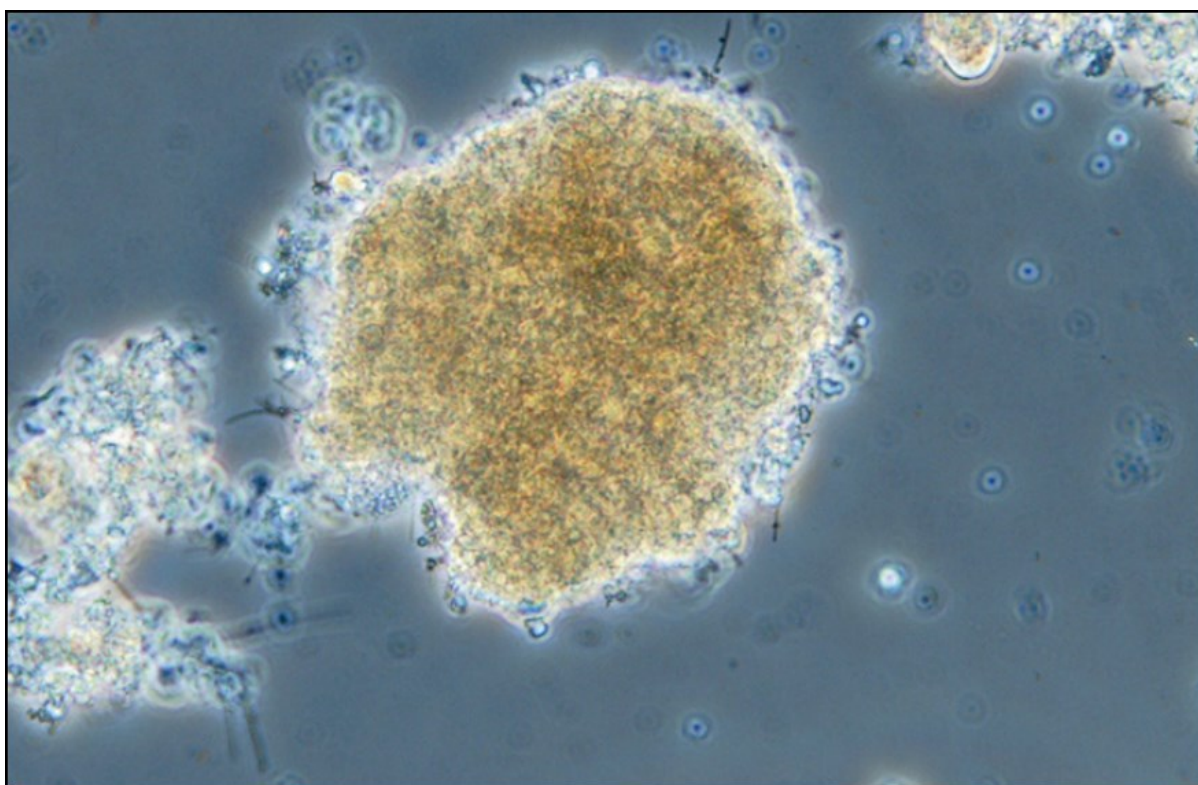


Рис. 43. Хлопья активного ила [36]

В очистных сооружениях используется активный ил, содержащий сообщество микроорганизмов, сформировавшееся естествен-

ным путем, включающее микрофлору, адаптированную к определенному спектру загрязнений сточных вод. Биоценоз ила имеет характерную биотическую и трофическую структуру с функциональной связью между микроорганизмами различных групп, уникальную для каждого конкретного очистного сооружения. Для оптимального управления процессом биологической очистки необходимо полное понимание экологической, физиологической и биохимической активности микрофлоры. Источником питания и энергии для жизнедеятельности организмов активного ила служат органические загрязняющие вещества, поступающие со сточной водой. Активный ил богат органическими веществами и обеспечивает идеальные условия для роста многих групп микроорганизмов. Биоценоз включает, преимущественно, прокариот, а также простейших, грибов, многоклеточных беспозвоночных (коловраток, тихоходок, брюхоресничных червей, круглых червей, кольчатых червей, членистоногих). Определение видового состава и видового разнообразия активного ила имеет важное диагностическое значение для оценки состояния биоценоза и качества очистки сточных вод. Индекс видового разнообразия тем выше, чем больше количество видов в биоценозе, и чем равномернее распределена численность между разными видами. Богатство биоценоза коррелирует с индексом видового разнообразия и обеспечивает высокое качество очистки сточных вод [44].

Бактерии в микробиоценозе активного ила

В окислении загрязнений сточных вод основная роль принадлежит бактериям, число которых в расчете на 1 г сухого вещества ила колеблется от 10^8 до 10^{14} клеток, из них обычно 50–80% составляют гетеротрофные микроорганизмы. В сравнении с другими микроорганизмами, бактерии успешнее адаптируются к использованию новых источников питания и приспосабливаются к неблагоприятным условиям. Преобладающие микроорганизмы биоценоза активного ила аэротенков – гетеротрофные флокулообразующие бактерии. Бактерии являются первым пищевым звеном на очистных сооружениях [44].

Для работы активного ила наиболее важно присутствие трех основных групп бактерий:

- 1) углеродооксилирующих флокуллообразующих, участвующих в образовании хлопьев, для их быстрого осаждения в отстойнике с образованием плотного ила [42–44].

2) углеродооксиляющих нитчатых, обеспечивающих формирование «скелета» вокруг которого образуются флоккулы, нитчатые формы также являются активными окислителями органических веществ [42–44].

3) нитрификаторов, превращающих аммонийный азот в нитриты и нитраты [42–44].

Основная роль в формировании способности к хлопьеобразованию и образованию полисахаридов в составе хлопьев активного ила принадлежит грамотрицательной неспорообразующей палочковидной бактерии *Zoogloea ramigera* (рис. 44). Штаммы данной бактерии способны расти в широком диапазоне температур (9–37°C). *Zoogloea ramigera* способны синтезировать капсульный полисахарид, который обуславливает сорбцию различных соединений и клеток, не способных к хлопьеобразованию. Они формируют такое количество внеклеточного полимера, что культуральная жидкость превращается в гель. Структура этого полисахарида содержит два аминсахара: N-ацетилглюкозамин и N-ацетилфукозамин в соотношении 1:2. Капсульное вещество играет важную роль в очистке, поскольку обуславливает сорбцию органических и неорганических соединений, а также клеток, которые сами не способны к хлопьеобразованию, но участвуют в разложении загрязнений. Клетки *Zoogloea ramigera* могут накапливать в большом количестве гранулы волютина, состоящие из длинноцепочечных полифосфатов. Эта способность бактерий играет важную роль в очистке воды, загрязненной фосфорсодержащими веществами [42–44].

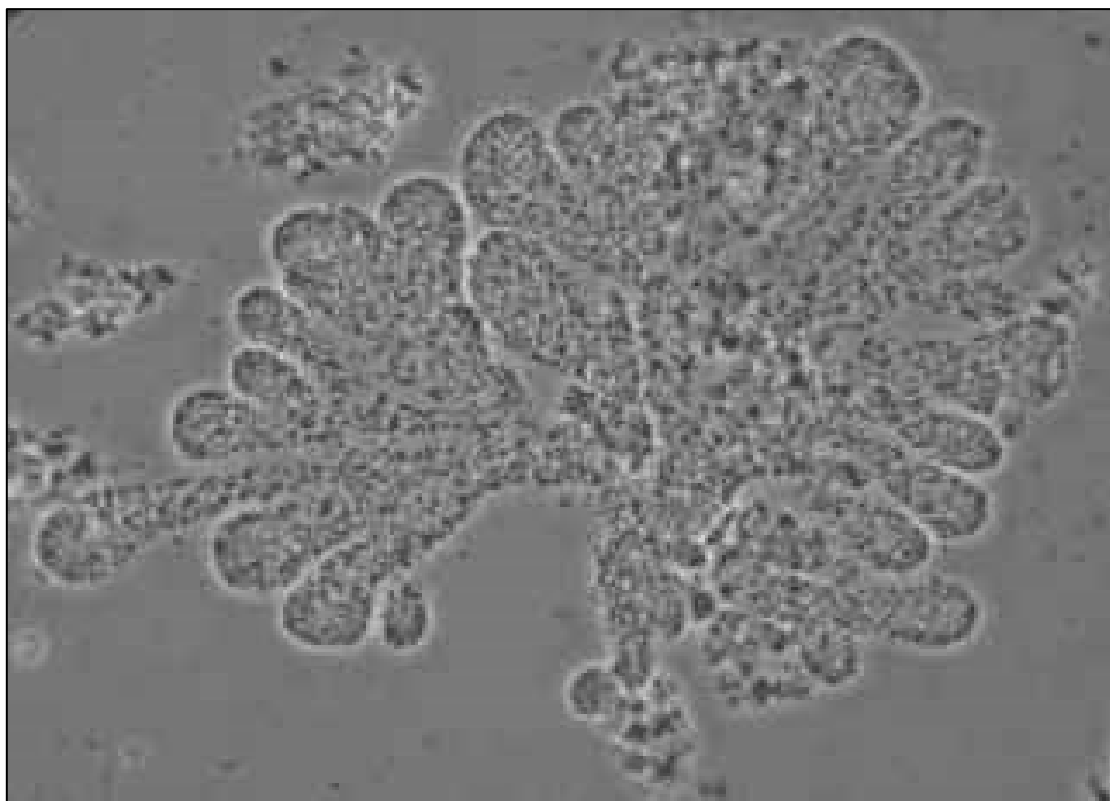


Рис. 44. Бактерии *Zoogloea ramigera* Источник:

<https://www.microscopeworld.com/p-4415-wastewater-treatment-organism-identification.aspx>

Размер хлопьев активного ила влияет на эффективность теплообмена, а также распределение бактерий, их численность и активность, соответственно, и на процесс биотрансформации. Размер флокул также влияет на структуру популяции грибов, содержащихся в их составе [42–44].

Основными микроорганизмами, выделенными из активного ила, являются бактерии семейства *Pseudomonadaceae*, среди которых доминирует род *Pseudomonas* (рис. 45). Представители этого рода составляют до 80% от общей численности бактерий. Они способны окислять различные спирты, жирные кислоты, парафины, ароматические углеводороды, углеводы и другие классы соединений [42–44].

К числу часто встречающихся палочковидных бактерий активного ила относятся также представители родов *Actinomyces*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Cellulomonas*, *Corynebacterium*, *Desulfotomaculum*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Rhodopseudomonas*, *Sarcina* и другие [42–44].



Рис. 45. Биопленка *Pseudomonas fluorescens* [45]

Нитчатые бактерии активного ила — хламидобактерии — это группа бактерий, представляющих собой скопления цилиндрических клеток в виде длинных нитей (трихомов), окруженных трубчатым чехлом, состоящим из полисахарида. Представлены преимущественно родом *Sphaerotilus*, нити которых имеют ложное ветвление. Наиболее часто встречается *Sphaerotilus natans* (рис. 46). Положительная роль микроорганизмов этой группы заключается в окислении органических соединений и образовании каркаса, вокруг которого формируются флокулы. Негативная роль нитчатых бактерий состоит в том, что они являются причиной плохого осаждения ила в отстойнике и образования устойчивой пены в аэротенке [42–44].



Рис. 46. Ложное ветвление *Sphaerotilus natans* Источник:
<https://teamaquafix.com/sphaerotilus-natans-s-natans-treatment/>

В нормальных условиях функционирования активного ила в аэротенках основная масса бактерий находится в флокулированном состоянии. При нарушении технологических режимов очистки бактерии начинают интенсивно размножаться в активном иле. Ил вспухает, плохо оседает в отстойниках, не отделяется от очищенной им воды, что ухудшает очистку. Хлопья теряют компактность, в активном иле увеличивается численность не связанных с хлопьями форм (рис. 47). Одной из причин вспухания активного ила является действие токси-кантов. В их присутствии нарушается система образования биополи-мерного геля клетками флокулообразующих бактерий, происходит диспергирование хлопьев. Хламидобактерии представлены тонкими нитями, они лучше снабжаются растворенным кислородом, поэтому выживают в условиях его дефицита. Вспухающий ил имеет высокую

окислительную способность, однако развитие нитчатых бактерий в нем нежелательно. Оптимальным для качества очистки сточной воды является биоценоз ила, в котором преобладают флокулирующие микроорганизмы, а нитчатые содержатся в небольшом количестве [42–44].

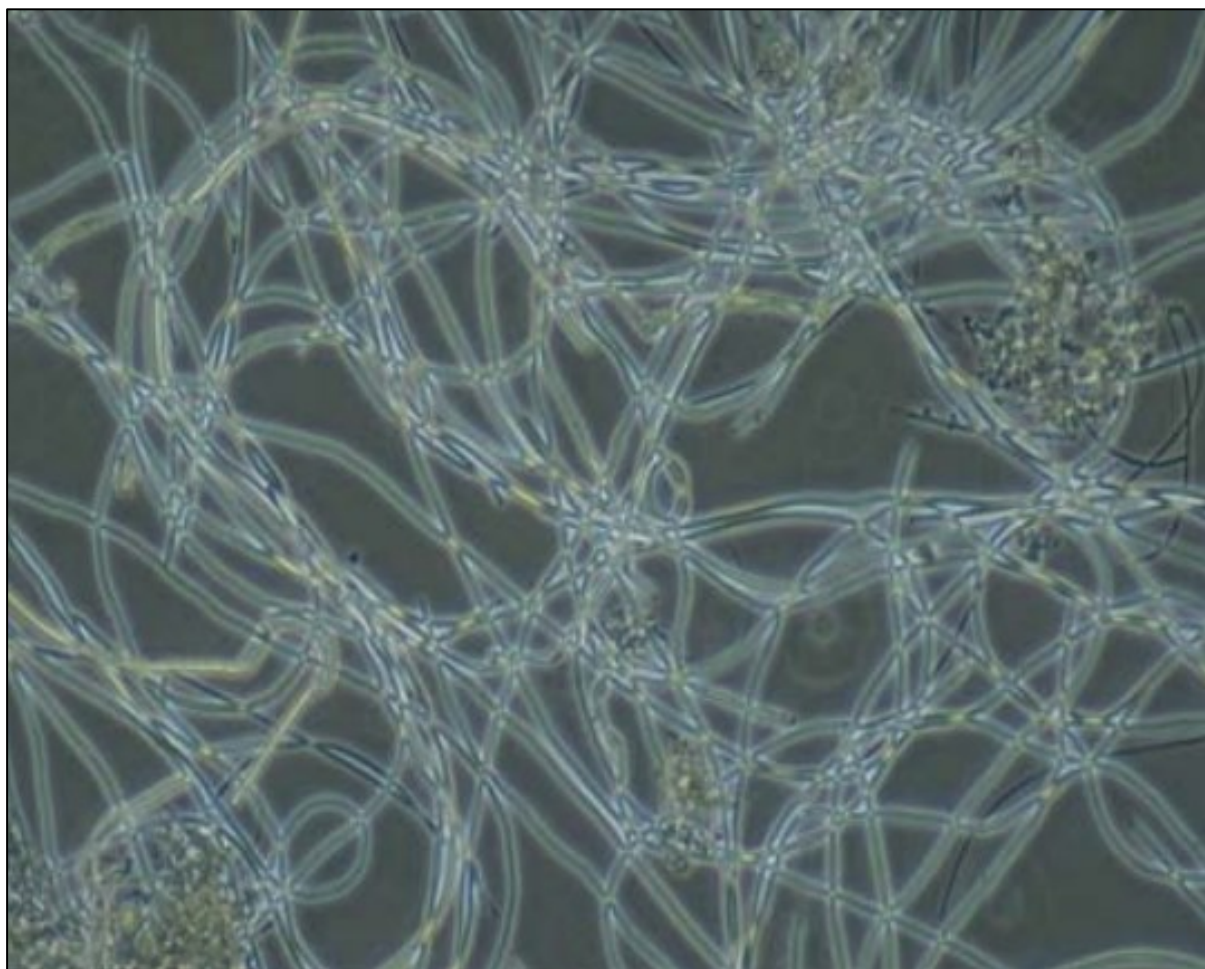
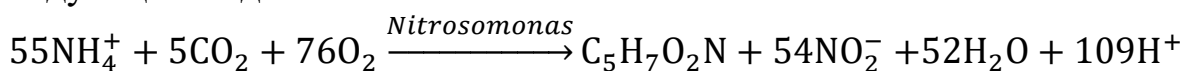


Рис. 47. Вспухающий активный ил с чрезмерным нитевидным ростом [36]

Бактерии-нитрификаторы в микробиоценозе активного ила азротенков, преимущественно, представлены родами *Nitrosomonas* и *Nitrobacter*, а также *Bacterium* и *Pseudobacterium*. Данная группа микроорганизмов развивается медленнее, чем гетеротрофные углеродо-кисляющие бактерии. Численность бактерий-нитрификаторов увеличивается с возрастом активного ила. Их роль в очистке сточных вод связана с окислением ионов аммония и удалении минерального азота. Данный процесс носит название нитрификации и наиболее активно протекает после окисления органических соединений, когда создают-

ся благоприятные условия для жизнедеятельности бактерий-нитрификаторов. На стадии окисления органических соединений образуются ионы аммония, которые затем включаются в процесс нитрификации. Нитрификация осуществляется в две фазы [42–44]:

1. Первая фаза заключается в биохимическом окислении аммонийных солей до азотистых соединений (нитритов). Данный процесс осуществляется бактериями рода *Nitrosomonas* (рис. 49). К факторам, влияющим на протекание реакции относятся: содержание растворенного кислорода, pH, концентрации ионов аммония и нитрит-ионов. Удаление азотистых соединений при обычном способе очистки сточных вод ограничено медленным ростом нитрифицирующих бактерий во взвешенных системах. Поэтому для очистки сточных вод, богатых азотом, применяются различные биопленочные системы, являющиеся более стабильными и защищающие медленно растущие нитрифицирующие бактерии от вымывания в конкурентной борьбе с гетеротрофными бактериями. Суммарное уравнение реакции имеет следующий вид:



2. Вторая фаза заключается в биохимическом окислении нитрит-ионов до нитрат-ионов. Данный процесс осуществляется бактериями рода *Nitrobacter* (рис. 48). Суммарное уравнение реакции имеет следующий вид:

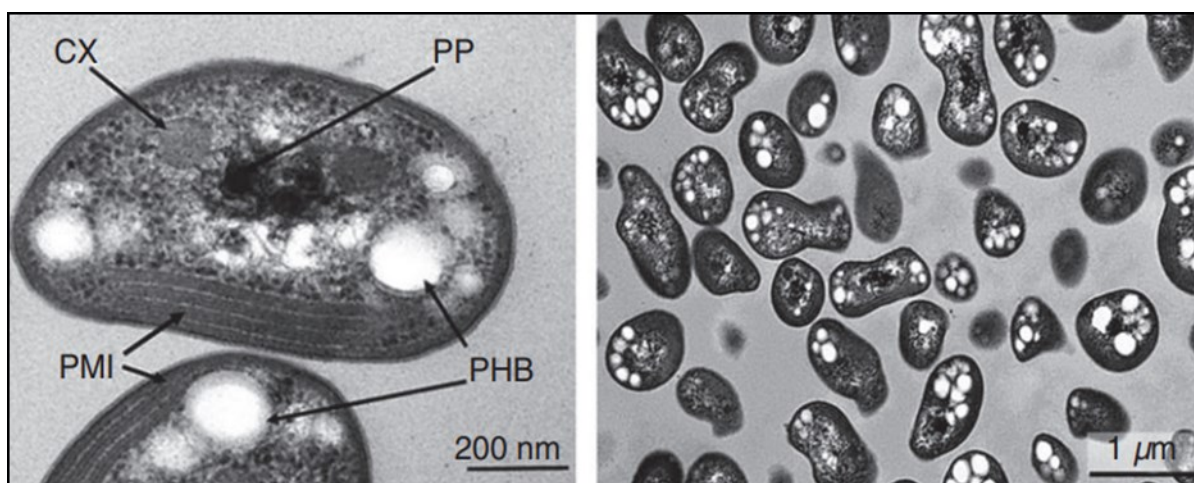
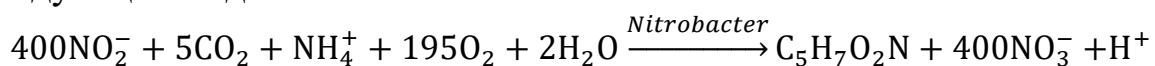


Рис. 48. Бактерии *Nitrobacter winogradskyi*. Стрелками отмечены включения: PHB – поли-β-гидроксибутират, PP – полифосфаты, CX – карбоксисомы, PMB – интрузии плазматической мембраны [46]

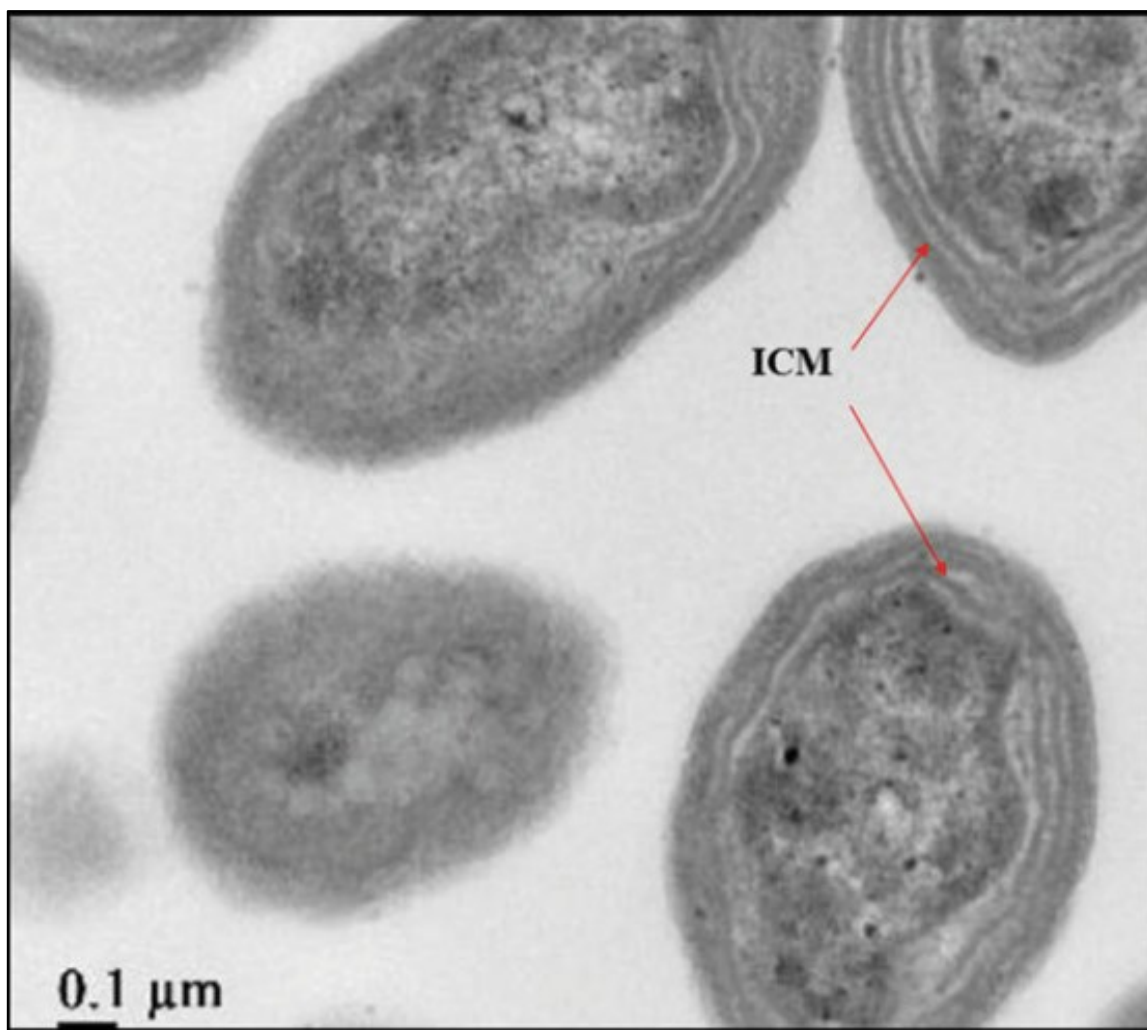
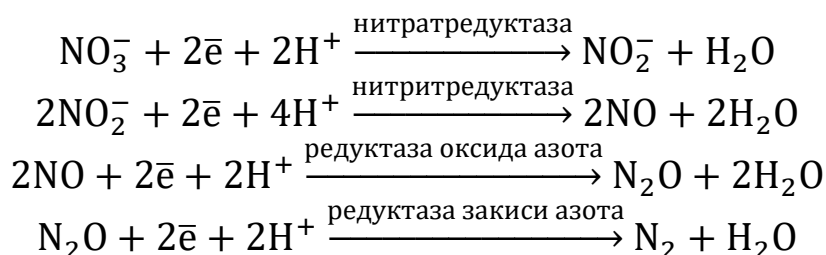


Рис. 49. Просвечивающая электронная микрофотография бактерий *Nitrosomonas europaea*. Стрелками показана внутрицитоплазматическая мембрана [47]

Таким образом, конечным продуктом процесса нитрификации являются нитрат-ионы. Поэтому появление нитратов в среде свидетельствует о глубокой биологической очистке. Скорость нитрификации может быть увеличена при раздельном проведении стадий окисления углерода и нитрификации. Процесс нитрификации связан с выделением большого количества тепла, поэтому играет важную роль при эксплуатации сооружений биохимической очистки в зимний период [42–44, 48].

Денитрификация представляет собой процесс восстановления микроорганизмами солей азотной кислоты и осуществляется гетеротрофными факультативными бактериями родов *Aquaspirillum*, *Azoarcus*, *Thauera*, *Rhodocyclus* (рис. 50). Их роль в очистке сточных вод связана с удалением нитратного азота из сточных вод. Процесс

денитрификации заключается в последовательном восстановлении солей азотистой кислоты до молекулярного азота. При этом нитрит-ионы, оксид азота (I) и оксид азота (II) являются промежуточными продуктами в анаэробной среде. Уравнения реакций имеет следующий вид:



Денитрификация требует наличия доноров электронов, которые обеспечиваются окислением исходного углерода. Процесс зависит от трех основных факторов – растворенного органического углерода, pH и температуры. Оптимальные значения pH находятся в диапазоне 7–9, температура – от 20°C до 30°C. В щелочной среде при свободном доступе кислорода восстановительный процесс идет до стадии образования солей азотистой кислоты. В кислой среде при недостатке кислорода восстановление идет до аммиака. Полная денитрификация с уменьшением образования нитритов и выброса газообразного оксида азота (I) является сложной задачей. Для эффективного удаления азота на установках очистки сточных вод используется комбинация процессов нитрификации, денитрификации и анаммоксификации. Одновременная нитрификация и денитрификация является эффективным методом очистки сточных вод с низким соотношением C/N. Оба процесса протекают в одном отсеке, способствуя росту нитрифицирующих и денитрифицирующих бактерий. Такой подход позволяет поддерживать нейтральный уровень pH, исключает повторную переработку осадка, устраняет необходимость в добавлении углерода для проведения процесса денитрификации. Системы одновременной нитрификации и денитрификации успешно используются для очистки сточных вод, богатых аммиаком, и являются экономичным вариантом удаления аммонийного азота из сточных вод. Частичная нитрификация используется в сочетании с процессом анаммоксификации (анаэробного аммонийного окисления) для повышения эффективности удаления азота. Такая система особенно эффективна для удаления азота в местах, где денитрификация невозможна из-за наличия органических

веществ, плохо поддающихся биологическому разложению [42–44, 48].

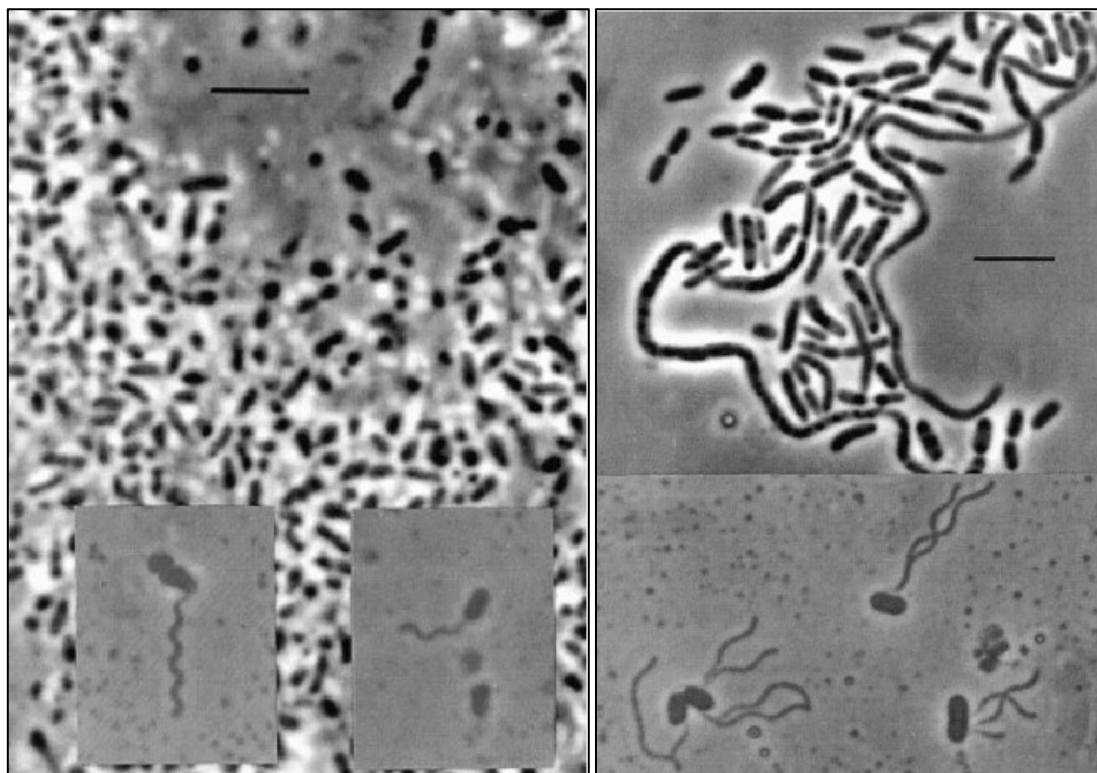


Рис. 50. Слева – бактерии *Azoarcus sp.*, на вставках – клетки с одиночными полярными жгутиками (окрашенные по методу Лейфсона). Справа – бактерии *Thauera sp.*, внизу – клетки с «дегенеративно перитрихозными» жгутиками (окрашены по методу Лейфсона) [50]

В активном иле при очистке сточных вод, содержащих соединения серы, например, целлюлозно-бумажных комбинатов, развиваются тионовые бактерии, серобактерии и сульфатредукторы. Серобактерии родов *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Leucothrix* и другие обладают способностью формировать длинные нити (рис. 51–53). Массовое развитие бактерий *Thiothrix* и *Beggiatoa* в активном иле происходит при недостатке кислорода, а также при очистке сточных вод, содержащих большое количество серосодержащих органических веществ. При высоком содержании в сточных водах восстановленных соединений серы серобактерии могут накапливать в клетках гранулы серы (рис. 53). Массовое развитие серобактерий и отложение серы в их клетках свидетельствуют о плохой очистке [42–44].

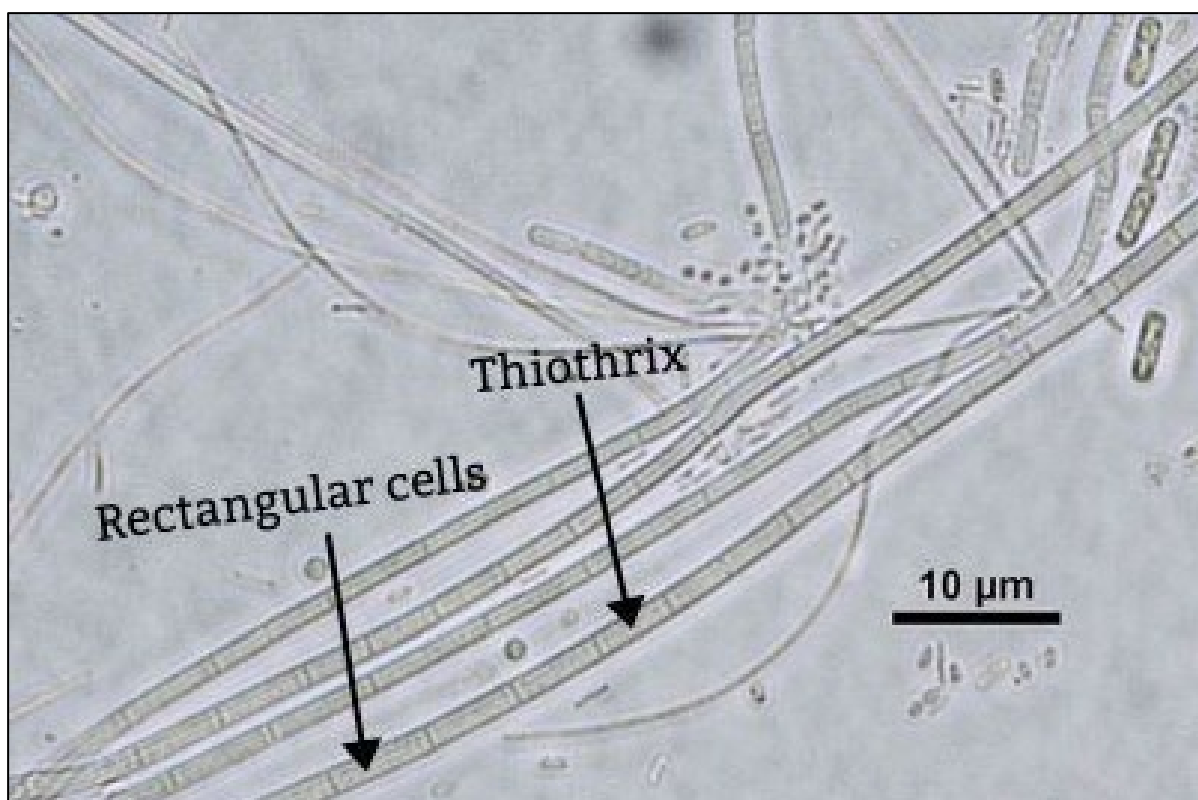


Рис. 51. Бактерии *Thiothrix*. Источник: <https://teamaquafix.com/thiothrix/>



Рис. 52. Гранулы серы в клетках бактерии *Thiothrix*. Источник: <https://teamaquafix.com/thiothrix/>

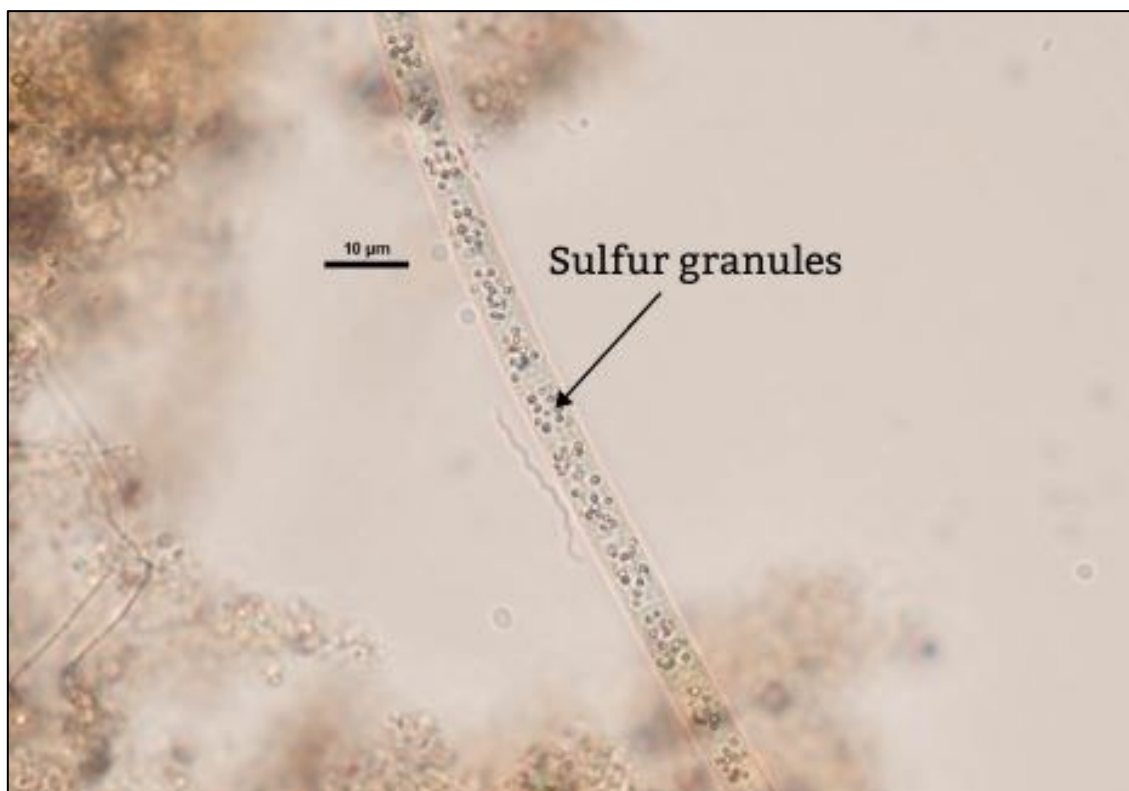


Рис. 53. Гранулы серы в клетках бактерии *Beggiatoa*. Источник: <https://teamaquafix.com/beggiatoa/>

Тионовые бактерии развиваются при содержании в воде восстановленных соединений серы. Они осуществляют биохимическое окисление молекулярной серы, сероводорода и других сернистых соединений с образованием сульфатов. Также могут использовать в качестве источников углерода органические соединения. Данные микроорганизмы способны развиваться при больших диапазонах pH среды. Негативная роль тионовых бактерий заключается в том, что при их высокой численности в активном иле происходит накопление сульфатов, а также вспухание активного ила, что ухудшает качество очистки. Среди этой группы бактерий в активном иле преобладают представители рода *Thiobacillus* (рис. 54). Бактерии рода *Sulfomonas* способны окислять различные соединения серы (молекулярную серу, сероводород, сульфиты), а также использовать в качестве источников углерода органические соединения, являются хемолитотрофами и хемоорганотрофами [42–44, 51].

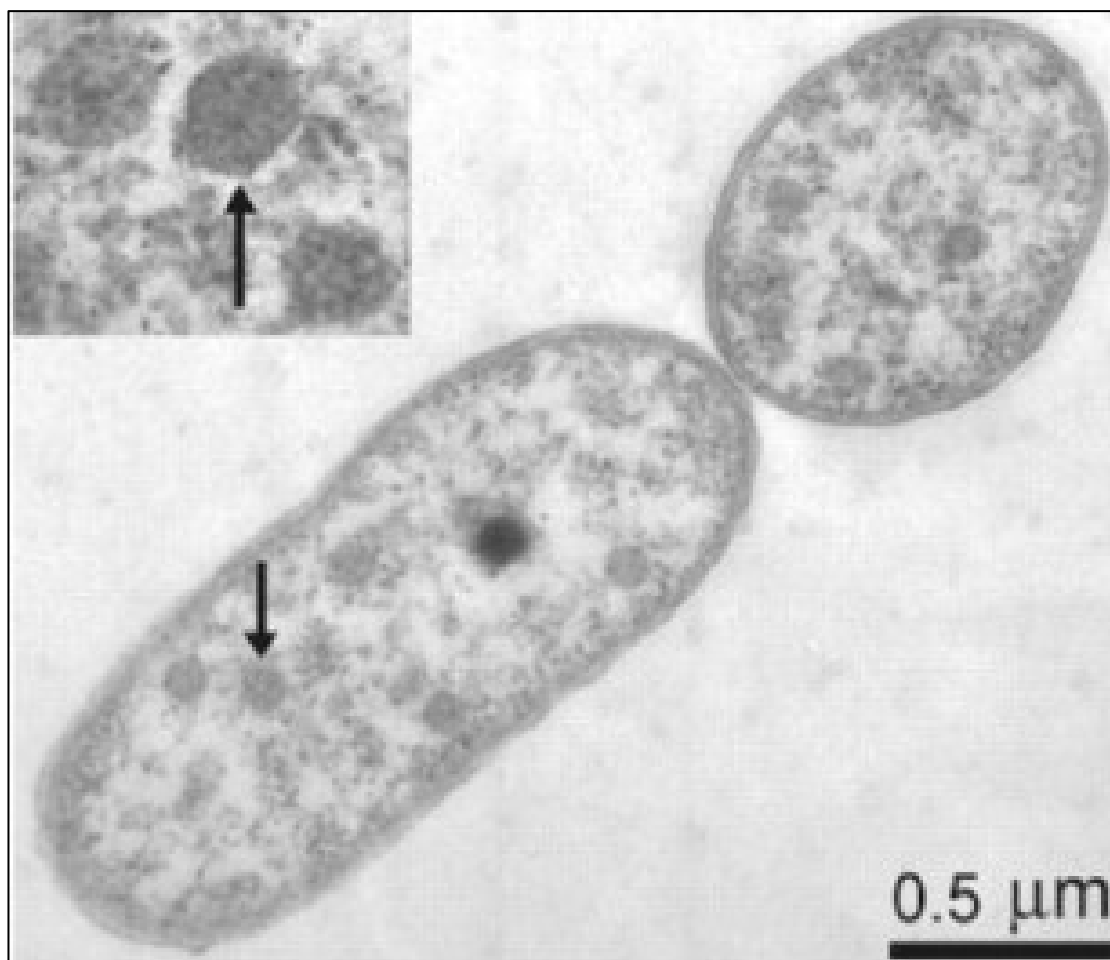


Рис. 54. Просвечивающая электронная микрофотография штамма *Thiobacillus strain* FTL 9, на которой показаны клетки в продольном и поперечном разрезах. Стрелки указывают на полиэдрические карбоксисомы в клетках бактерии [52]

В зонах аэротенков и в крупных хлопьях, где наблюдается дефицит кислорода, создаются условия для развития сульфатредукторов, восстанавливающих сульфаты с образованием сероводорода. В качестве донора электронов эти микроорганизмы способны использовать широкий набор субстратов, в качестве конечного акцептора электронов – сульфат. Данный процесс носит название сульфатного анаэробного дыхания (диссимиляционной сульфатредукции). Сульфатредукторы в активном иле представлены родами *Desulfovibrio* и *Desulfotomaculum* (рис. 55–56). Протеобактерии *Desulfovibrio* являются одним из самых изученных видов этой группы микроорганизмов. В клетках *Desulfovibrio desulfuricans* обнаружены гидрогеназы, АТФ-сульфорилазы, АТФ-редуктазы, участвующие в реакциях восстановления сульфатов. Также данные бактерии способны усваивать газообразный азот. Развитие сульфатредуцирующих бактерий происходит

при низком окислительно-восстановительном потенциале. Образование сероводорода зависит от температуры воды, концентрации органических загрязнений, продолжительности пребывания воды в сточной системе. В типовых системах аэробной очистки активным илом ассимилируется небольшая часть сульфатов, т.к. их концентрации превышают потребности микроорганизмов в сере [42–44, 48].

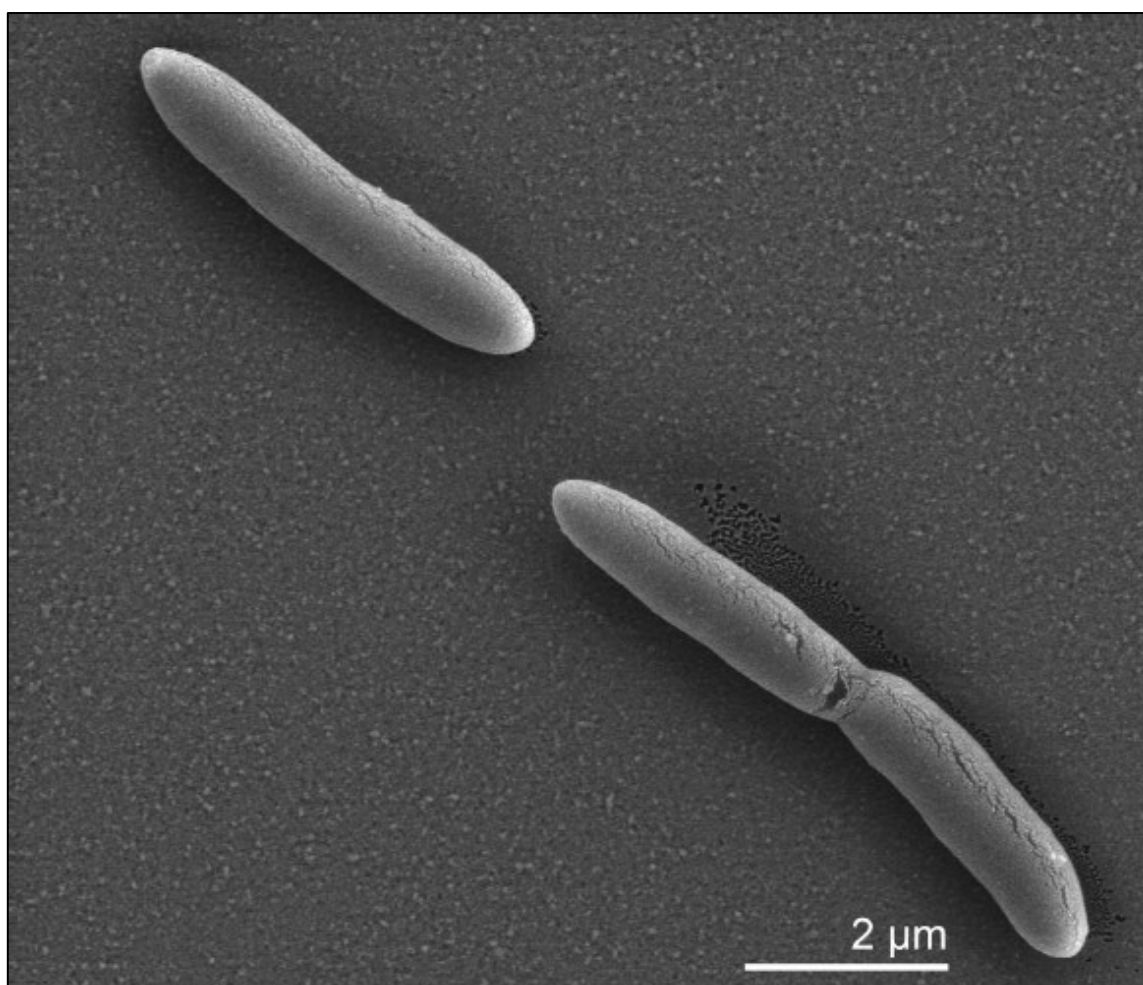


Рис. 55. Сканирующая электронная микрофотография вегетативных клеток *Desulfotomaculum acetoxidans* [53]

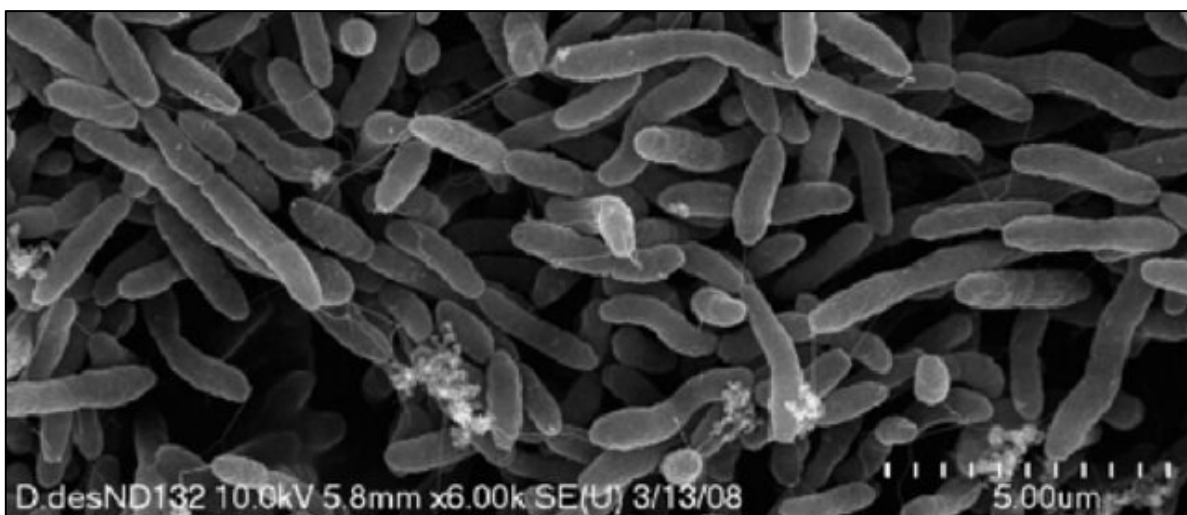


Рис. 56. Бактерии *Desulfovibrio desulfuricans* [54]

При очистке сточных вод, богатых углеводами при дефиците азота может наблюдаться интенсивное развитие гетероферментативных молочнокислых бактерий рода *Leuconostoc* (рис. 57). Негативная роль данных бактерий заключается в образовании мощной капсулы состоящей из декстрана, что затрудняет осаждение ила во вторичном отстойнике [42–44].

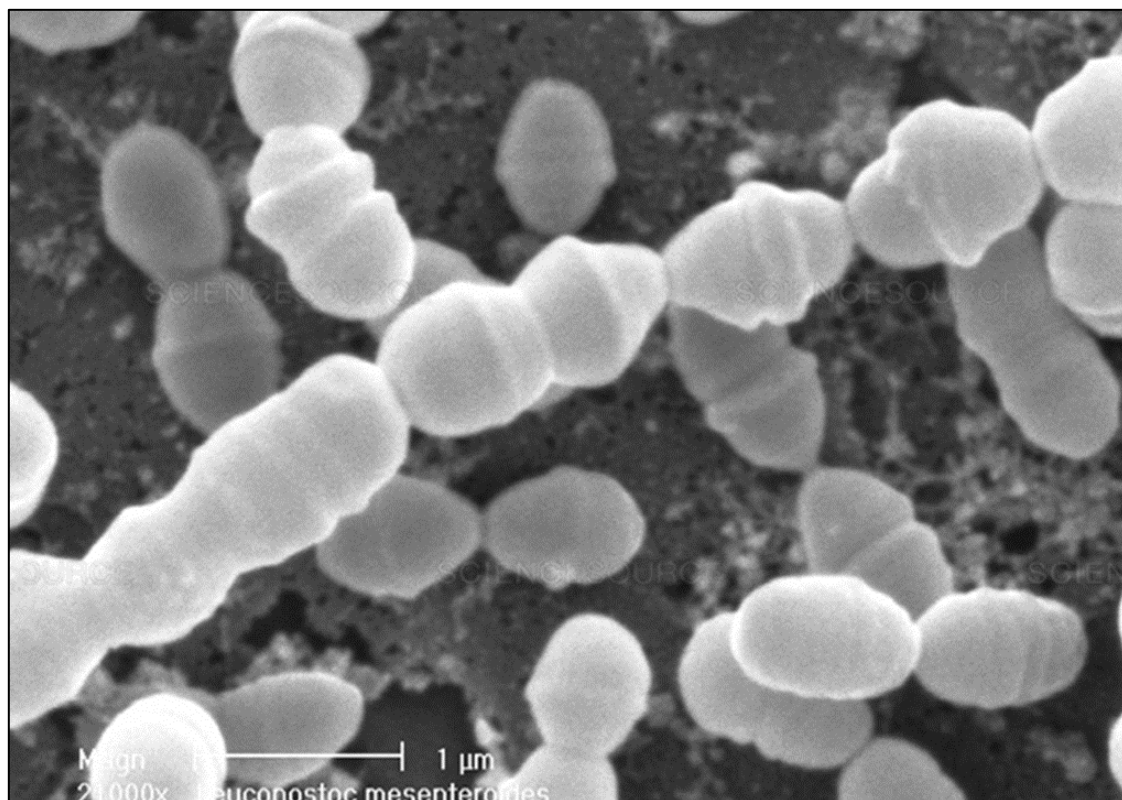


Рис. 57. Бактерии *Leuconostoc mesenteroides*

В активном иле также присутствуют азотфиксирующие бактерии, такие как: *Klebsiella oxytoca* (рис. 58), *Bacillus amyloliquefaciens* (рис. 59), *Microbacterium lacticum* (рис. 60), представители рода *Azotobacter*. Данные микроорганизмы развиваются в активном иле при очистке сточных вод, характеризующихся малыми концентрациями соединений азота, например, в стоках целлюлозно-бумажных предприятий [42–44].

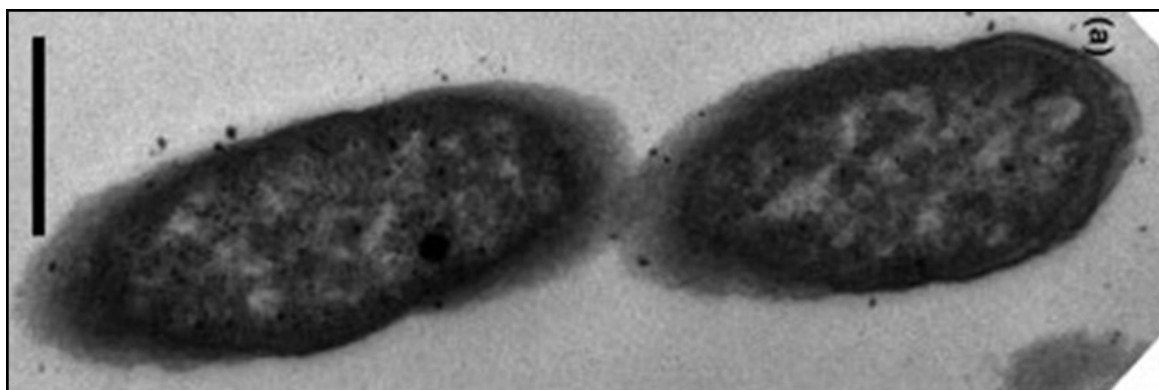


Рис. 58. Сканирующая электронная микрофотография *Klebsiella oxytoca* [55]

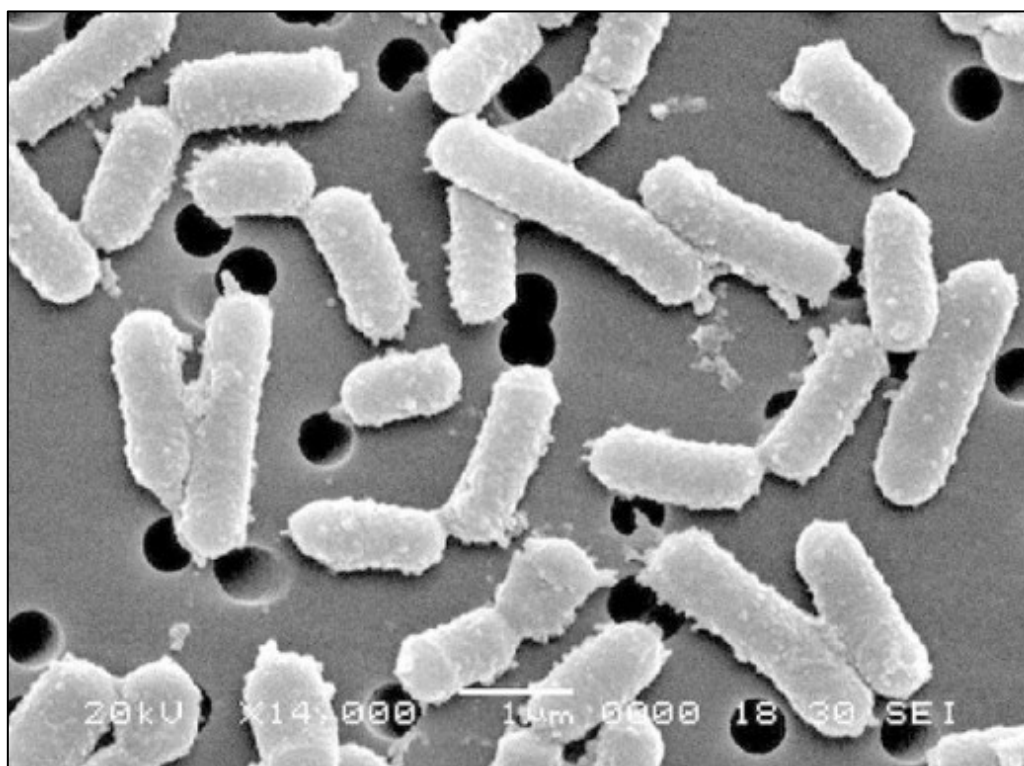


Рис. 59. Сканирующая электронная микрофотография бактерии *Bacillus amyloliquefaciens* [56]

лагаемых растворимых органических веществ (ацетата, глюкозы, спиртов, органических кислот), используемых в качестве источника энергии для роста фосфатаккумулялирующих бактерий. Одновременно микроорганизмами потребляются углеродсодержащие резервные вещества клеток и синтезируется гликоген. Выделяющаяся при этом энергия используется для синтеза АТФ, а также полифосфатов, запаасающихся в клетках в виде гранул, что и обеспечивает высокое потребление фосфора из сточных вод. Полифосфаты способны сохраняться в течение долгого времени и гидролизуются при лизисе клеток. В традиционном режиме эксплуатации очистных сооружений не удастся достичь максимального удаления фосфатов без ухудшения очистки по остальным показателям. Для повышения эффективности, процесс модифицируют, применяя определенные режимы попеременного пребывания активного ила в аэробных и анаэробных условиях. Таким образом создаются условия для развития фосфатаккумулялирующих бактерий, относящихся к факультативным анаэробам, и повышается накопление избыточного количества фосфора в цитоплазме бактериальных клеток. В анаэробных условиях нефосфорные гетеротрофные бактерии сбраживают органические вещества с образованием летучих жирных кислот, главным образом ацетата, который служит субстратом для фосфатаккумулялирующих бактерий. В свою очередь, фосфатаккумулялирующие бактерии синтезируют из ацетата полимерные насыщенные оксикислоты, используя энергию, выделяющуюся при гидролизе клеточных полифосфатов. Образующиеся при этом ортофосфаты выделяются во внеклеточную среду. В аэробных условиях ортофосфаты могут снова извлекаться из среды для синтеза полифосфатов фосфатаккумулялирующими бактериями. На эффективность удаления фосфора из сточных вод влияют соотношение углерода и фосфора, БПК и ХПК, концентрации летучих жирных кислот, содержание кислорода, температура, величина окислительно-восстановительного потенциала. Очистка сточной воды с глубоким биологическим удалением фосфора с помощью фосфатаккумулялирующих организмов носит название EBPR–процесса (enhanced biological phosphorus removal process) [42–44].

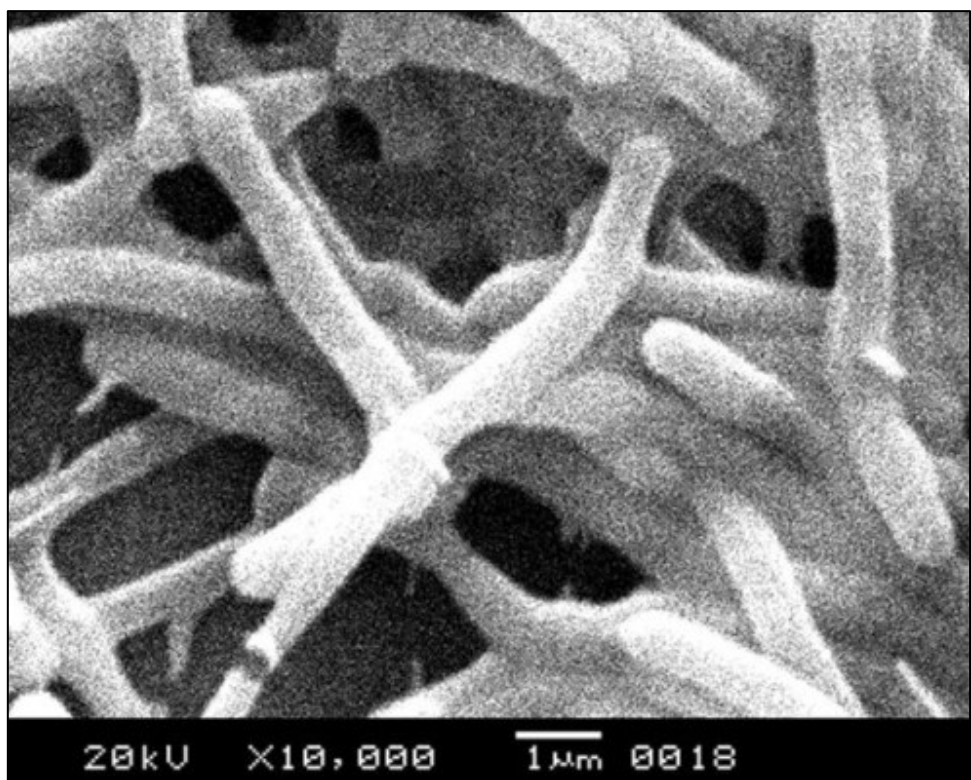


Рис. 61. Сканирующая электронная микрофотография бактерии *Acinetobacter calcoaceticus* [58]

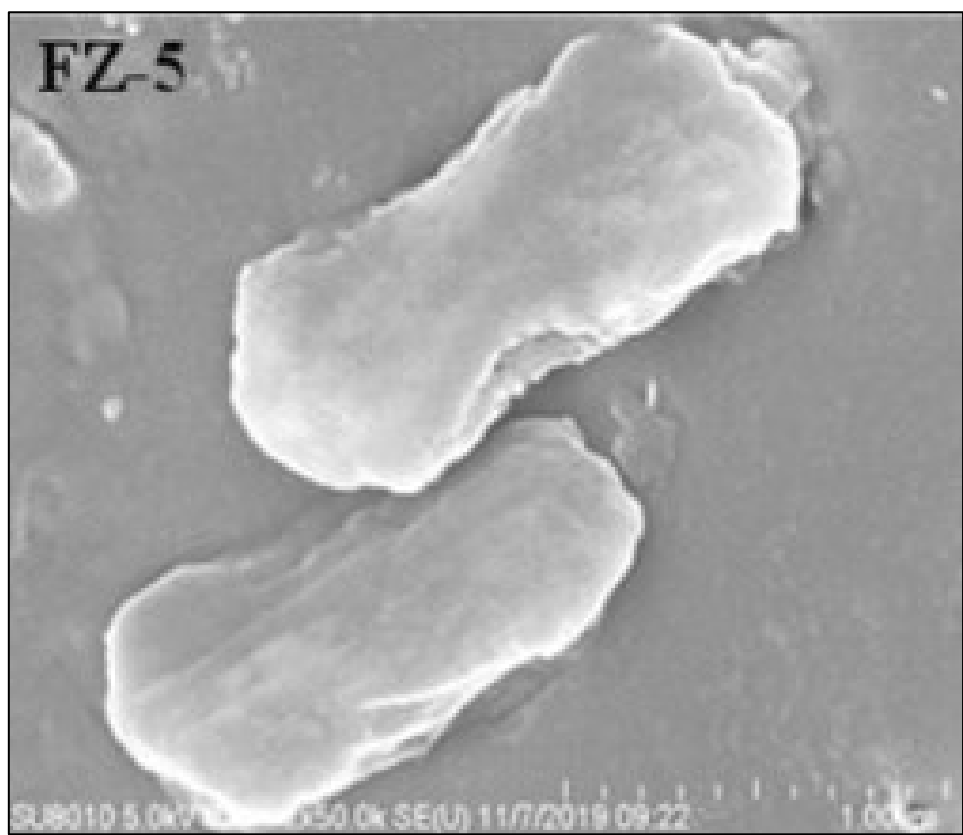


Рис. 62. Сканирующая электронная микрофотография *Acinetobacter johnsonii* [59]

Целлюлоза является основным углеродным субстратом, содержащимся в сточных водах. Поэтому, важное значение для работы активного ила имеет группа целлюлозоразлагающих организмов, представленных, преимущественно, бактериями родов *Cellulomonas* (рис. 63) и *Cellulovibrio*. Наиболее интенсивно разрушение целлюлозы протекает при pH от 7,5 до 8,0 [42–44].

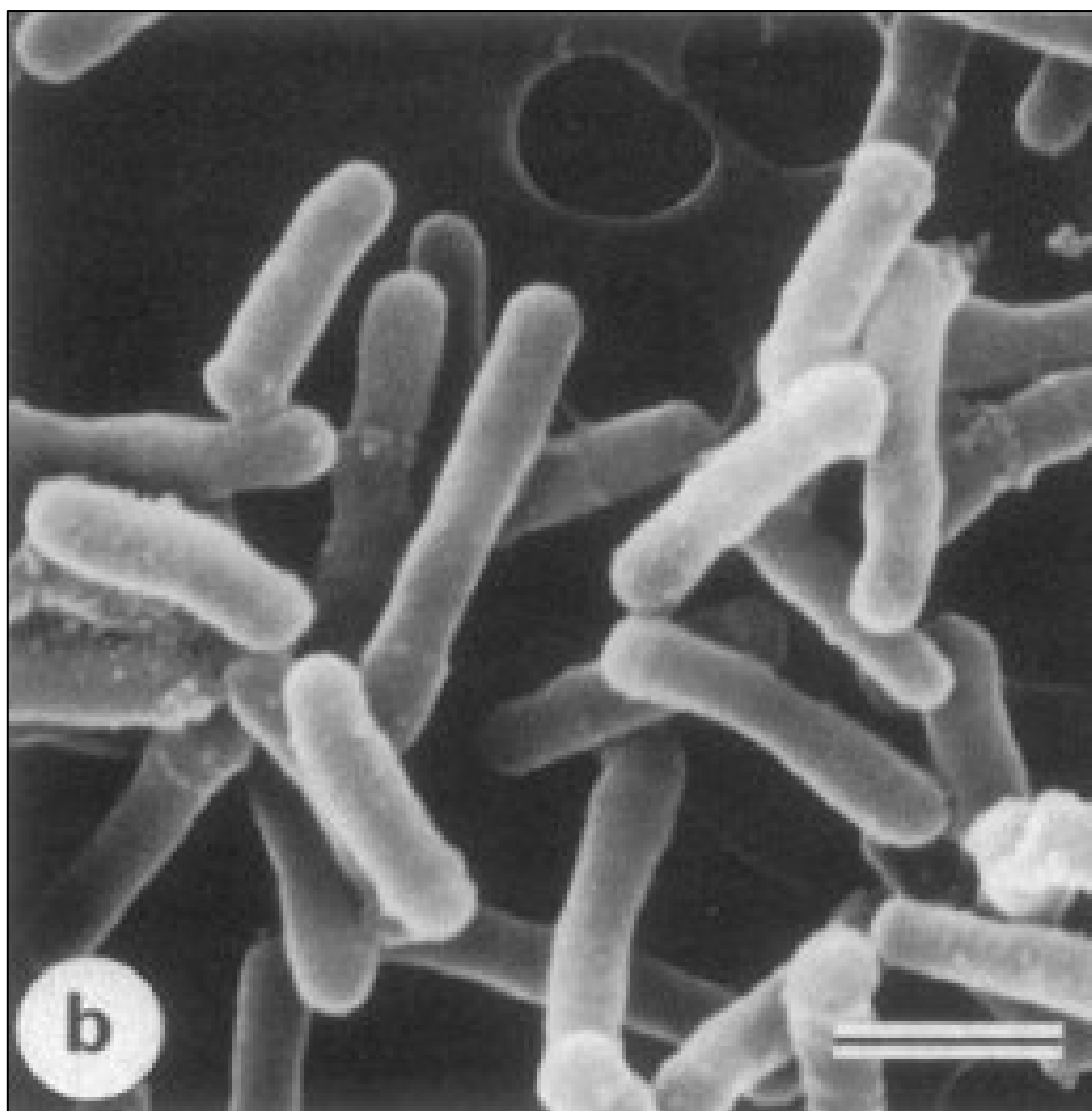


Рис. 63. Сканирующая электронная микрофотография *Cellulomonas* [60]

В микробиоценозе активного ила встречаются фототрофные цианобактерии (рис. 64). Переходя к гетеротрофному питанию, эти микроорганизмы обесцвечиваются из-за утраты пигментов. Во вторичных отстойниках клетки цианобактерий могут приобретать зеленую окраску, а в местах сильного освещения – типичную сине-зеленую.

Наиболее часто в активном иле встречаются цианобактерии родов *Arthrospira*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Synechocystis*. Положительная роль данных микроорганизмов состоит в эффективном удалении азота, фосфора, минеральных удобрений и тяжелых металлов из сточных вод. Цианобактерии обладают высокой устойчивостью к воздействию неблагоприятных факторов и токсикантов, в связи с чем они могут достигать значительной численности в активном иле аэротенков. Повышенное содержание цианобактерий в микробиоценозе активного ила приводит к таким негативным последствиям, как вспухание и «цветение», что вызывает ухудшение качества очистки сточных вод [42–44].



Рис. 64. Виды цианобактерий: А – *Microcystis* sp., В – *Chroococcus* sp., С – *Oscillatoria* sp., D – *Arthrospira* sp., E – *Pseudanabaena* sp. [61]

В микробиоценозе активного ила встречаются литические бактерии, разрушающие клетки микроорганизмов при воздействии выделяемых ими литических ферментов. К данной категории относятся подвижные грамотрицательные бактерии *Bdellovibrio bacteriovorus* (рис. 65). Литические бактерии являются паразитами, прикрепляются к клетке бактерии-хозяина, проникают в нее, размножаются, приводя к лизису. Бактерии *Bdellovibrio bacteriovorus* обладают широким спектром действия, включая представителей родов *Pseudomonas*, *Bacterium*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter*, *Mycobacterium*. Содержание и активность литических бактерий зависит от состояния активного ила и тепературных условий [42–44, 48].

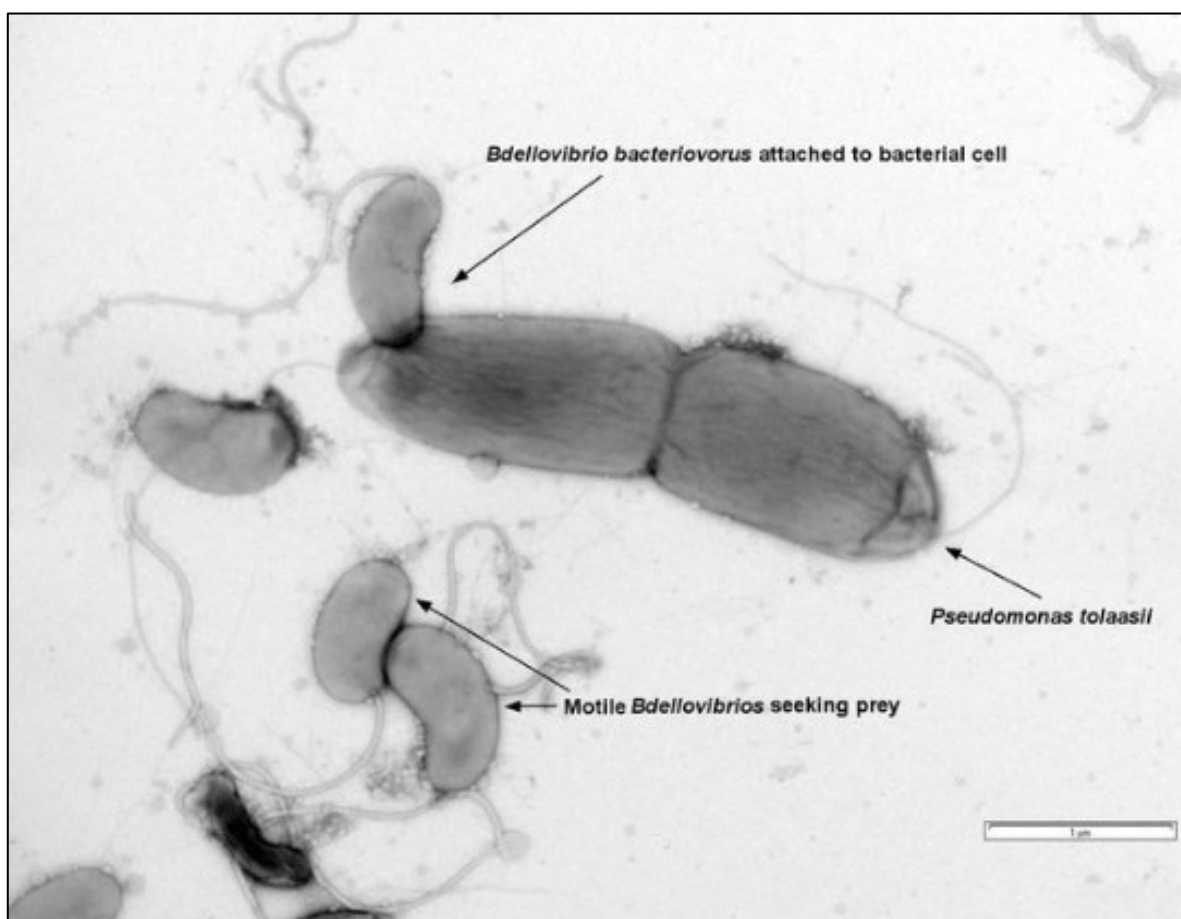


Рис. 65. Просвечивающая электронная микроскопия *Bdellovibrio bacteriovorus*, прикрепляющаяся к клетке-хозяину *Pseudomonas tolaasii* [62]

В неблагоприятных условиях и при длительном голодании микроорганизмов в биоценозе активного ила ряд бактерий может образо-

вызывать споры, что способствует повышению устойчивости активного ила при изменении состава сточных вод (рис. 66) [42–44].

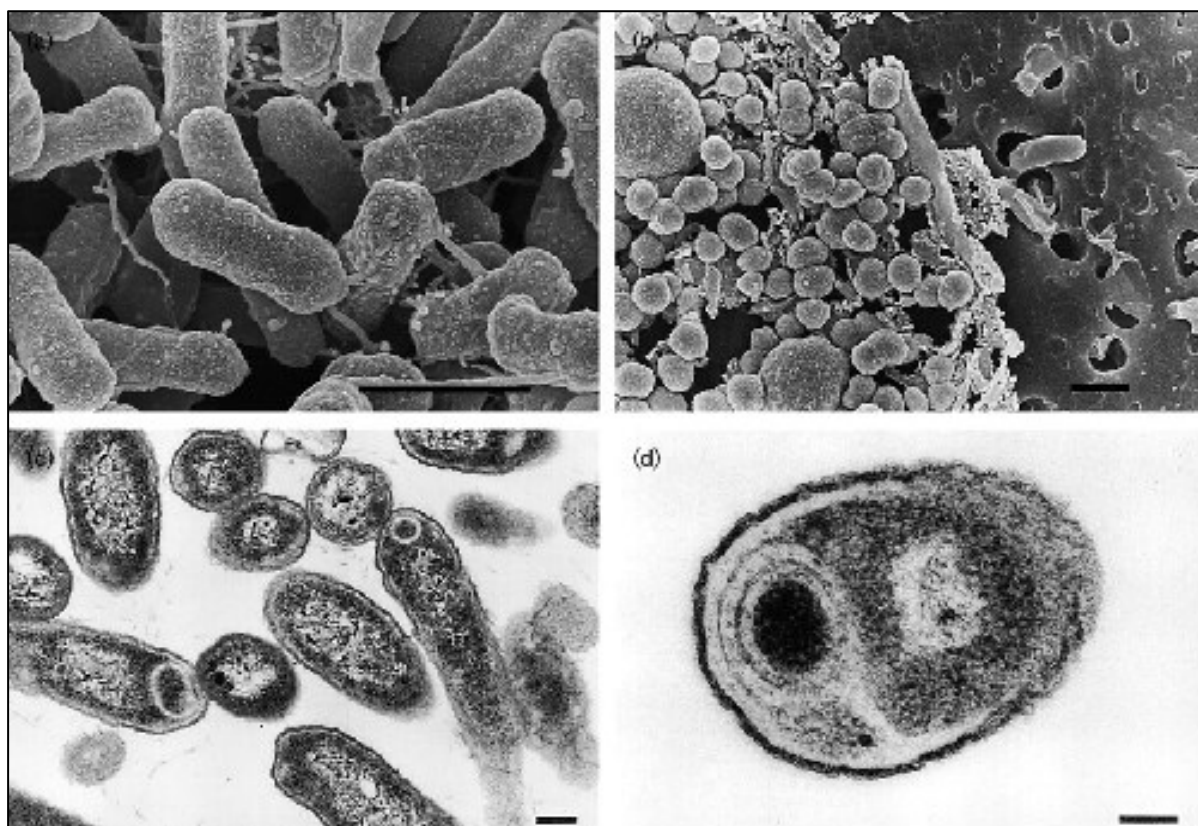


Рис. 66. Спорообразование у бактерий *Serratia marcescens* subsp. *sakuensis* subsp. nov., выделенных из резервуара очистки бытовых сточных вод [63]

Грибы в микробиоценозе активного ила

В активном иле аэробных очистных сооружений встречаются различные представители царства грибы (*Fungi*). Наиболее распространенными являются представители родов: альтернария (*Alternaria*), аспергилл (*Aspergillus*), кандида (*Candida*), кладоспорий (*Cladosporium*), фузариум (*Fusarium*), геотрихум (*Geotrichum*), торулопсис (*Torulopsis*), триходерма (*Trichoderma*), пеницилл (*Penicillium*), мукор (*Mucor*), *Rhodotorula*, *Trichosporon*, и другие (рис. 67) [42–44].

Грибы в биоценозе активного ила выполняют несколько функций:

- 1) Удаление трудноудаляемых органических веществ. В связи с тем, что грибы могут продуцировать широкий спектр внеклеточных ферментов, они способны разлагать различные соединения, со-

держатся в сточных водах. Многие виды грибов поглощают или разлагают тяжелые металлы, инсектициды, фенолы и другие стойкие загрязнители окружающей среды [42–44].

2) Нитевидные грибы укрепляют структуру хлопьев активного ила, способствуют образованию более крупных и прочных флокул [42–44].

Негативная роль грибов проявляется в том, что их чрезмерный рост может привести к набуханию и вспениванию активного ила. Особенно часто во вспухающем иле встречаются представители рода *Fusarium*. Некоторые грибы являются патогенными для растений, животных и человека. Для предотвращения вспухания ила биологическую очистку проводят при диапазоне pH 6,8–7,2, благоприятном для развития флокулообразующих бактерий [42–44].

На структуру популяции грибкового биоценоза влияют факторы окружающей среды, главным образом, температура, вызывая таким образом, сезонные колебания в микобиоценозе. Кроме того, структура популяции зависит от состава сточных вод. Дрожжи активно развиваются в сточных водах, богатых углеводами, углеводородами и органическими кислотами, например, образовавшихся в производстве кормовых препаратов и стоков молочных производств [42–44].

В качестве примера рассмотрим состав микобиоценоза активного ила, определенного в одном из исследований очистных сооружений в Германии. Установлено, что преобладающими грибами являлись *Geotrichum candidum*, обнаруженные во всех отобранных пробах. Также распространенными были представители рода *Fusarium* (72,2%), среди которых доминировал вид *Fusarium dimerum*. Представители рода *Aspergillus* встречались в 50% проб и включали десять видов, среди которых преобладающим являлся *Aspergillus flavus* var. *flavus*. Представители рода *Penicillium* также встречались в 50% проб и включали семью видов, среди которых преобладающим являлся *Penicillium citrinum*. Представители рода *Trichoderma* были выделены в 41,6% случаев и включали виды *Trichoderma koningii*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma hamatum*. Кроме того, были обнаружены: *Doratomyces stemonitis*, *Alternaria alternate*, *Alternaria chlamydospora*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Scopulariopsis asperula*, *Gibberella accuminata*, *Gibberella fujikuroi*, *Chrysosporium tropicum*, *Acremonium curvulum*, *Acremonium rutilum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium ox-*

ysporum, *Gymnoascus reesii*, *Ulocladium chartarum*, *Chaetomium cochliods*, *Chaetomium glabosum*, *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus oryzae*, *Mucor circinelloides*, *Paecilomyces variotii*, *Phialophora verrucosa*, *Aurobasidium pullulans*, *Emericella nidulans*, *Geosmithia lavendula*, *Gliocladium roseum*, *Stachybotrys chartarum*, *Stemphylium vesicarium*, *Syncephalastrum racemosum* [64].

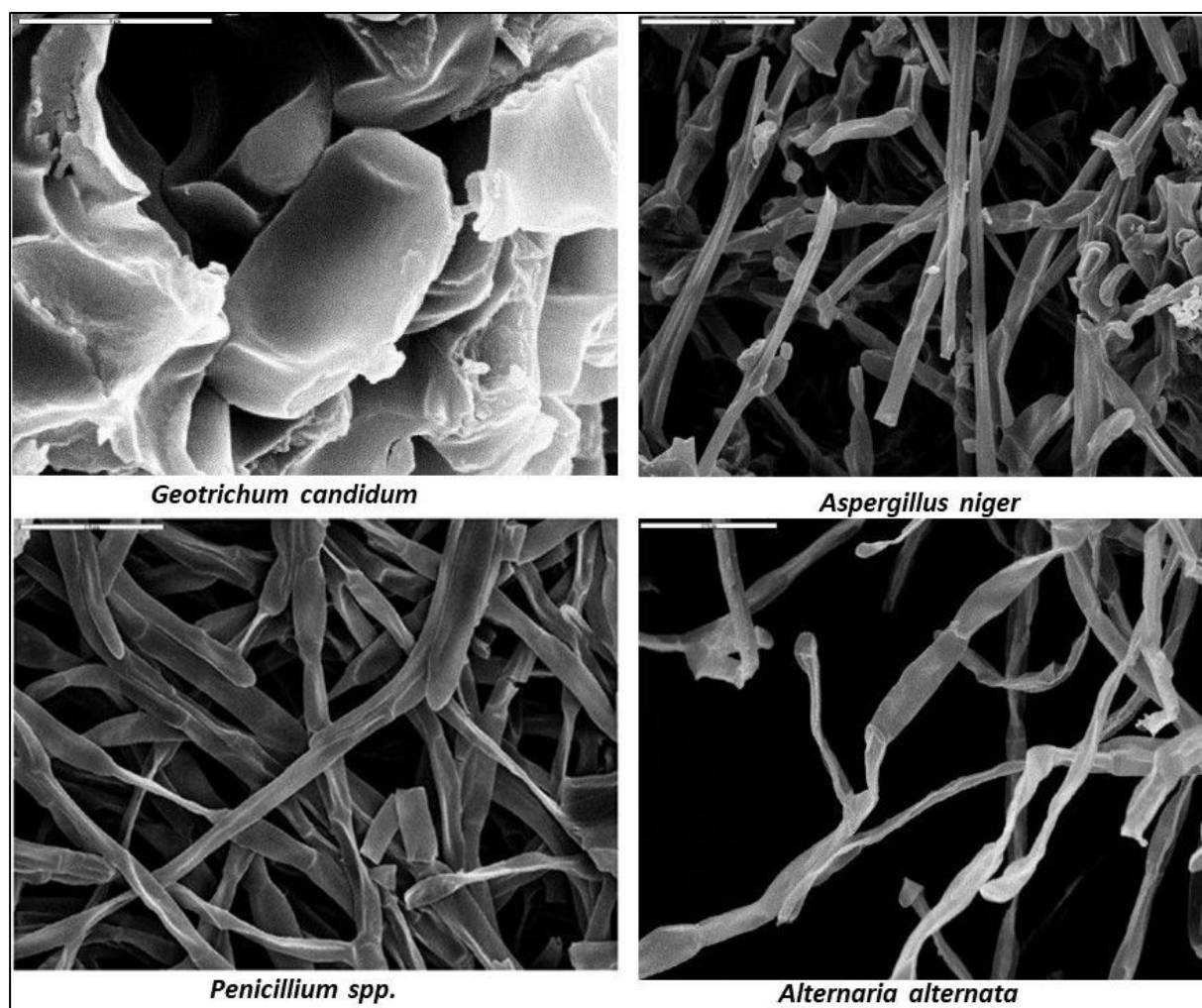


Рис. 67. Сканирующая электронная микроскопия грибов *Geotrichum candidum*, *Aspergillus niger*, *Penicillium spp.*, *Alternaria alternata* [65]

Простейшие в микробиоценозе активного ила

Простейшие составляют около 0,5–1% суспендированных частиц активного ила. Они непосредственно не участвуют в потреблении органических веществ из сточных вод, однако выполняют ряд важных функций в активном иле:

- Занимая в трофической цепи питания более высокий уровень, простейшие поглощают бактерии (20000–40000 в сутки), регулируя их видовой и возрастной состав.

- Благодаря питанию бактериями, они также снижают биомассу активного ила.

- Некоторые виды простейших выделяют специфические вещества, вызывающие флокуляцию в сточных водах. Они также способствуют флокуляции биомассы за счет образования фекальных гранул и слизи. Данная функция способствует осветлению сточных вод.

- Действуют как биоиндикаторы состояния осадка за счет высокой чувствительности к изменению химических и физических параметров среды. Инфузории и коловратки, как правило, первыми подвергаются воздействию токсичных веществ и служат тест-объектами для биомониторинга. Замедление или прекращение движения ресничек у инфузорий является характерным признаком стресса [42–44].

Простейших, обитающих в биоценозах очистных сооружений можно разделить на несколько групп (рис. 68):

1) Амебы (*Amoeba limax*, *Amoeba diploidea*, *Amoeba proteus*), раковинные корненожки (*Arcella* sp., *Centropyxis* sp.), голые корненожки (*Pelomyxa* sp.). Хорошо растут на органических частицах и способны переносить среду с низким содержанием кислорода [42–44].

2) Жгутиконосцы (*Flagellata*) – бесцветные жгутиконосцы из родов *Oicomonas*, *Bodo*, *Peranema* и др. Многие из этих организмов питаются растворимыми органическими веществами, и их присутствие может указывать на высокий уровень биологического потребления кислорода. Если жгутиконосцы присутствуют в качестве доминирующей группы простейших, это может свидетельствовать о нестабильной среде в сточных водах и плохом состоянии активного ила [42–44].

3) Инфузории (*Ciliata*) обычно появляются в условиях хорошего образования хлопьев и, как правило, указывают на хорошую работу активного ила. Включают:

- свободноплавающие инфузории (инфузория туфелька (*Paramecium caudatum*), представители родов *Colpidium*, *Stylonychia*, *Oxytricha*).

- брюхоресничные инфузории (представители родов *Oxytricha*, *Stylonychia*, *Euplotes*, *Aspidisca*).

- одиночные прикрепленные (сувойки *Vorticella*), например, *Vorticella convallaria*. В плохих условиях, например, низком содержании кислорода или высокой токсичности, вортицеллы покидают стебли. Поэтому при микроскопическом наблюдении пучок пустых стеблей указывает на плохое состояние активного ила.

- колониальные прикрепленные (представители родов *Opercularia*, *Carchesium*, *Epistylis*).

- сосущие инфузории (*Suctoria*) – представители родов *Podophrya*, *Tokophrya*, *Acineta* [42–44].

Оптимальная производительность активного ила достигается при соблюдении баланса между свободно плавающими и прикрепленными инфузориями. В условиях полного биологического удаления загрязнений в сточных водах, в микробиоценозе активного ила преобладают брюхоресничные инфузории, колониальные инфузории *Carchesium*, раковинные корненожки *Arcella*, отдельные крупные амебы и сувойки. При этом отсутствуют мелкие амебы и бесцветные жгутиконосцы. Изменение структуры сообщества простейших в сторону преобладания жгутиконосцев и мелких свободно плавающих инфузорий (*Colpidium* и *Paramecium caudatum*) свидетельствует о разрушении хлопьев активного ила и избытке свободных бактерий, которые используются этими организмами в качестве источника пищи. Таким образом, избыток жгутиконосцев, амеб или свободно плавающих инфузорий свидетельствует о высокой органической нагрузке и низком содержании растворенного кислорода. Избыток прикрепленных инфузорий, коловраток и других высших форм жизни свидетельствует о низкой органической нагрузке [42–44].

При недостатке в сооружениях растворенного кислорода клетки многих простейших увеличиваются в объеме, а затем погибают, что может привести к образованию пены [42–44].

При дефиците питания наблюдается измельчение простейших, они становятся прозрачными, их пищеварительные вакуоли исчезают, инфузории инцистируются [42–44].

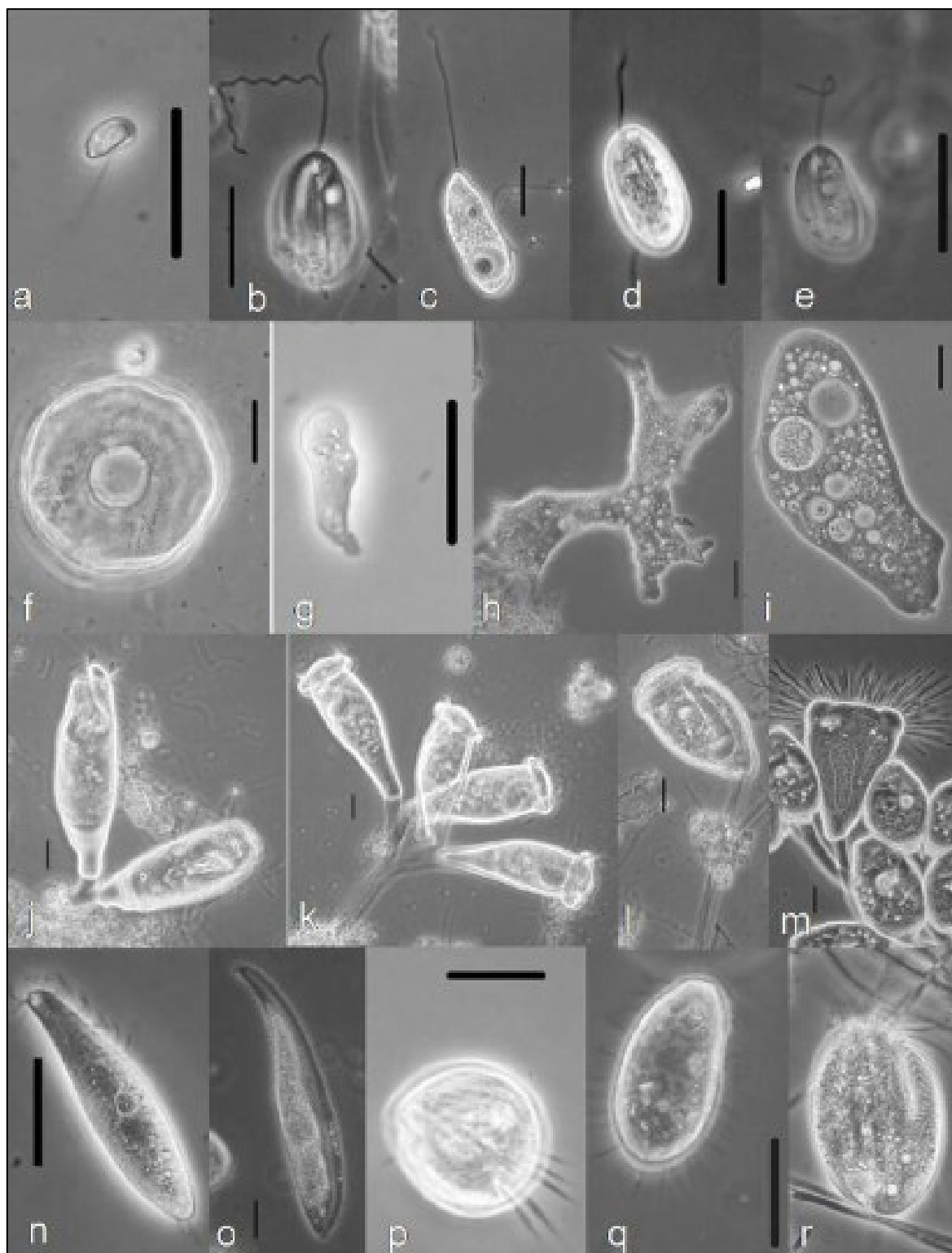


Рис. 68. Простейшие активного ила: 1) Жгутиконосцы: а – *Bodo saltans*, б – *Noto-solenus sp.*, с – *Peranema sp.*, д – *Entosiphon sp.*, е – *Petalomonas sp.* 2) Амебы: ф – *Arcella vulgaris*, г – *Vahlkampfia sp.* h, i – большие голые амебы. 3) Инфузории: j – *Opercularia articulata*, k – *Epistylis plicatilis*, l – *Vorticella convallaria*, m – *Tokophrya sp.*, n – *Acineria uncinata*, o – *Litonotus lamella*, p – *Aspidisca cicada*, q – *Uronema nigricans*, r – *Euplotes affinis* [66]

Беспозвоночные в биоценозе активного ила

Среди беспозвоночных в активном иле присутствуют представители следующих типов [42–44]:

1) Коловратки (*Rotifera*) представлены родами *Rotaria* (рис. 70), *Philodina* (рис. 72), *Cathypna*, *Lecane* (рис. 69), *Notommata*, и другие. Являются наиболее распространенными представителями беспозвоночных в активном иле. Большинство коловраток подвижны и прикрепляются к хлопьям активного ила. Питаются бактериями, простейшими и взвешенными веществами. Обладают высокой чувствительностью к изменению условий. Беспанцирные коловратки обитают в активном иле обычных аэротенков, обеспечивающих полное окисление загрязняющих веществ. Панцирные – в низконагружаемом активном иле. Высокая численность и активность коловраток в биоценозе указывает на большие концентрации кислорода и хорошую работу очистных сооружений. При хорошей работе очистных сооружений и высоком качестве сточных вод в активном иле, преимущественно, обитают *Rotatoria rotatoria*, *Philodina roseola*, *Adineta sp.*, *Euchlanis sp.* При ухудшении условий, видовой состав меняется в сторону преобладания родов *Lecane*, *Lepadella*, *Cephalloides*, *Colurella*. Гибель, снижение подвижности и появление морфологически измененных особей обусловлены нарушением режима очистки. Коловратки обладают рядом адаптационных приспособлений к неблагоприятным условиям: 1) в результате оплодотворения откладывают покоящиеся яйца (рис. 71), устойчивые к неблагоприятным условиям; 2) способны впасть в анабиоз [42–44].

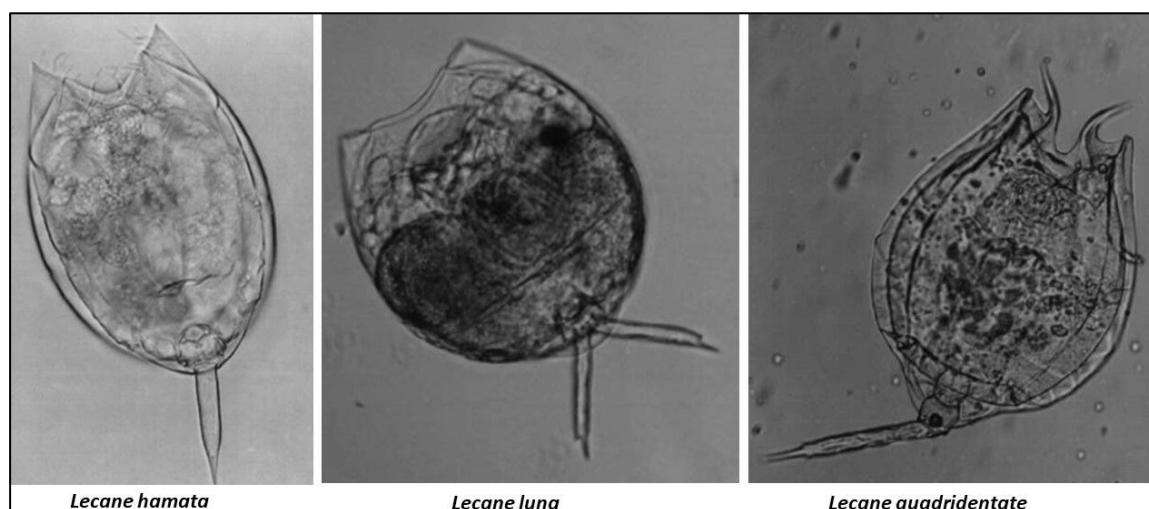


Рис. 69. Коловратки рода *Lecane* [67]



Рис. 70. *Rotaria neptunia*. Источник:
https://www.researchgate.net/publication/314051070_AN_INTRODUCTION_TO_BDELLOID_ROTIFERS_AND_THEIR_STUDY



Рис. 71. Яйца бделлоидных коловраток. Источник:
https://www.researchgate.net/publication/314051070_AN_INTRODUCTION_TO_BDELLOID_ROTIFERS_AND_THEIR_STUDY

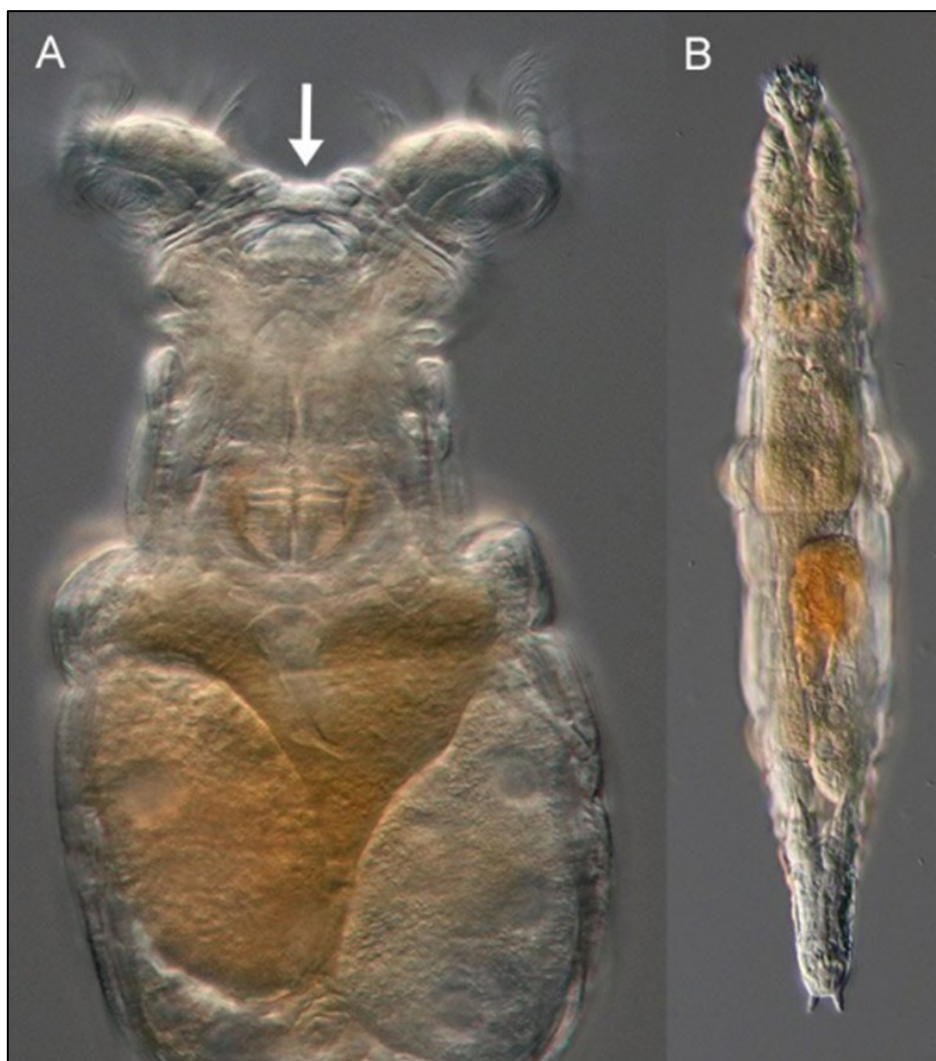


Рис. 72. А – питающаяся *Philodina*. В – движущаяся *Philodina*. Источник: https://www.researchgate.net/publication/314051070_AN_INTRODUCTION_TO_BDELLOID_ROTIFERS_AND_THEIR_STUDY

2) Тихоходки (*Tardigrada*) – сосущие хищники, чувствительны к недостатку кислорода (рис. 73). Питаются простейшими, круглыми червями и коловратками. Служат показателями высокого качества очистки и удовлетворительной нитрификации. Высокая экологическая устойчивость позволяет им обитать в активном иле, структура которого напоминает их естественные экосистемы. Встречаются в системах с нитрифицирующим активным илом, вероятно, из-за их чувствительности к токсичности аммиака. Примером являются *Thulinus ruffoi*, *Isohypsibius myrops* и другие. Тихоходки имеют ряд адаптаций к неблагоприятным условиям: 1) инцистирование; 2) образование покоящихся яиц с толстой оболочкой [42–44].

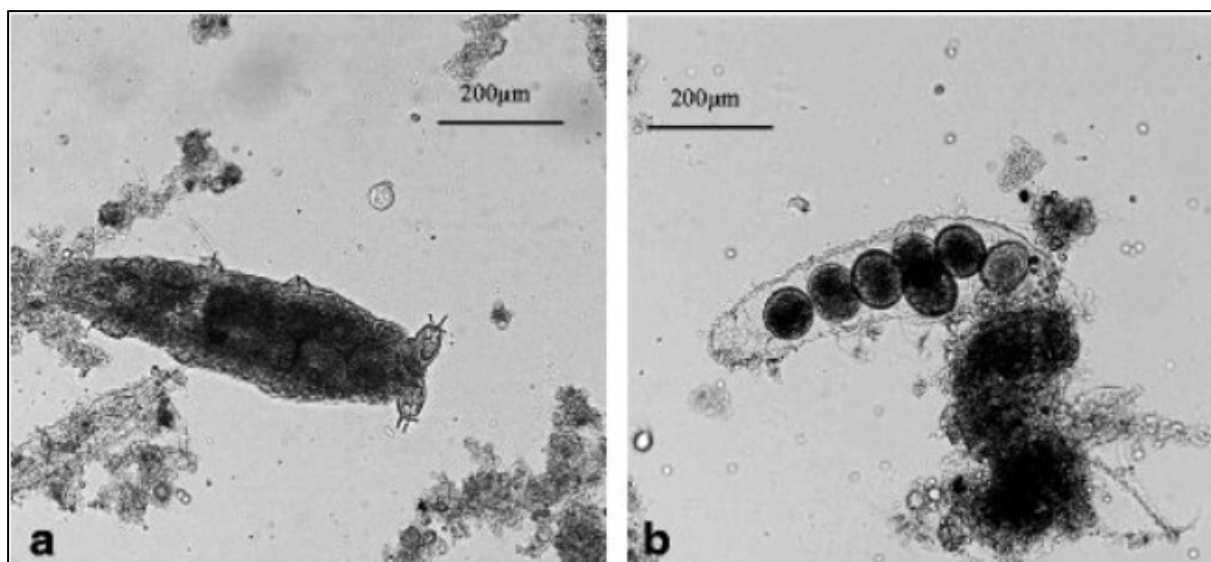


Рис. 73. Тихоходка (а), яйца тихоходки (b) [68]

3) Круглые черви (*Nematoda*) играют важную роль в системах очистки сточных вод, способствуя удалению фекальных бактерий (рис. 74). В незначительных количествах кольчатые черви могут развиваться в хорошо работающем активном иле. Интенсивное их развитие свидетельствует о застойных зонах в аэротенке, недостатке аэрации и плохом перемешивании ила. Нематоды нечувствительны к недостатку кислорода в иловой смеси, являются показателями минерализации хлопьев, при сгущении и переуплотнении которых могут значительно увеличивать свою численность. Круглые черви пропускают активный ил через кишечник, способствуя минерализации, укрупнению и разрыхлению хлопьев. В сточных водах также могут содержаться виды нематод, являющиеся паразитами растений, например, *Pratylenchus pratensis* и *Ditylenchus dipsaci*. Таким образом, использование контаминированных сточных вод для орошения может представлять опасность для сельскохозяйственных культур [42–44].



Рис. 74. Круглые черви в активном иле. Источник:
<https://teamaquafix.com/nematodes/>

4) Кольчатые черви (*Annelida*), к которым относятся малощетинковые черви *Aelosoma* (рис. 75), встречаются в системах с нитрифицирующим активным илом, вероятно, из-за их чувствительности к токсичности аммиака. Питаются бактериями, простейшими, которые захватывают, пропуская через кишечник активный ил [42–44].

5) Брюхоресничные черви (*Gastrotricha*). Род *Chaetonotus* может обнаруживаться в активном иле в основном при продленной аэрации. Питаются бактериями простейшими и детритом. Вид *Chaetonotus maximus* (рис. 76) служит индикатором недогруженных илов, высокой минерализации, глубокой очистки [42–44].



Рис. 75. *Aelosoma* в активном иле. Источник: <https://teamaquafix.com/bristle-worms-2/>



Рис. 76. *Chaetonotus maximus*. Источник: <https://www.plingfactory.de/Science/Atlas/KennkartenTiere/Gastrotricha/source/Chaetonotus%20maximus.html>

6) Членистоногие (*Arthropoda*). Ветвистоусые дафнии (*Daphnia*) и моины (*Moina*) не входят в нормальный состав активного ила и не имеют индикаторного значения, но могут развиваться в аэротенках-отстойниках и во вторичных отстойниках недогруженных станций с длительным периодом аэрации и глубокой нитрификацией при условии хорошего качества очистки. На биофильтрах, в биоценозе минерализованного или голодающего активного ила встречаются водные клещи. Кроме того, на биофильтрах встречаются ногохвостки рода подура (*Podura*) [44].

Беспозвоночные в активном иле выполняют следующие функции:

- Регулируют рост нитчатых бактерий, улучшая оседающие свойства осадка.
- Регулируют видовой и количественный состав простейших в микробиоценозе.
- Могут служить биоиндикаторами состояния активного ила и эффективности очистки сточных вод [42–44].

4.6. Анаэробная очистка сточных вод

Анаэробным сбраживанием называется процесс ферментации в бескислородных условиях, в ходе которого разлагается органический субстрат и образуется биогаз. В сравнении с аэробной очисткой сточных вод, анаэробная имеет ряд преимуществ и недостатков (табл. 8).

Таблица 8. Преимущества и недостатки анаэробной очистки сточных вод в сравнении с аэробной

Преимущества	Недостатки
1) Является более эффективной.	1) Невысокие скорости реакции процесса.
2) Может осуществляться в технически простых системах и не требует больших площадей.	2) Влажность избыточного ила составляет до 100%.
3) Экологичность анаэробной очистки повышается за счет её способности работать при более низких температурах и давлениях, снижая потребность в энергии.	3) Может наблюдаться плохая осаждаемость и всплывание ила за счёт образования избыточного количества газов.
	4) Из-за низкой продуктивности анаэробных микроорганизмов, при первичном запуске очистных сооружений

4) Количество образующегося избыточного ила очень мало.	требуется 1–2 месяца для наращивания биомассы.
5) Пригодна для сточных вод с большими нагрузками органических загрязнителей.	
6) Биоценоз выдерживает прекращение подачи питания в течение месяца.	
7) Удовлетворительно функционирует в условиях неравномерного притока сточных вод.	
8) Приводит к образованию энергетически ценного побочного продукта – биогаза. Является предпочтительной в промышленных целях из-за экономии энергии.	
9) Высокая устойчивость к токсикантам и способность разлагать сложные ксенобиотики. Анаэробные процессы очистки сточных вод имеют важное значение для снижения объема и токсичности отходов.	

Анаэробный реактор представляет собой герметичный резервуар, который обеспечивает контролируемую среду для анаэробных процессов разложения органического материала в сточных водах. Биореактор спроектирован таким образом, чтобы обеспечить максимальный контакт между сточными водами и микробиоценозом, повышая эффективность процесса очистки. Первый анаэробный реактор был применен в 1881 году для удаления твердых компонентов сточных вод.

Основными условиями успешной работы анаэробного реактора являются:

1) Герметичность. Она гарантирует отсутствие поступления кислорода в среду.

2) Биоценоз, состоящий из микроорганизмов, активных в анаэробных условиях.

3) Перемешивающие механизмы. Помогают равномерно распределить микроорганизмы и предотвратить оседание отходов, обеспечивая последовательную анаэробную обработку.

4) Контроль температуры. Обеспечивает поддержание оптимальных условий для активности микроорганизмов.

5) Сбор газов. Заключается в улавливании и отведении образующегося биогаза.

Системы анаэробной очистки применяют для сбраживания высококонцентрированных стоков, осадков, ила, в том числе активного ила очистных сооружений.

Анаэробные системы могут быть классифицированы в зависимости от типа биомассы и её способа удержания в системе на три основных группы (рис. 77).

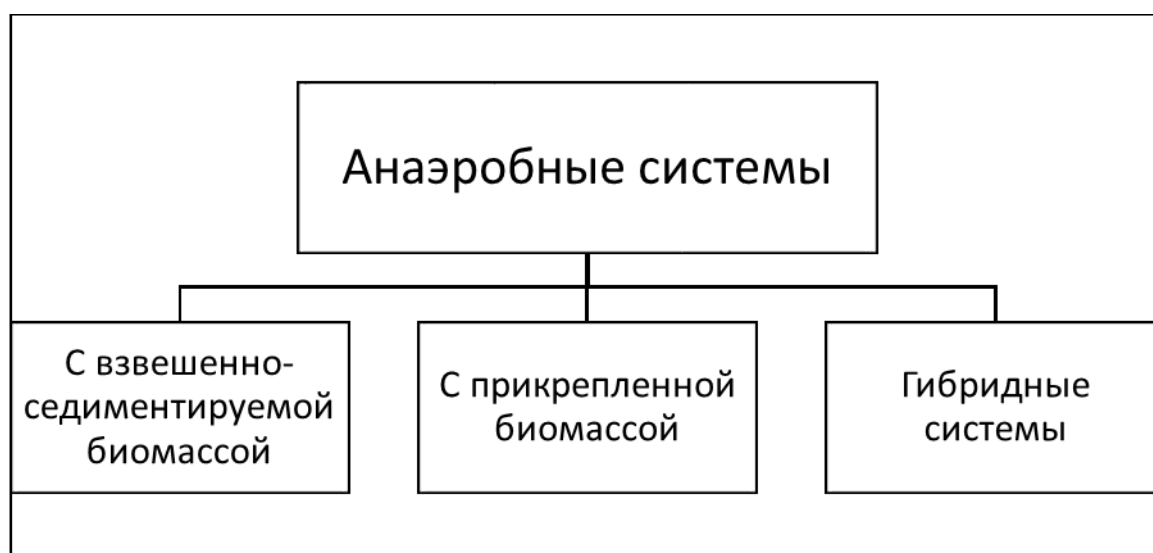


Рис. 77. Классификация анаэробных систем очистки

1. Системы с взвешенно-седиментируемой биомассой

В них микроорганизмы растут во взвешенном состоянии в жидкости реактора. Традиционные системы включают: анаэробные лагуны, септитенки (септики), метантенки, контактные биореакторы. Системы нового поколения включают: анаэробный реактор с придонным слоем организмов и восходящим потоком жидкости (UASB-реактор), расширенный реактор с гранулированным шламом (EGSB-реактор), анаэробный реактор с перегородками (ABR-реактор), реактор с внутренней рециркуляцией (IC-реактор), реактор периодического дей-

ствия с чередованием анаэробных условий (SBR-реактор), мембранный биореактор с седиментированной биомассой [42, 43].

Анаэробные лагуны

Представляют собой земляной бассейн, состоящий из одного или нескольких отстойников (рис. 78). Используются для очистки сельскохозяйственных сточных вод мясного производства, в качестве первичной стадии очистки городских сточных вод. В анаэробных лагунах отсутствует аэрация, перемешивание и подогрев. Характеризуются невысокой скоростью очистки. Образующиеся газы свободно выделяются в атмосферу, в связи с чем анаэробные лагуны могут оказывать неблагоприятное воздействие на окружающую среду.



Рис. 78. Схема устройства анаэробных лагун [42]

Септитенки (септики)

Септитенки – горизонтальные отстойники закрытого типа, в которых образовавшийся на дне осадок твердых частиц перегнивает и разлагается анаэробными микроорганизмами (рис. 79). Первый септик для удержания твердых частиц в сточных водах был создан в 1891 году. Септитенк состоит из одного или нескольких резервуаров. Наиболее распространены септики, состоящие из двух частей:

1) Отстойная часть, в которую поступают сточные воды и происходит осветление воды вследствие движения её с малой скоростью. Твёрдые частицы оседают, подвергаются анаэробному сбраживанию. Жидкий компонент поступает через разделительную стенку во вторую часть, где происходит дальнейшее отстаивание [42, 43].

2) Септическая часть, в которой происходит перегнивание осадка при хранении его в течение 6–12 месяцев [42, 43].

Стандартные септики применяются при количестве сточных вод не более 25 м³/сутки. На станциях очистки сточных вод с пропускной способностью до 30000 м³/сутки используются осветлители-перегниватели, которые также можно рассматривать как разновидность септотенка. Продолжительность нахождения воды в септике составляет 3–4 суток. Септотенки часто используются для сбраживания активного ила вторичных отстойников, осадков первичных отстойников и пены с целью накопления осадка, уменьшения его объема, плохого запаха и количества патогенной микрофлоры. В септике задерживается 80–95% взвешенных веществ, количество микроорганизмов и коли-индекс уменьшаются на 20–40%. Септики являются наиболее распространенными очистными сооружениями для индивидуальных домохозяйств, так как могут работать автономно и не нуждаются в электропитании. Большинство септотенков работают без обогрева при температуре менее 20°C. Иногда в схеме очистки предусматриваются два тенка: первичный с подогревом до 30–40°C и перемешиванием, вторичный – без подогрева и перемешивания. В результате разложения органических веществ и уплотнения объем осадка в септике уменьшается в два раза. Ил периодически удаляют, оставляя около 1/6 части для поддержания работы септотенка [42, 43].

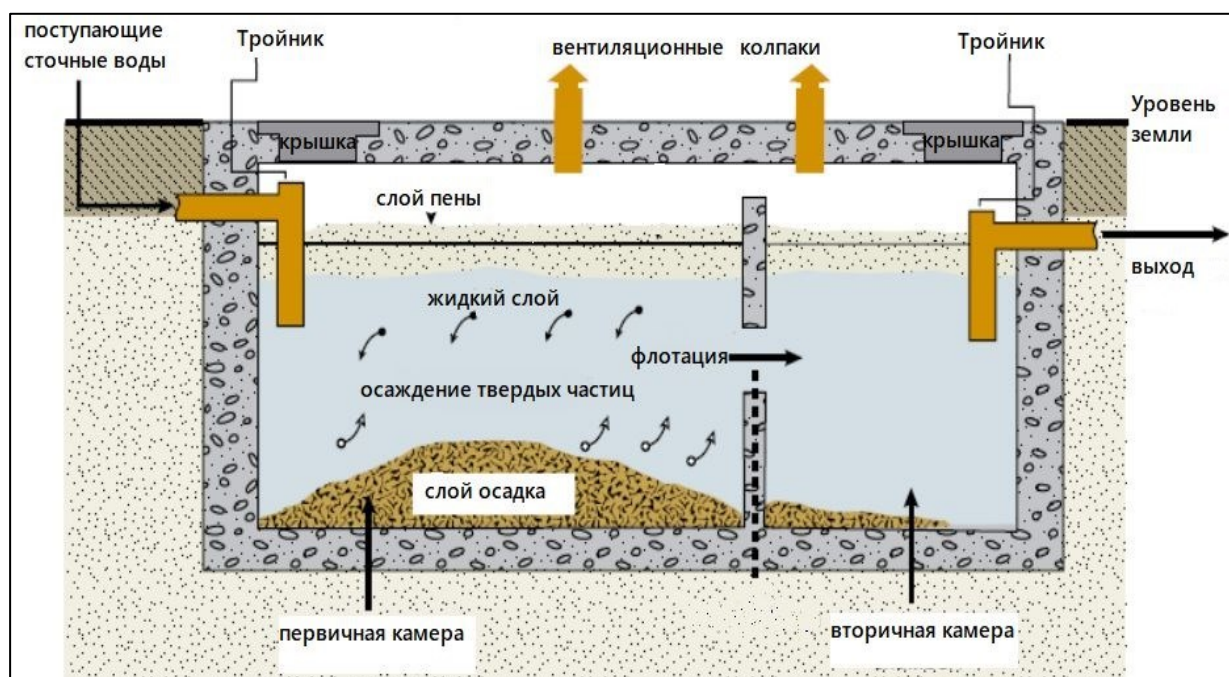


Рис. 79. Схема устройства септотенка

Контактные биореакторы

Данный метод стал одним из первых, широко применяемых в промышленности с начала 30-х годов XX века. Анаэробный контактный реактор сочетает высокую концентрацию биомассы, большую эффективность и меньший размера реактора. Производительность контактного биореактора выше в сравнении с септитенком. Перемешивание среды с анаэробным илом, осаждение ила в отстойнике и его рециркуляция обратно в реактор повышают эффективность очистки. Основная проблема применения анаэробных контактных реакторов заключается в плохом осаждении осадка, вызванном газообразованием анаэробных бактерий в отстойнике. Для уменьшения газообразования применяют вакуумную дегазацию и охлаждение перед осаждением с использованием флокулянтов в отстойнике с наклонными пластинами в конструкции отстойника. Охлаждение приводит к замедлению процессов метанообразования и образования новых пузырьков, улучшая седиментационные свойства анаэробного ила. Максимальная нагрузка для анаэробного контактного процесса составляет 2,5–3,0 кг ХПК/(м³·сут) [42, 43, 69]. Схема устройства контактного биореактора представлена на рисунке 80.

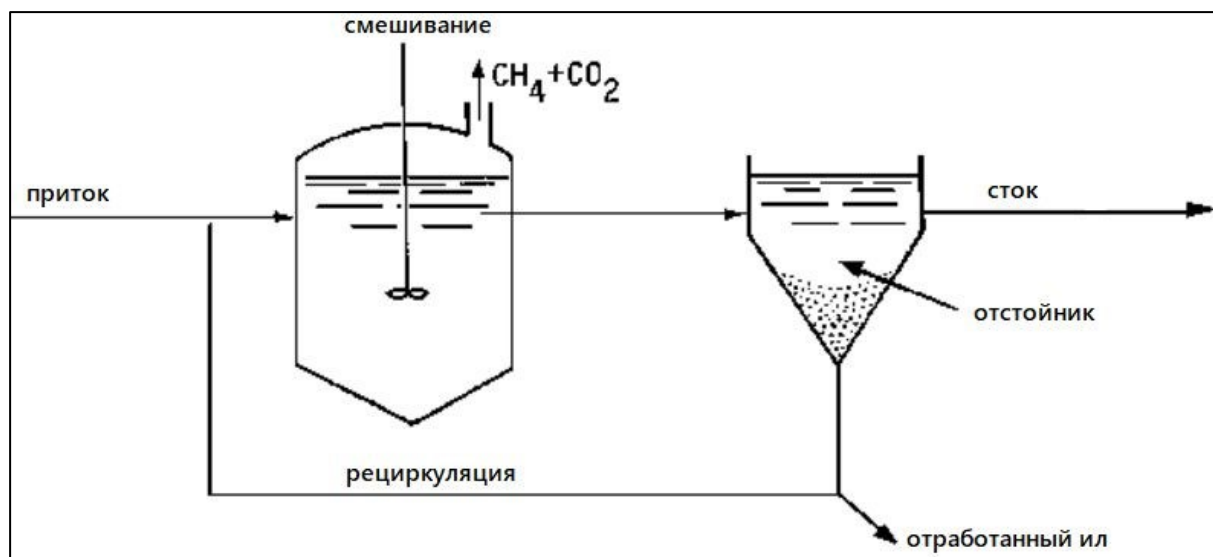


Рис. 80. Схема устройства контактного биореактора [69]

Метантенки

Метантенк – это устройство для анаэробного сбраживания жидких органических отходов с получением метана (рис. 81–82). Являются традиционными и наиболее распространенными аппаратами анаэ-

робной очистки. Используются для сбраживания стоков с высокой концентрацией загрязнений и разложения органических отходов, в том числе активного ила очистных сооружений.

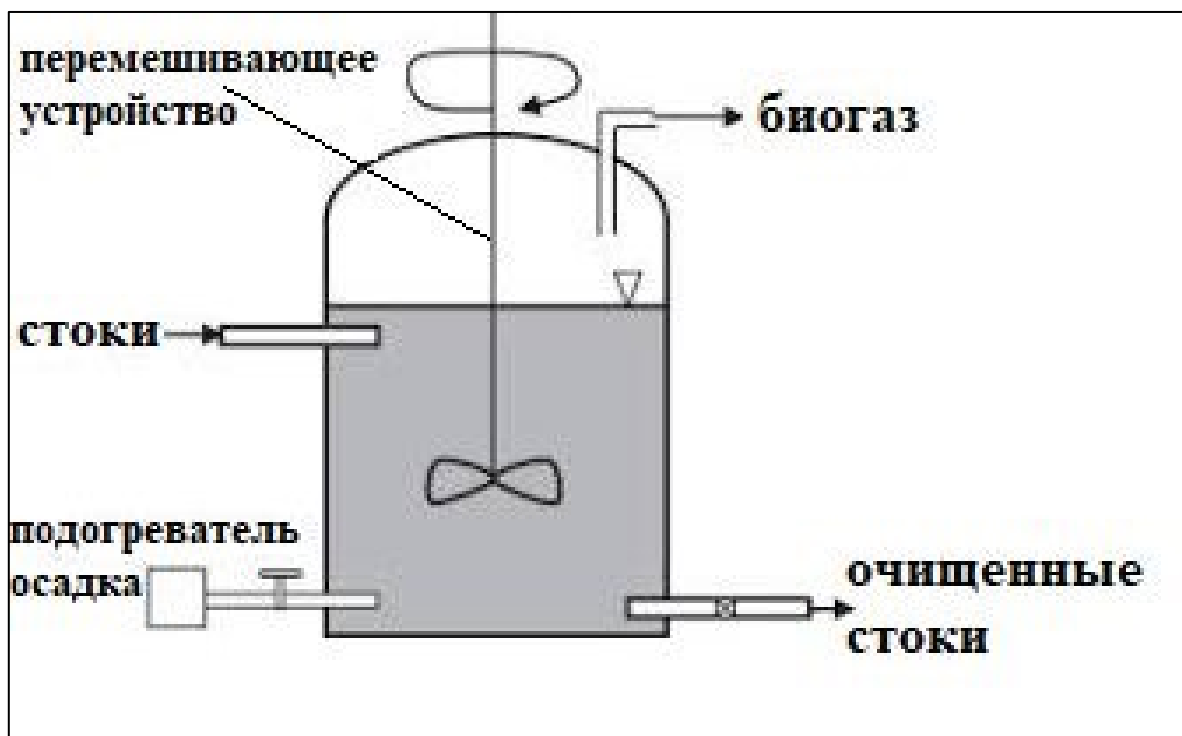


Рис. 81. Схема устройства метантенка



Рис. 82. Метантенки на станции очистки сточных вод в Екатеринбурге [70]

Метантенки различаются формой резервуара, количеством камер сбраживания, способами загрузки, выгрузки субстрата, способами обогрева и перемешивания. Метантенки большого объема изготавливают в виде вертикальных резервуаров цилиндрической или эллипсоидной формы. Днище скошенное, полусферическое или имеет форму конуса для возможности полного опорожнения резервуара. Для обеспечения равномерного распределения содержимого реактора осуществляется перемешивание с помощью механических мешалок, циркуляционных насосов, гидроэлеваторов или комбинации этих систем. Поскольку метаногенез протекает без выделения тепла, осуществляют обогрев метантенка. Пар для обогрева можно получать, сжигая образующийся биогаз. Для уменьшения потерь тепла и расхода биогаза на подогрев метантенки теплоизолируют. Метантенки работают в периодическом режиме загрузки отходов или сточных вод, с постоянным отбором биогаза и выгрузкой твердого осадка по мере завершения процесса. Образующийся метан легко воспламеняется, поэтому такие системы оборудуют газоотделителями и противополаменными ловушками. Конструкция анаэробных реакторов может быть полностью герметичной, что предотвращает распространение дурнопахнущих веществ и позволяет сократить санитарно-защитную зону [42, 43].

По конструкции метантенки бывают с неподвижным незатопленным перекрытием и с плавающим (подвижным) перекрытием. Метантенк с неподвижным незатопленным перекрытием – это строго герметичный цилиндрический резервуар, на котором расположена горловина с вертикальными стояками. От стояков отходит трубопровод для отвода газа в распределительный газовый киоск. Недостатком метантенков данного типа является непостоянство давления внутри реактора. При выгрузке осадка внутри метантенка может образоваться вакуум, при загрузке – повыситься давление. Это приводит к разрушению конструкций, образованию трещин. При образовании вакуума засасывается воздух, возможно образование взрывоопасной горючей смеси. Для устранения неравномерностей при выделении газа, его сбора, хранения и предотвращения попадания воздуха в метантенк при выпуске осадка на линии газоотвода устанавливают газгольдеры. При длительной эксплуатации метантенков в них возможно образование слоя плотной корки под перекрытием вследствие скапли-

вания газа и подсыхания осадка, что уменьшает их полезный объем. Метантенк с плавающим (подвижным) перекрытием не представляет опасности образования вакуума. Перекрытие поднимается при загрузке осадка и опускается при выгрузке, обеспечивая герметичность конструкции с одновременным сбором и отведением газа с поверхности [42, 43].

Метантенки могут работать в мезофильном и термофильном температурных режимах. Мезофильный режим используется чаще. Сравнительная характеристика преимуществ мезофильного и термофильного режимов представлены в таблице [42, 43].

Таблица 9. Преимущества мезофильного и термофильного режимов

Мезофильный	Термофильный
1) меньшая энергозатратность; 2) экономическая выгодность; 3) более высокая стабильность и меньшая чувствительность к изменениям условий окружающей среды из-за более высокого биоразнообразия в микробиоценозе; 4) лучшее обеззживание осадков.	1) более высокая скорость и степень распада органических соединений; 2) практически полная дегельминтизация осадков; 3) меньшая продолжительность сбраживания

Анаэробный реактор с придонным слоем организмов и восходящим потоком жидкости – UASB-реактор (Upflow Anaerobic Sludge Blanket)

Данный тип был разработан в 1970-х годах. В настоящее время считается наиболее широко используемой в мире высокоскоростной анаэробной системой для очистки промышленных и бытовых сточных вод. Принцип работы основан на том, что анаэробный ил обладает хорошими свойствами осаждения, при которых осадок не подвергается дополнительному интенсивному механическому перемешиванию. Достаточное перемешивание обеспечивается равномерным распределением потока с высокой скоростью восходящего потока и перемешиванием, возникающим в результате образования газа. Биомасса удерживается во взвешенном состоянии за счет регулирования скорости восходящего потока. Сточные воды поднимаются вверх через слой осадка, расположенного в нижней части реактора. Верхняя часть реактора содержит систему трехфазного разделения, которая способствует сбору биогаза и обеспечивает внутреннюю переработку

осадка за счет отделения пузырьков биогаза от поднимающихся частиц осадка (рис. 83) [69].

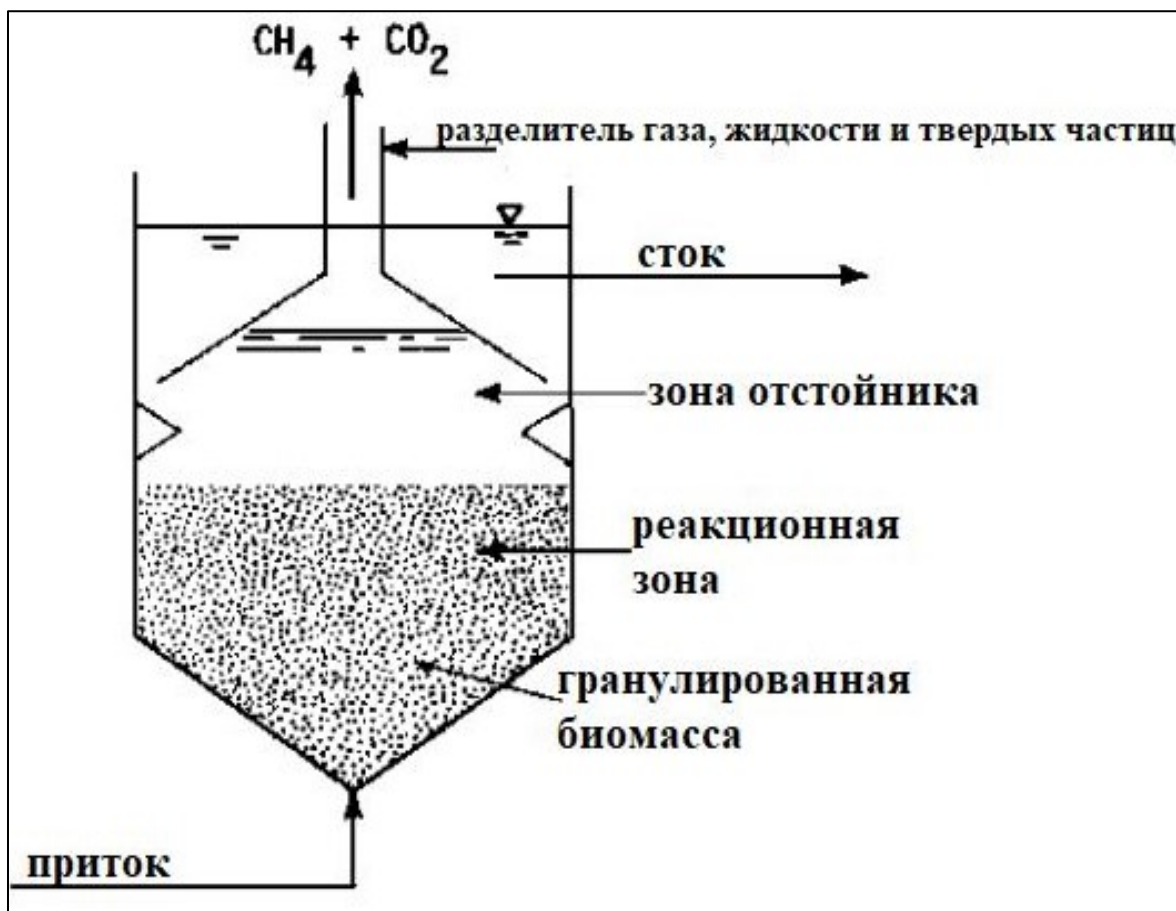


Рис. 83. Схема устройства анаэробного реактора с придонным слоем организмов и восходящим потоком жидкости [69]

Анаэробный реактор с перегородками (ABR-реактор)

Данная система разработана в начале 1980-х годов. Представляет собой реактор, разделенный на отсеки (рис. 84). Поступающие сточные воды пропускаются через ряд слоев осадка, сводя к минимуму потери биомассы. Анаэробные реакторы с перегородками широко используются на установках очистки сточных вод для удаления тяжелых твердых отложений с целью снижения уровня химического потребления кислорода в отходящих сточных водах перед переходом на следующий этап обработки. Неочищенные сточные воды поступают в резервуар реактора через впускные трубы, которые направляют поток на дно первого отсека, в котором, образуется слой гранулированного ила. При прохождении сточных вод через гранулы ила, твердые ча-

стицы задерживаются в иловом слое, где анаэробные бактерии разлагают органические вещества. Частично очищенные сточные воды поступают через перегородку в следующий отсек, где происходит аналогичный процесс. Такая технология относительно проста в эксплуатации, экономична, не требует электричества. Этот метод особенно эффективен для сточных вод сельского хозяйства и бытовых стоков, содержащих большое количество твердых частиц [69].

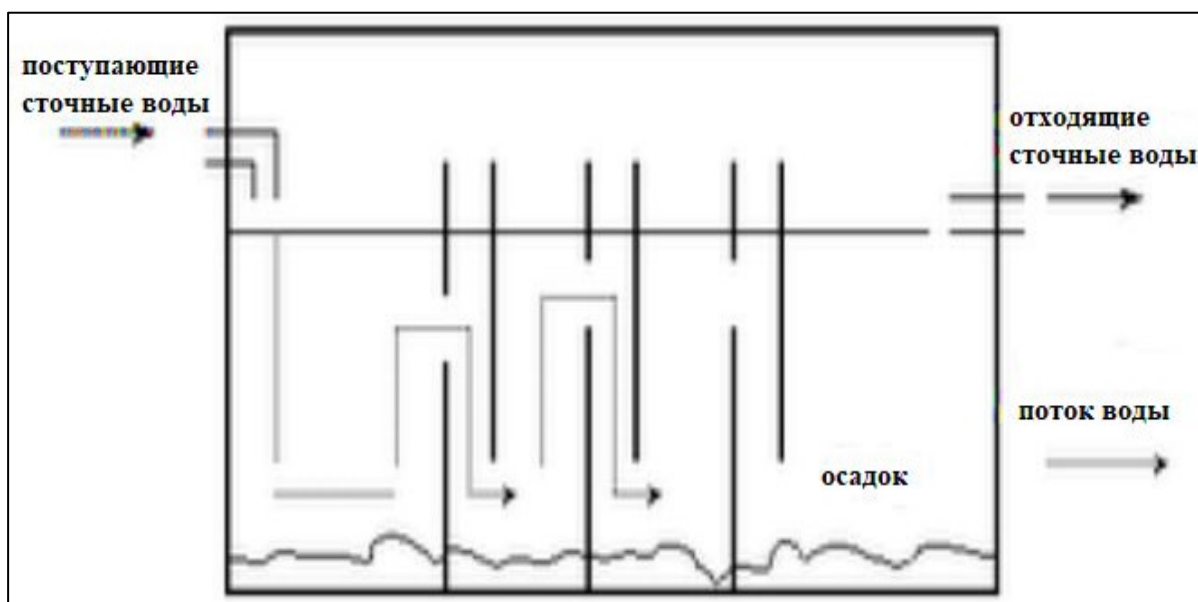


Рис. 84. Схема устройства анаэробного реактора с перегородками [69]

2. Системы с прикрепленной биомассой

В них гранулированный осадок удерживается с помощью специально разработанных устройств для разделения газа, жидкости и твердых частиц. Включают реакторы с неподвижной пленкой и псевдоожиженным слоем. В процессах с фиксированной пленкой бактерии размещаются на статичной опорной поверхности (пластиковые кольца, камни, модули-носители). В реакторах с псевдоожиженным слоем для создания опорной поверхности используются взвешенные среды-носители, такие как песок. К традиционным системам относятся анаэробные биофильтры с восходящим потоком. К системам нового поколения относятся: биофильтр с нисходящим потоком, с псевдоожиженным слоем, с носителем биопленки и аэрлифтом, вращающийся дисковый биофильтр, многофазный с последовательным протеканием процессов.

Анаэробные биофильтры

Анаэробный биофильтр – это система биологической очистки сточных вод, в которой фиксированная матрица (поддерживающая среда) обеспечивает поверхность крепления для поддержания анаэробных микроорганизмов в виде биопленки (рис. 85). При прохождении сточных вод через этот слой восходящим потоком, растворенные загрязняющие вещества поглощаются биопленкой. Анаэробные фильтры применяются для очистки сточных вод с различным содержанием органических веществ. Ограничением для использования таких систем является ухудшение структуры слоя из-за накопления твердых веществ, не поддающихся биологическому разложению. Таким образом, анаэробные фильтры непригодны для очистки сточных вод с высоким содержанием твердых частиц [69].

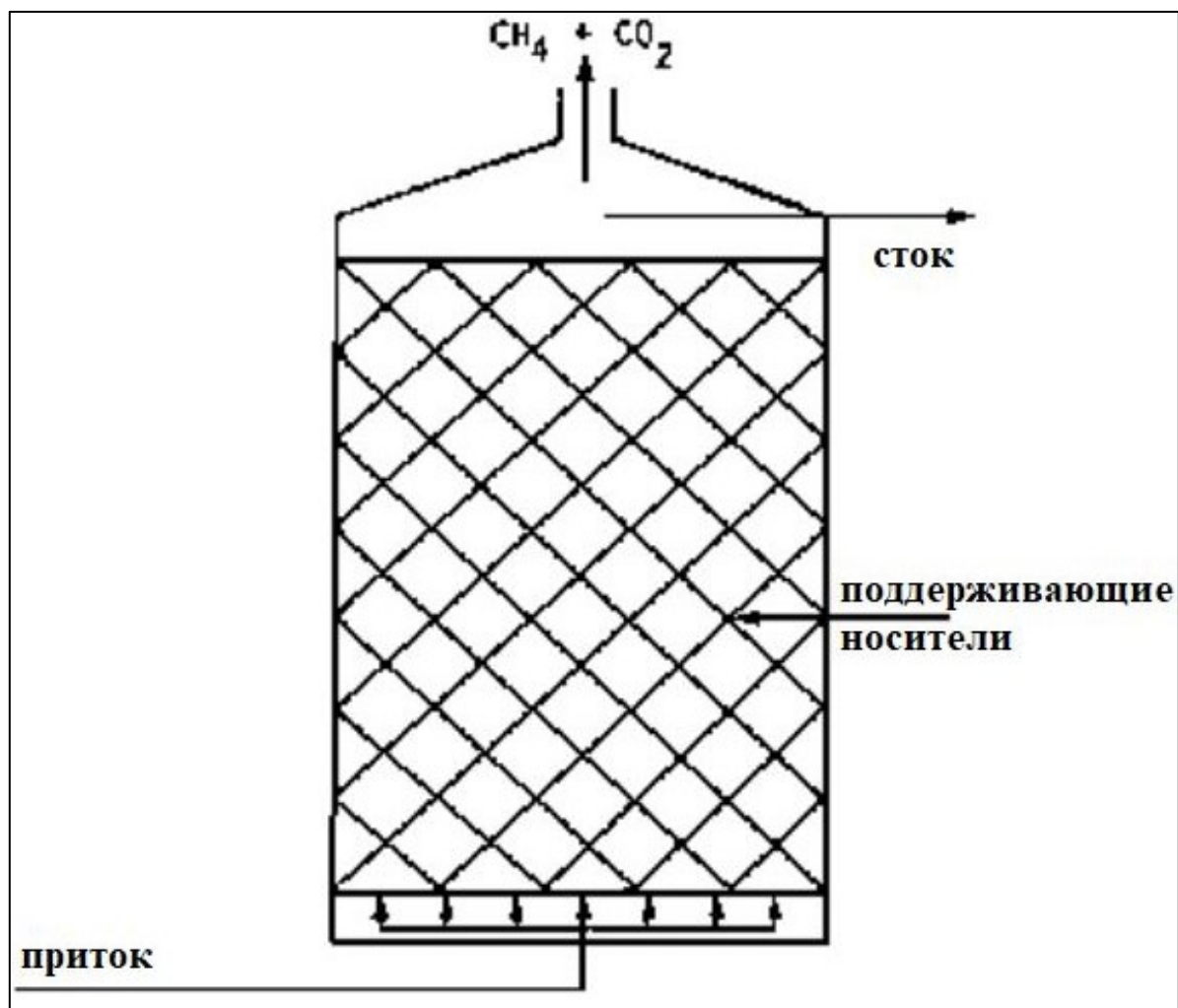


Рис. 85. Схема устройства анаэробного фильтра [69]

3. Гибридные системы

В гибридных анаэробных фильтрах системы с взвешенно-седиментируемой биомассой и системы с прикрепленной биомассой объединяются в одном реакторе, что позволяет использовать преимущества обоих типов. Конструкция гибридного реактора сочетает в себе нижнюю секцию, функционально идентичную реактору с восходящим потоком с взвешенно-седиментируемой биомассой (рис. 86). Нижняя часть объема реактора отвечает за образование флоккуланта или гранулированного осадка. Верхняя часть реактора заполнена пластиковой средой с поперечным потоком. Гибридный реактор в основном подходит для очистки сточных вод, где образование гранулированного осадка затруднено, например, отходов некоторых химических производств. Усиленный рост биомассы в среде в верхней части реактора вместе с образованием слоя гранулированного или хлопьевидного ила в нижней части реактора способствуют накоплению значительных запасов биомассы, что приводит к повышению стабильности процесса и более эффективному удалению [42, 43, 69].

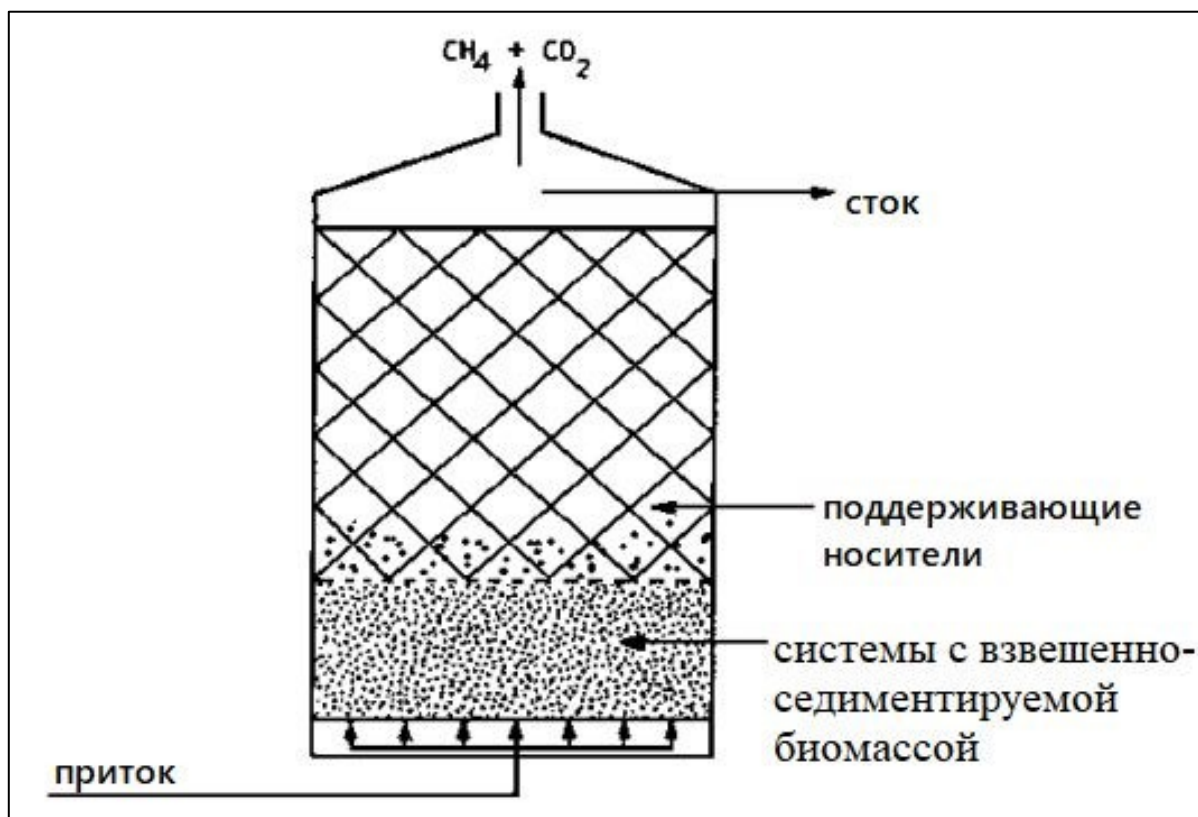


Рис. 86. Гибридный анаэробный фильтр с восходящим потоком [69]

Анаэробный ил и биопленки развиваются в экосистемах с доминированием аноксигенных и анаэробных условий, в которых протекают процессы брожения, аноксигенного окисления (анаэробного дыхания) и метанообразования. Аноксигенное окисление органических субстратов включает процессы денитрификации и сульфатредукции, протекающие при наличии в среде нитрат-, нитрит- и сульфат-ионов в отсутствии кислорода. Основной процесс, который наблюдается в анаэробных условиях – метаногенез.

Важный фактор для осуществления анаэробных процессов – окислительно-восстановительный потенциал среды, который является количественной характеристикой состояния водной среды, содержащей вещества, способные окисляться и восстанавливаться. Функциональная активность характерна для микроорганизмов, устойчивых к условиям большого диапазона окислительно-восстановительного потенциала.

По видовому составу анаэробный ил и пленки менее разнообразны, чем аэробные. В активном иле метантенков встречается около 50 видов прокариот (бактерий и архей), количество которых достигает 15 млрд./мл. Могут присутствовать грибы и простейшие. Микрофлора анаэробных реакторов формируется в результате жизнедеятельности микроорганизмов, попавших вместе со сточными водами, осадком или отходами, а также аборигенной микрофлоры при анаэробных процессах очистки в почвенных экосистемах. На формирование анаэробного ила и биопленок требуется больше времени в сравнении с аэробными.

Процесс анаэробной очистки сточных вод включает четыре основных этапа, каждый из которых проходит в определенных зонах анаэробного метантенка (рис. 87).

I этап. Гидролиз – процесс расщепления сложных органических соединений на более простые органические соединения под воздействием экзоферментов, выделяемых бактериями. В процессе ферментативного гидролиза белки расщепляются до аминокислот, полисахариды – до простых сахаров, липиды – до длинноцепочечных жирных кислот. Данный процесс очень чувствителен к колебаниям температуры. В некоторых случаях для обеспечения возможности гидролиза требуется подготовительный этап, заключающийся в физико-химической обработке субстрата или его измельчении. При перера-

ботке биологических отходов, таких как отработанный активный ил, гидролизу осадка предшествует отмирание и лизис биомассы. Процесс гидролиза осуществляется бактериями родов *Bacillus*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Cellobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Selenomonas*. В процессе гидролиза сложные полимерные субстраты превращаются в мономерные и димерные соединения, которые легко доступны для кислотогенных бактерий, так как могут проникать через их клеточные стенки. Таким образом, продукты гидролиза являются субстратами для ацидогенных бактерий [36, 44].

II этап. Ацидогенез – процесс преобразования растворенных соединений, присутствующих в клетках бактерий в простые соединения (органические кислоты, спирты, углекислый газ, водород, аммиак, сероводород), которые затем выводятся из организма. Ацидогенез осуществляется большой группой гидролитических и негидролитических микроорганизмов, в активном иле представленных, преимущественно, представителями родов *Acetofilamentum*, *Acetivibrio*, *Acetomicrobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Sarcina*, *Micrococcus*. Тип конечных продуктов зависит от условий в реакторной среде. Ацидогенные бактерии, как правило, наиболее активны при pH 4,5–7,0 [36, 44].

III этап. Ацетогенез – процесс промежуточного образования кислоты, при котором продукты расщепления превращаются в ацетат, водород, углекислый газ. На стадии ацидогенеза продукты гидролиза (аминокислоты, простые сахара, длинноцепочечные жирные кислоты) проникают внутрь бактериальных клеток через клеточную мембрану, впоследствии ферментируются или анаэробно окисляются. Короткоцепочечные жирные кислоты, которые образуются на стадии ацидогенеза, далее преобразуются в ацетат, газообразный водород и углекислый газ ацетогенными бактериями. Наиболее важные ацетогенные субстраты – пропионат и бутират, являются промежуточными продуктами в процессе анаэробного сбраживания. Также образуются лактат, этанол, метанол, водород и углекислый газ. Ацетогенные бактерии являются облигатными продуцентами водорода, и их метаболизм ингибируется водородом. Существует взаимосвязь между ацетогенными бактериями, продуцирующими H_2 , и метаногенными микроорганизмами, потребляющими H_2 . Взаимодействие образования и использования H_2 называется межвидовым переносом водорода. В дан-

ной стадии принимают участие гетероацетогенные бактерии (ацетогены) родов *Clostridium*, *Syntrophus* и других [36, 44].

IV этап. Метаногенез – процесс, в котором метаногенные микроорганизмы преобразуют продукты ацетогенеза в метан и углекислый газ. К метаногенным организмам относятся археи родов *Methanococcus*, *Methanotherix*, *Methanosarcina*, *Methanospirillum*, *Methanomicrobium*, *Methanobacterium*, *Methanosaeta*, *Methanogenium*, *Methanothermus*, *Methanobrevibacter*, которые являются облигатными анаэробами, преимущественно, с узким спектром субстратов. Одни виды восстанавливают углекислый газ, используя водород в качестве донора электронов, другие – декарбоксилируют ацетат с образованием метана [36, 44].

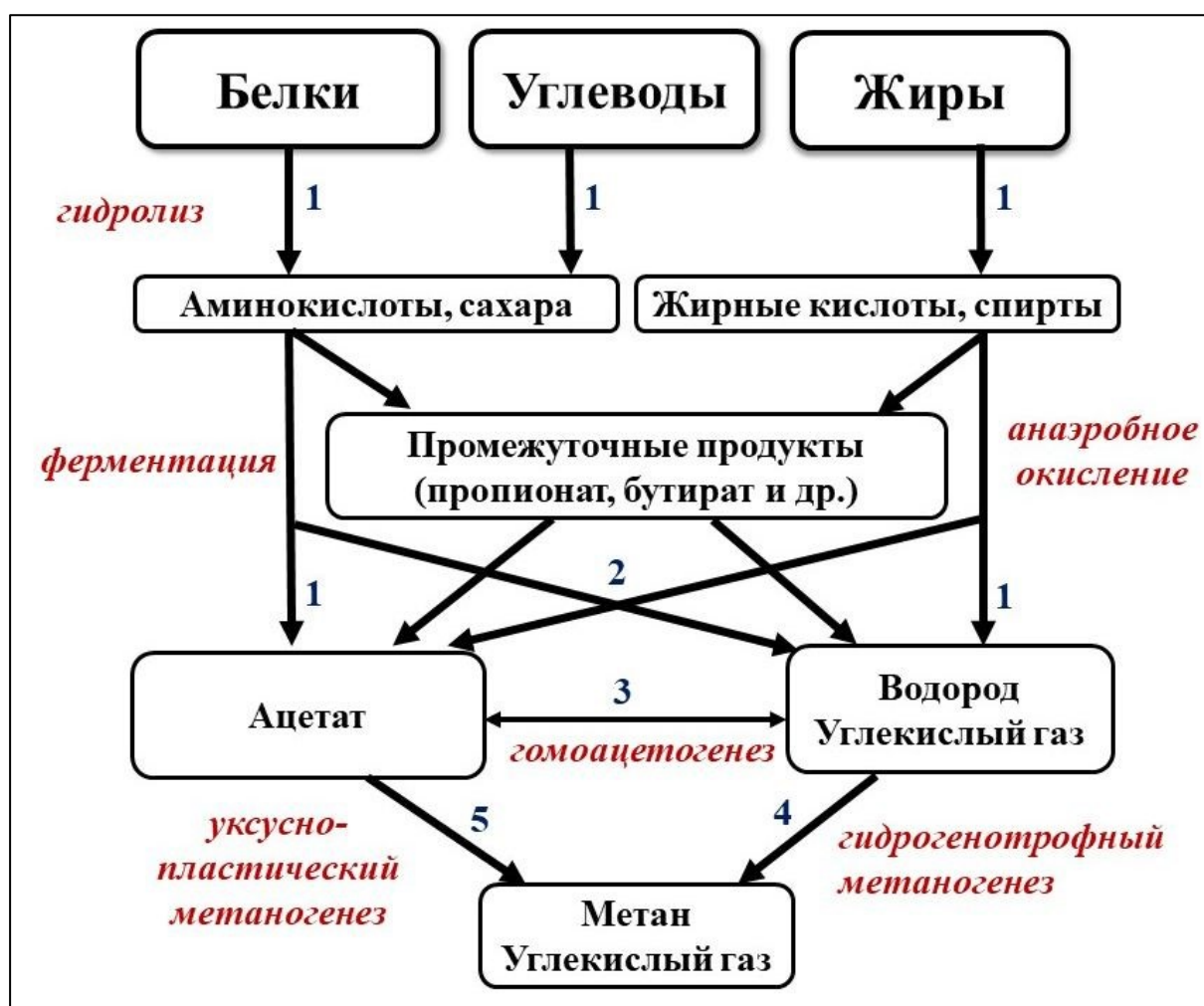


Рис. 87. Схема анаэробного разложения полимеров. Цифрами обозначены вовлеченные группы микроорганизмов: 1 – Гидролитические и ферментативные; 2 – Ацетогенные; 3 – Гомоацетогенные; 4 – Гидрогенотрофные метаногены; 5 – Уксусно-пластические метаногены [36]

Метаногенные литотрофы потребляют в качестве субстрата водород, диоксид углерода, оксид углерода, формиат. К данным микроорганизмам относятся археи родов *Methanococcus*, *Methanobacterium*, *Methanospirillum*, *Methanomicrobium*, *Methanogenium*, *Methanothermus*, *Methanosarcina*, *Methanobrevibacter*. Около 30% производимого метана образуется из водорода и углекислого газа [36, 44].

Метаногенные ацетотрофы используют в качестве субстрата ацетат, метанол, метиламин. К ним относятся археи родов *Methanosarcina*, *Methanosaeta*, *Methanoplanus*. Около 70% производимого метана образуется из ацетата в качестве основного предшественника. Скорость роста уксуснокислых метаногенов очень низкая, поэтому анаэробные реакторы требуют длительного времени запуска при использовании неадаптированного затравочного материала и высоких концентраций осадка. Виды *Methanosaeta* (рис. 88) имеют нитевидную структуру, способны преобразовывать только ацетат. Они являются наиболее распространенными ацетотрофными метаногенами в анаэробных системах с высокой скоростью очистки, основанных на длительном удержании твердых частиц, таких как системы с осадочным слоем и анаэробные фильтры. Виды *Methanosarcina* (рис. 89) имеют шаровидную форму, способны преобразовывать широкий спектр субстратов (ацетат, водород/углекислый газ, метиламины, метанол, формиат) [36, 44].

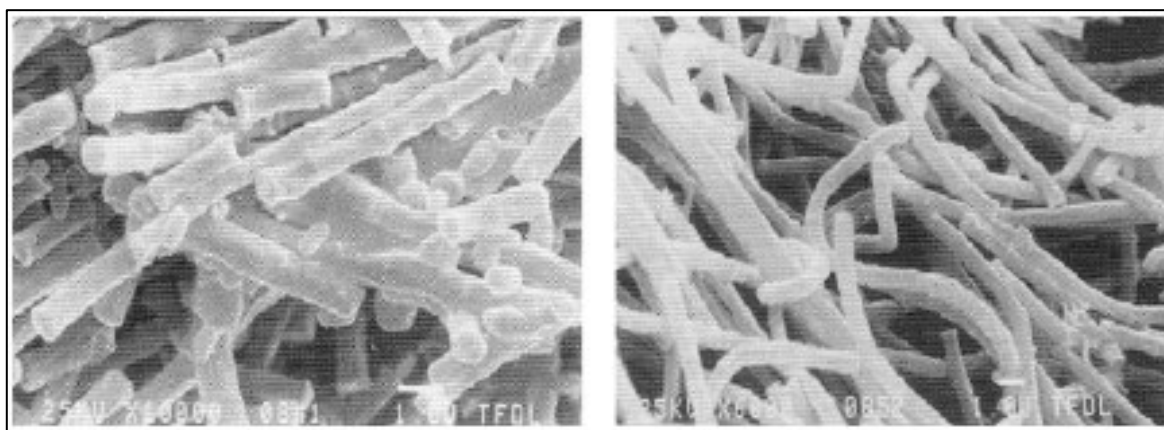


Рис. 88. Метаногенные археи *Methanosaeta* [36]

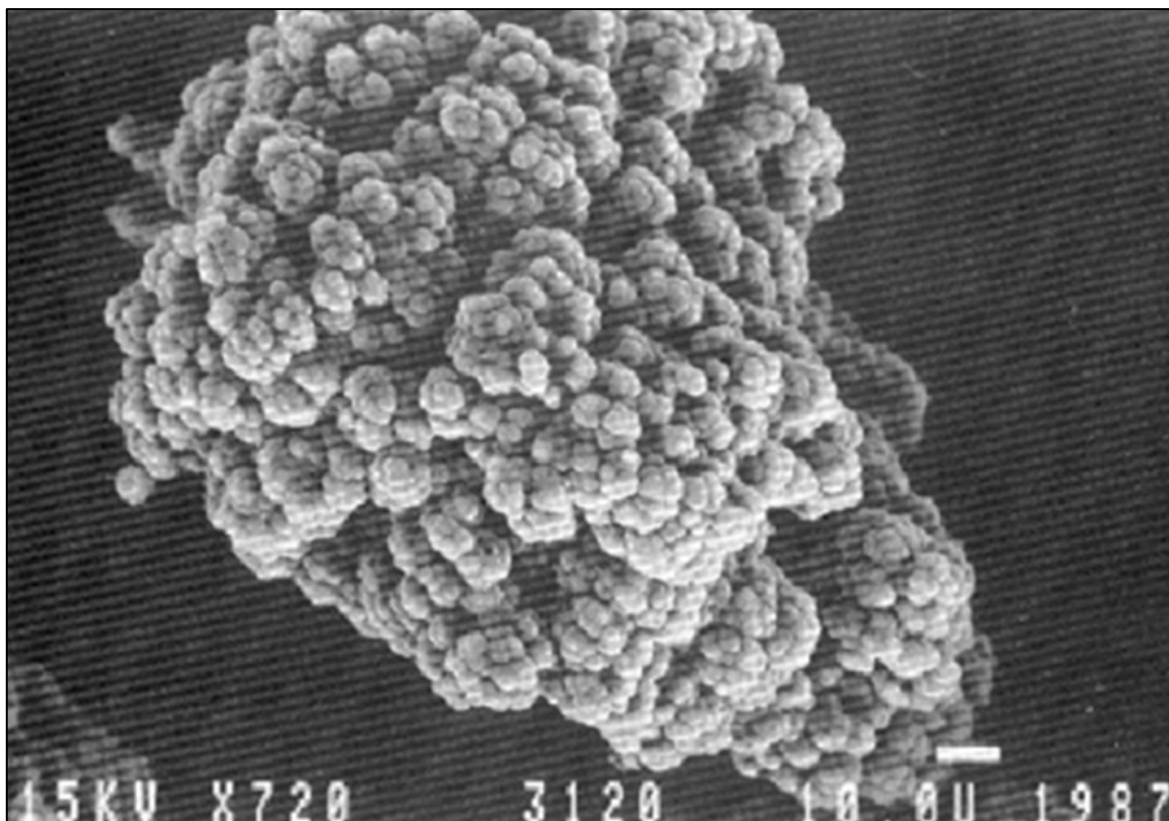


Рис. 89. Метаногенные археи *Methanosarcina* [36]

Микроорганизмы метаногенного сообщества анаэробного активного ила способны образовывать агрегаты – гранулы (рис. 90), которые формируются в результате совместного агрегирования суспендированных частиц и растущих бактерий. Под действием восходящего потока воды более легкие частицы и неагрегированные бактерии вымываются, агрегаты остаются. Гранулы обладают высокой активностью и скоростью осаждения, что позволяет уменьшить требуемый объем реактора и увеличить допустимую норму загрузки органического вещества. Процесс грануляции и характеристики сформированного гранулированного ила зависят от условий загрузки, конфигурации системы и характеристик сточных вод, а также свойств микроорганизмов (их видового состава, соотношения, скорости роста и отмирания, морфологии, субстратной специфичности, гидрофобности, заряда поверхности, способности синтезировать специфические полимеры). Наиболее важными свойствами являются скорости роста и отмирания. Медленно растущие метаногенные и ацетогенные микроорганизмы формируют компактные плотные гранулы с хорошей осаждаемостью. Благодаря этой способности можно достичь высокой

концентрации биомассы, скорости сбраживания загрязнений и метаногенерации. На поверхности гранул присутствуют поры различной величины, служащие для транспорта субстрата и выхода биогаза. Внеклеточные полимеры (белки, липополисахариды) покрывают поверхность гранул. Важную роль в процессе грануляции играют археи родов *Methanosaeta* и *Methanosarcina*. *Methanosaeta* образуют хвосто- и клубкообразные структуры, внутри которых группируются микроколонии *Methanosarcina*, формируя агрегаты размером 1–5 мм. В образуемых гранулах снаружи развиваются сульфатредукторы, внутри – метаногены, в промежуточном слое – ацидогенные и ацетогенные бактерии, которые сбраживают субстраты и обеспечивают сульфатредукторов и метаногенов водородом и ацетатом. За счет формирования единой метаболической цепи, в которой продукты жизнедеятельности одних микроорганизмов служат энергетическим субстратом для других микроорганизмов, гранулы являются стабильными [36, 44].

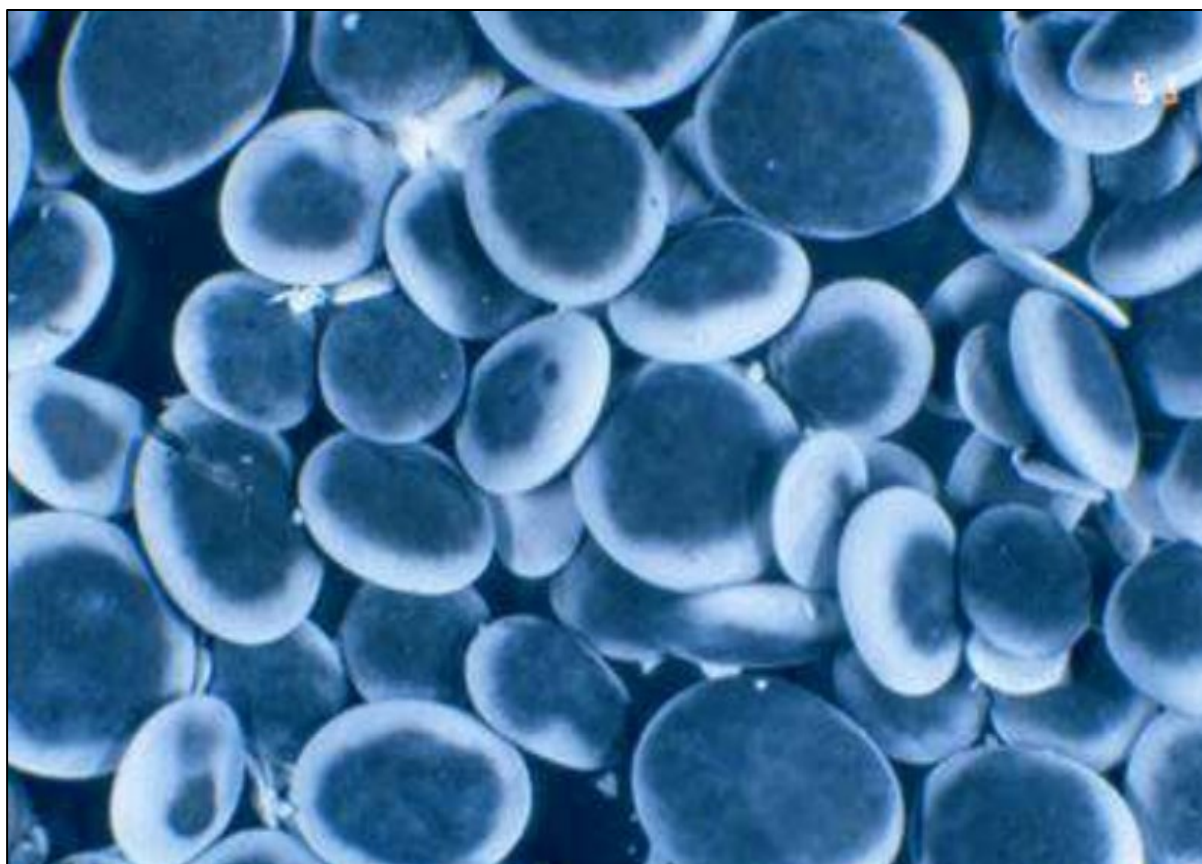


Рис. 90. Гранулы, полученные из сточных вод бумажной фабрики [36]

Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятия «сточные воды».
2. Приведите классификацию сточных вод в зависимости от источника загрязнений.
3. Приведите классификацию сточных вод в зависимости от природы загрязнений.
4. Приведите классификацию сточных вод в зависимости от уровня загрязнения.
5. Какие сточные воды относятся к бытовым?
6. Какие сточные воды относятся к производственным?
7. Какие сточные воды относятся к атмосферным?
8. Дайте определение понятия «очистка сточных вод».
9. Перечислите четыре группы методов очистки сточных вод.
10. Какие показатели необходимо учитывать при выборе методов очистки сточных вод?
11. Перечислите преимущества биологической очистки сточных вод.
12. Дайте определение понятия «биологические пруды».
13. Перечислите типы биологических прудов.
14. Дайте определение понятия «поля орошения».
15. Дайте определение понятия «поля фильтрации».
16. За счет каких процессов протекает очистка сточных вод на полях орошения и полях фильтрации?
17. Дайте определение понятия «коммунальные поля орошения».
18. Дайте определение понятия «земледельческие поля орошения».
19. Дайте определение понятия «биологические фильтры».
20. Перечислите основные типы систем биологической фильтрации.
21. На какие два основных типа подразделяются непрерывно действующие биофильтры?
22. Дайте определение понятия «аэротенк».
23. Дайте определение понятия «активный ил».
24. Перечислите три основные группы бактерий активного ила.

25. Какая бактерия играет основную роль в формировании способности к хлопьеобразованию и образованию полисахаридов в составе хлопьев активного ила?
26. Приведите примеры хламидобактерий активного ила.
27. Приведите примеры бактерий-нитрификаторов в микробиоценозе активного ила.
28. В чем состоит суть процесса нитрификации?
29. Приведите примеры бактерий-денитрификаторов в активном иле.
30. В чем заключается суть процесса денитрификации?
31. Какова роль тионовых бактерий в активном иле?
32. Приведите примеры тионовых бактерий в активном иле.
33. Какова роль серобактерий в активном иле?
34. Приведите примеры серобактерий в активном иле.
35. Какова роль сульфатредуцирующих бактерий в активном иле?
36. Приведите примеры бактерий-сульфатредукторов в активном иле.
37. Какова роль фосфатаккумулирующих бактерий в активном иле?
38. Приведите примеры фосфатаккумулирующих бактерий активного ила.
39. Какова роль цианобактерий в активном иле?
40. Приведите примеры цианобактерий в активном иле.
41. Какова роль литических бактерий в активном иле?
42. Приведите примеры литических бактерий активного ила.
43. Перечислите функции грибов, входящих в биоценоз активного ила.
44. Приведите примеры грибов, входящих в биоценоз активного ила.
45. Каковы функции простейших в микробиоценозе активного ила?
46. Перечислите основные группы простейших, входящих в состав микробиоценоза активного ила.
47. Перечислите функции беспозвоночных, обитающих в активном иле.

48. Приведите примеры беспозвоночных, обитающих в активном иле.
49. Дайте определение понятия «анаэробное сбраживание».
50. Перечислите преимущества анаэробной очистки сточных вод в сравнении с аэробной.
51. Перечислите недостатки анаэробной очистки сточных вод в сравнении с аэробной.
52. Перечислите основные условия успешной работы анаэробного реактора.
53. Перечислите основные группы анаэробных систем очистки сточных вод в зависимости от типа биомассы и её способа удержания в системе.
54. Приведите примеры систем анаэробной очистки сточных вод с взвешенно-седиментируемой биомассой.
55. Приведите примеры систем анаэробной очистки сточных вод с прикрепленной биомассой.
56. Перечислите основные этапы процесса анаэробной очистки сточных вод.
57. В чем состоит суть процесса гидролиза при анаэробной очистке сточных вод?
58. Приведите примеры микроорганизмов, осуществляющих гидролиз при анаэробной очистке сточных вод.
59. В чем состоит суть процесса ацидогенеза при анаэробной очистке сточных вод?
60. Приведите примеры микроорганизмов, осуществляющих ацидогенез при анаэробной очистке сточных вод.
61. В чем состоит суть процесса ацетогенеза при анаэробной очистке сточных вод?
62. Приведите примеры микроорганизмов, осуществляющих ацетогенез при анаэробной очистке сточных вод.
63. В чем состоит суть процесса метаногенеза при анаэробной очистке сточных вод?
64. Приведите примеры микроорганизмов, осуществляющих метаногенез при анаэробной очистке сточных вод.

Глава 5. БИОЛОГИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА БОРЬБЫ С ВРЕДИТЕЛЯМИ

5.1. Понятия пестицидов и биопестицидов

Пестициды – это ядовитые вещества, используемые для уничтожения вредителей и возбудителей болезней растений, а также различных паразитов, сорняков, вредителей зерна и зернопродуктов, древесины, изделий из хлопка, шерсти, кожи, эктопаразитов домашних животных, переносчиков опасных заболеваний человека и животных.

Классификация пестицидов в зависимости от направления действия представлена на рисунке 91. Наиболее широко применяемыми являются инсектициды, гербициды и фунгициды.



Рис. 91. Классификация пестицидов в зависимости от их направления действия

Преимущественно, пестициды используются в сельском хозяйстве в качестве средств защиты растений. Однако чрезмерное использование химических пестицидов создает опасность для окружающей среды из-за их низкой биоразлагаемости. Химические пестициды способствуют загрязнению почв, водных источников, приводят к уничтожению энтомологических сообществ. Около 5% внесенных пестицидов достигают целевых видов, оставшиеся 95% накапливаются в окружающей среде, оказывают токсическое воздействие на растения, животных и человека. Ежегодно в мире регистрируется около миллиона случаев смерти и хронических заболеваний в результате отравления пестицидами. В настоящее время некоторые пестициды запрещены на постоянной основе (хлорорганические и фосфорорганические соединения). Примером может служить ДДТ (дихлордифенилтрихлорэтан), период полураспада которого в окружающей среде достигает 20 лет. Для эффективного снижения воздействия химических пестицидов на окружающую среду разрабатываются экологически чистые альтернативы. Одной из многообещающих альтернатив является использование биопестицидов [2].

Биопестицид – это биологическое вещество или организм, который повреждает, убивает или отпугивает организмы, рассматриваемые как вредители.

Биопестициды представляют меньший риск для окружающей среды и людей по сравнению с синтетическими пестицидами. Использование биопестицидов в мире ежегодно увеличивается примерно на 10%. В 2014 году Агентство по охране окружающей среды США зарегистрировало более 430 активных биопестицидных ингредиентов и более 1320 продуктов. Общий годовой объем мирового производства биопестицидов составляет более 3000 тонн, и этот показатель быстро растет. Один биопестицид может выполнять более одной вторичной функции по отношению к целевому организму (вредителю). Современные биопестициды используют несколько механизмов действия. Данный фактор снижает риск появления резистентности и способствует установлению физиологического взаимодействия конкретных микроорганизмов с узким кругом хозяев. Такой принцип действия является преимуществом перед химическими пестицидами, так как единый механизм действия синтетических пестицидов является одной из вероятных причин развития резистентности [2].

Основные преимущества и недостатки биопестицидов в сравнении с химическими пестицидами приведены в таблице 10.

Таблица 10. Преимущества и недостатки биопестицидов

Преимущества	Недостатки
1) Высокая видоспецифичность. 2) Отсутствие токсичных остатков. 3) Способность к биологическому разложению. 4) Низкий риск развития резистентности у целевых видов. 5) Меньшее воздействие на окружающую среду, в сравнении с химическими пестицидами.	1) Низкая скорость действия. 2) Переменная эффективность из-за влияния различных факторов (в связи с тем, что некоторые биопестициды представляют собой живые организмы). 3) Непреднамеренные последствия: биопестициды широкого спектра действия могут представлять риск для нецелевых местных опылителей (например, в случае инсектицида спиносад и пчёл <i>Melipona quadrifasciata</i> [71])

Биопестициды воздействуют на целевые организмы различными способами. Биологические способы воздействия подразумевают хищничество или конкуренцию. Химические или биохимические методы борьбы с популяциями вредителей осуществляются путем изменения биохимических соединений или гормонов и, как следствие, нарушения нормального жизненного цикла вредителей. В связи с этим, для разработки и использования биопестицидов необходимо изучение структуры природных сообществ, взаимосвязей популяций различных видов в экосистемах, а также факторов, регулирующих численность этих популяций.

Классификация наиболее распространенных биопестицидов по механизму действия представлена на рисунке 92.



Рис. 92. Классификация биопестицидов по механизму действия

1. **Микробиологические биопестициды** – микроорганизмы, которые борются с вредителями. К используемым микроорганизмам относятся бактерии, грибы, вирусы, простейшие, нематоды, которые либо встречается в природе, либо являются продуктом генной инженерии.

2. **Биохимические пестициды** – это природные вещества, которые борются с вредителями с помощью нетоксичных механизмов. Они отличаются от обычных пестицидов своей структурой, источником и механизмом действия. К биохимическим пестицидам относятся:

- регуляторы роста растений;
- вещества, препятствующие спариванию насекомых и увеличению их популяции (феромоны насекомых);
- вещества, отпугивающие вредителей (ароматические экстракты, растительные масла);
- вещества, привлекающие вредителей в ловушки (ароматические экстракты, растительные масла).

3. **Защитные средства, инкорпорированные в растения** (Plant-Incorporated Protectants, PIPs) – натуральные пестицидные вещества, вырабатываемые генетически модифицированными растениями, в которые был введен генетический материал микроорганизмов. Впоследствии такое генетически модифицированное растение со встроенной системой защиты вырабатывает пестицидный белок, который делает его устойчивым к атакам вредителей. Протекторные гены в основном принадлежат изолятам бактерии *Bacillus thuringiensis* (Bt).

Одним из популярных примеров защитных средств, инкорпорированных в растения, являются трансгенные растения с cгу- генами,

экспрессирующими кристаллы белковых инсектицидных δ -эндотоксинов (cry-белки). Cry-токсины, полученные из штаммов Bt, обладают специфической активностью против видов насекомых из отрядов чешуекрылые (*Lepidoptera*), жесткокрылые (*Coleoptera*), перепончатокрылые (*Hymenoptera*). Насекомые, питающиеся трансгенными растениями, поглощают cry-токсины. Щелочной пищеварительный тракт насекомых денатурирует нерастворимые кристаллы, делая их растворимыми и, таким образом, поддающимися расщеплению протеазами. Из кристаллов высвобождается активная форма cry-токсина, которая проникает в клеточную мембрану кишечника насекомого, парализует пищеварительный тракт и образует поры. В результате насекомое перестает питаться и умирает от голода. Спектр действия δ -эндотоксинов представлен на рисунке 93.

Другим примером являются генетически модифицированные растения с Vip-генами, экспрессирующими синтез вегетативных инсектицидных белков (Vip-белков – Vegetative Insecticidal Protein). К растительным культурам, в состав которых были включены гены с пестицидными свойствами, относятся: хлопчатник, кукуруза, соя, табак, сахарный тростник, картофель, слива, томаты, капуста, люцерна посевная. Генетически модифицированные сорта растений, устойчивые к вредителям и производящие натуральные биоразлагаемые белки, не оказывают вредного воздействия на животных и человека. Недостатком данного метода является отсутствие воздействия на насекомых из отрядов Двукрылые (*Diptera*) и Равнокрылые (*Homoptera*), а также недостаточная изученность долгосрочного воздействия на здоровье человека [2, 72].

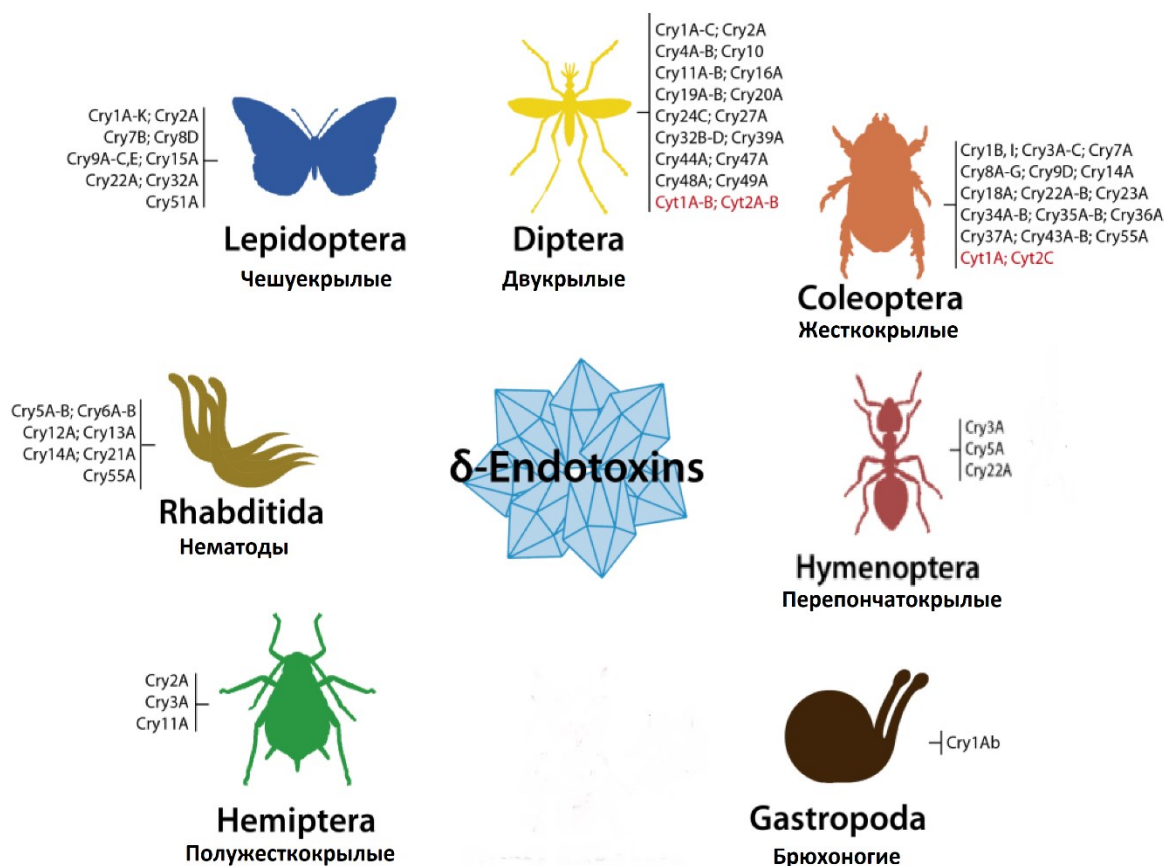


Рис. 93. Спектр действия δ -эндотоксинов [73]

4. Пестициды, подавляющие гены, основанные на процессе РНК-интерференции. РНК-интерференция (RNAi) – это консервативный биологический процесс посттранскрипционного подавления генов, запускаемый двухцепочечной РНК (рис. 94). Интерференция РНК используется в создании инсектицидов, принципом работы которых является подавление экспрессии гена-мишени у определенного вида насекомого-вредителя. РНК-интерференция представляет собой регуляторный механизм, контролирующий уровень содержания информационной РНК. Данный процесс осуществляется двумя путями: подавлением транскрипции (транскрипционное выключение генов); путем активации процесса деградации информационной РНК на основе гомологии (посттранскрипционное выключение генов). Посттранскрипционное выключение генов включает в себя продуцирование двухцепочечной РНК (дцРНК), представляющую собой РНК-копию гена-мишени. Такая двуцепочечная РНК носит название интерферирующей. Метод в основном заключается в доставке в цитоплазму клеток насекомого экзогенной дцРНК, комплементарной со-

ответствующей последовательности информационной РНК. Для доставки дцРНК в организм насекомого-мишени могут использоваться генетически модифицированные растения, экспрессирующие дцРНК. Другим способом, не изменяющим геном растения, является попадание в организм насекомого в составе внешнего продукта (с помощью опрыскиваний, замачивания корней растений). Эффективность РНК-интерференции варьируется у разных видов насекомых. Эпителий средней кишки насекомых считается наиболее удобным для доставки дцРНК. После проникновения интерферирующей РНК в организм насекомого, блокируется ген, необходимый для деления клеток. Насекомое не может создавать новые функционирующие клетки и погибает. Чтобы механизм РНК-интерференции был эффективным, экзогенная дцРНК должна оставаться стабильной при попадании внутрь клеток. В связи с отсутствием у насекомых РНК-зависимой РНК-полимеразы, амплификация дцРНК невозможна, поэтому в организм насекомого дцРНК должна поступать непрерывно и в достаточно большом количестве, иначе умолкание гена может быть неполным и не приводить к летальному исходу. Кроме того, успех РНК-интерференции в защите растений зависит от подбора подходящих генов-мишеней. Идентифицирован ряд белков насекомых, гены которых могут быть хорошими целями для глушения. Первым биотехнологическим растением со встроенной системой защиты, основанной на механизме РНК-интерференции, была генетически-модифицированная слива, продуцирующая дцРНК, нацеленную на ген белка оболочки вируса скрытой мозаики сливы. Также выведен генетически-модифицированный сорт папайи, дцРНК которого нацелена на ген белка оболочки вируса кольцевой пятнистости. РНК-интерференция используется для борьбы с такими насекомыми, как: долгоносики *Cylas puncticollis*, *Cylas bunneus*, *Cylas formicarius*, колорадский жук (*Leptinotarsa decemlineata*), совка восточная луговая (*Mythimna separata*), совка помидорная (*Spodoptera exigua*), тутовый шелкопряд (*Bombyx mori*), хрущак малый булавоусый (*Tribolium castaneum*), паразитический наездник *Leptocybe invasa*, и другие. К негативным последствиям применения биопестицидов, подавляющих гены, основанные на процессе РНК-интерференции, относятся: непреднамеренные эффекты, воздействующие на нецелевых насекомых-

опылителей, возможный дрейф РНК за пределы видовых границ [72, 74].

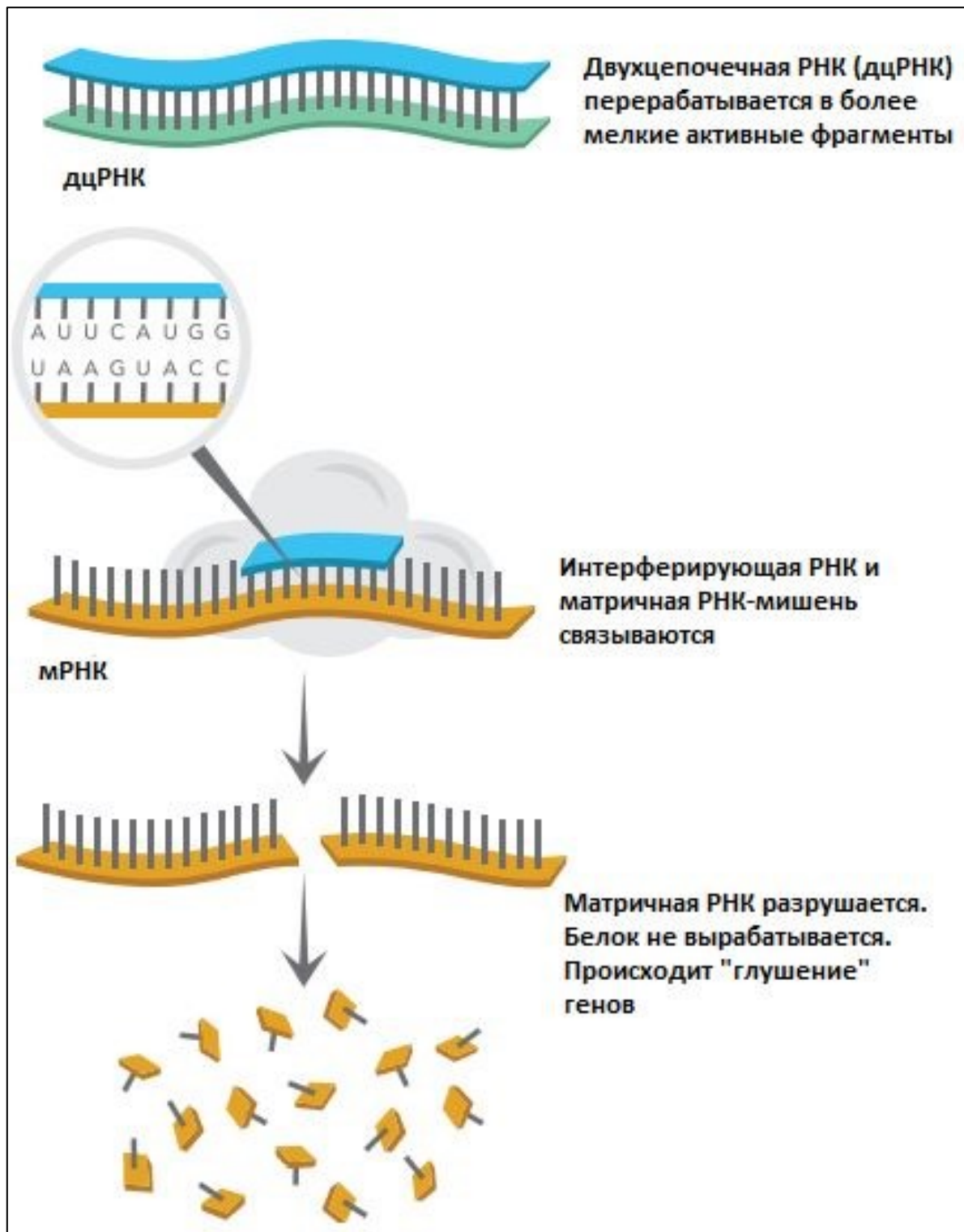


Рис. 94. Механизм РНК-интерференции [74]

В данном пособии будут рассмотрены два основных направления применения биопестицидов (рис. 95): борьба с вредителями сельскохозяйственных культур, борьба с переносчиками заболеваний человека и животных.



Рис. 95. Основные направления применения биопестицидов

5.2. Применение биопестицидов в борьбе с вредителями сельскохозяйственных культур

Биопестициды являются инструментом нового поколения для производства экологически чистых сельскохозяйственных продуктов.

При разработке биопестицидов, применяемых для нужд сельского хозяйства, отбор микроорганизма из природных источников проводится с учетом следующих свойств:

- 1) выраженная антагонистическая и энтомоцидная активность, основанная на биосинтезе антимикробных и энтомоцидных метаболитов;

- 2) высокая адаптационная способность и конкурентоспособность в микробоценозах, обусловленная низкой чувствительностью к биоценотическим факторам;
- 3) технологичность, связанная со способностью утилизировать дешевые и недефицитные источники питания, высокой скоростью роста, устойчивостью к бактериофагам;
- 4) длительное сохранение стабильности фитозащитного действия;
- 5) экологичность в использовании [4].

5.2.1. Борьба с вирусными болезнями растений

Среди заболеваний растений, вирусные заболевания являются вторыми по численности после грибковых. В Девятом докладе Международного комитета по таксономии вирусов перечислено 950 видов вирусов растений. Они представляют угрозу для многих сельскохозяйственных культур, овощей, декоративных растений, что влияет на урожайность, качество продукции и наносит серьезный вред сельскому хозяйству. Ежегодно во всем мире вирусы растений наносят экономический ущерб на сумму до 60 миллиардов долларов. В настоящее время достигнут большой прогресс в исследованиях биопестицидов вируцидного действия. К активным компонентам таких препаратов относятся белки, полисахариды и малые молекулы (алкалоиды, флавоноиды, фенолы, эфирные масла), выделенные из растений, белки и полисахариды микроорганизмов, полисахариды водорослей и олигохитозан животных [75].

Противовирусные препараты растительного происхождения

С тех пор, как в 1914 году Гарри Аллард впервые обнаружил, что сок черноплодной рябины может подавлять вирусную активность, начался поиск противовирусных веществ из растительных ресурсов. К настоящему времени обнаружено, что многие виды растений из разных семейств обладают способностью подавлять вирусы. Примерами служат: целозия гребенчатая (*Celosia cristata* L.), лаконос американский (*Phytolacca americana* L.), хлопчатник (*Gossypium* spp.), свёкла обыкновенная (*Beta vulgaris*), шпинат огородный (*Spinacia oleracea* L.), марь гигантская (*Chenopodium amaranticolor*), марь белая (*Chenopodium album* L.), марь гибридная (*Chenopodium serotinum* L.),

хоста подорожниковая (*Hosta plantaginea* Aschers), айлант высочайший (*Ailanthus altissima*), бруcea яванская (*Brucea javanica* L.), пикрасма квассиевидная (*Picrasma quassioides*), мирабилис слабительный (*Mirabilis jalapa* L.), тис остроконечный (*Taxus cuspidata*), воробейник краснокорневой (*Lithospermum erythrorhizon*), ревень пальчатый (*Rheum palmatum*), череда волосистая (*Bidens pilosa*), лопух большой (*Arctium lappa* L.), полынь Аржи (*Artemisia argyi*), латук татарский (*Lactuca tatarica*), синейлезис борцоволистный (*Syneilesis aconitifolia*), хеномелес китайский (*Chaenomeles sinensis*), термопсис ланцетный (*Thermopsis lanceolata*), орех грецкий (*Juglans regia*), сумах яванский (*Rhus javanica* L.), скумпия кожевенная (*Cotinus coggygria*), роджерсия подофилловая (*Rodgersia podophylla*), семиаквилегия адоксовидная (*Semiaquilegia adoxoides*), прострел китайский (*Pulsatilla chinensis*), ярутка полевая (*Thlaspi arvense*), портулак огородный (*Portulaca oleracea*), форзиция свисающая (*Forsythia suspensa*), кассия трубчатая (*Cassia fistula*), чабер горный (*Satureja montana*), бузина Вильямса (*Sambucus williamsii*), клеродендрум колючий (*Clerodendrum aculeatum*), момордика харанция (*Momordica charantia*), циамопсис четырехкрыльниковый (*Cyamopsis tetragonoloba*), арундина злаколистная (*Arundina graminifolia*), имбирь аптечный (*Zingiber officinale*), камелия китайская (*Camellia sinensis*), членобородник лимонный (*Cymbopogon citratus*), чий блестящий (*Achnatherum splendens*), лимонник красноцветковый (*Schisandra rubriflora*), и другие.

Для успешной конкуренции и устойчивости к стрессам растения вырабатывают вторичные метаболиты со специфической биологической активностью. Наибольшее количество противовирусных веществ относится к белкам, далее следуют алкалоиды, флавоноиды, фенолы, эфирные масла и полисахариды [75].

К защитным противовирусным белкам относятся:

- гликопротеины, богатые гидроксипролином;
- амилазы;
- белки, ингибирующие полигалактуроназу;
- белки, богатые глицином;
- липоксигеназы;
- лектины;
- белки, богатые цистеином;

- белки, инактивирующие рибосомы.

Примерами белков, инактивирующих рибосомы, служат:

- Beetin 27, полученный из листьев сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.). Он проявляет биологическую активность *in vitro* и имеет широкий спектр действия против нескольких типов вирусов.

- Противовирусный белок, выделенный из растения *Bougainvillea xbuttiana*, обладающий высоким уровнем устойчивости к вирусу табачной мозаики.

- В ягодах бузины обнаружено несколько белков, инактивирующих рибосомы, обладающие активностью против вируса табачной мозаики.

- CAP-34, выделенный из клеродендрума (*Clerodendrum aculeatum*). Индуцирует системную противовирусную резистентность, проявляет ингибирующий эффект по отношению к вирусу кольцевой пятнистости папайи.

- CT-VIA-62, выделенный из циамопсиса четырехкрыльникового (*Cyamopsis tetragonoloba*) обладает системной противовирусной устойчивостью.

- CCR-25 и CCR-27, выделенные из листьев целозии гребенчатой (*Celosia cristata*), активны против вируса табачной мозаики.

- Противовирусный белок, выделенный из лаконоса американского (*Phytolacca americana* L.), обладает широким спектром противовирусной активности в отношении вируса табачной мозаики и других.

К растениям, вырабатывающим противовирусные белки также относятся марь гигантская (*Chenopodium amaranticolor*) и мирабилис слабительный (*Mirabilis jalapa* L.) [75].

Активностью против вируса табачной мозаики обладает лектин, выделенный из морской водоросли *Ulva pertusa*.

Алкалоиды являются биологически активными компонентами, содержащимися во многих лекарственных растениях. В настоящее время открыто более 18000 алкалоидов. Примерами могут служить:

- Бруцein-D, выделенный из бруцеи яванской (*Brucea javanica* L.). Проявляет ингибирующий эффект в отношении Y-вируса картофеля, вируса табачной мозаики, вируса огуречной мозаики.

- 7-дезокситранс-дигидронарциклазин, выделенный из хосты подорожниковой (*Hosta plantaginea*). Проявляет сильную активность против вируса табачной мозаики.

- Квазиноиды javanicolide E, javanicolide F и C-20 проявляют сильную активность против вируса табачной мозаики.

- Алкалоиды, выделенные из цинанхума (*Cynanchum komarovii*) проявляют активность против вируса табачной мозаики.

- β-карболиновые алкалоиды, выделенные из древесины пикрасмы квассиевидной (*Picrasma quassioides*), проявляют активность против вируса табачной мозаики [75].

Флавоноиды – крупнейший класс растительных полифенолов, в настоящее время их известно около 10000. Выделены из различных растений. Примером может служить флавоноид кверцетегетин, выделенный из василька скального (*Centaurea rupestris* L.), который проявляет выраженный ингибирующий эффект в отношении вируса томатной лихорадки [75].

К фенольным соединениям относятся антоцианы, процианидины, эллагитаннины, гидроксикиннаматы. Активность против вируса табачной мозаики проявляют:

- противовирусные соединения Gramniphénol C, Gramniphénol F, Gramniphénol G, выделенные из арунды злаколистной (*Arundina graminifolia*;

- госсипол, полученный из шлама хлопкового масла;

- шизангенол, выделенный из лимонника красноцветкового (*Schisandra rubriflora*) [75].

Эфирные масла – это многокомпонентные жидкие смеси с низкой молекулярной массой нерастворимые в воде. Обычно содержатся в масляных каналах, смоляных ходах, желёзках, трихомах растений. Эфирные масла обладают антисептическими, свойствами и играют важную роль в механизмах защиты растений в качестве противовирусных, антибактериальных, противогрибковых и инсектицидных средств. Например, карвакрол и тимол являются основными соединениями эфирного масла, получаемого из чабера горного (*Satureja montana*). Они проявляют активность против вируса табачной мозаики и вируса огуречной мозаики. Эфирные масла, выделенные из имбиря, лимона, чайного дерева, кожуры мандарина, артемизии и лемонграсса также подавляют вирус табачной мозаики [75].

Полисахариды – это высокомолекулярные сложные углеводные молекулы, которые обладают широким спектром биологической активности. Некоторые растительные полисахариды обладают противовирусной активностью. Например, фруктоолигосахарид, выделенный из корней лопуха большого (*Arctium lappa L.*), повышает устойчивость растений к вирусу табачной мозаики [75]. Эффективной антивирусной активностью обладают полисахариды морских водорослей. Активностью против вируса табачной мозаики обладает каппа/бета-каррагинан из красной морской водоросли трихокарпус косматый (*Tichocarpus crinitus*).

Противовирусные препараты на основе грибов

Грибы, бактерии и актиномицеты являются основными микроорганизмами, которые содержат вещества, противодействующие растительным вирусам [75].

Главными противовирусными активными компонентами грибов являются полисахариды, полисахаридные пептиды и белки. Грибковые полисахариды и полисахаридные пептиды с противовирусной активностью были выделены из трутовика разноцветного (*Coriolus versicolor*), навозника белого (*Coprinus comatus*), лентинулы съедобной (*Lentinus edodes*), вешенки обыкновенной (*Pleurotus ostreatus*), опенка зимнего (*Flammulina velutiper*). Белки, проявляющие активность против вирусов растений, выделены из грибов лентинула съедобная (*Lentinus edodes*), вешенка лимонная (*Pleurotus citrinopileatus*), вешенка степная (*Pleurotus eryngii*), агроцибе цилиндрическая (*Agrocybe aegerita*), опенок зимний (*Flammulina velutiper*) и *Alternaria tenuissima* [75].

Противовирусные препараты бактериального происхождения

Среди бактерий, используемых против вирусов растений, примерами служат:

- Бактерии рода *Bacillus*, которые способны индуцировать развитие системной устойчивости в растениях против вируса табачной мозаики, вируса картофеля Y.
- Штамм бактерий *Rhodopseudomonas palustris* GJ-22 уменьшает степень поражения вирусом табачной мозаики и вирусом картофеля Y, увеличивая активность транскрипции защитных генов PR-1, PR-5, PR-3 и PR-6.

- Фильтрат культуры *Serratia marcescens* Gsm01 проявляет активность против вируса огуречной мозаики.

- Белки, выделенные из штамма *Pseudomonas fluorescens* CZ, а также циклический пептид из *Pseudomonas chlororaphis* О6. Проявляют активность против вируса табачной мозаики [75, 76, 80]

Из актиномицетов выделены следующие вещества, обладающие активностью против вируса табачной мозаики:

- нингнанмицин – из *Streptomyces noursei* var. *xichangensis*;
- цитозинпептидемицин – из *Streptomyces ahygroscopicus*;
- гликопротеин GP-1 – из *Streptomyces* sp. ZX01 [75].

Противовирусные препараты животного происхождения

В организме животных содержится гораздо меньше веществ, противодействующих растительным вирусам, по сравнению с растениями и микроорганизмами. Одними из противовирусных соединений животного происхождения являются хитозан и олигохитозан. Хитозан – это продукт деацетилирования хитина. Хитин – это полисахарид, который образует наружный скелет большинства беспозвоночных животных. Таким образом, хитозан получают промышленным способом из хитина путем деацетилирования. Олигохитозан – это продукт ферментативного гидролиза хитозана. Хитозан индуцирует устойчивость к вирусным заболеваниям, препятствуя распространению вирусов и вирионов. Данное вещество используется против Х вируса картофеля, вируса мозаики томата, вируса мозаики люцерны, вируса мозаики табака, вируса мозаики кабачков [75, 77].

5.2.2. Борьба с бактериальными заболеваниями растений

Бактерициды – это препараты, используемые для уничтожения бактерий и прекращения их роста.

Биологические бактерициды представляют собой препараты на основе биологических агентов, которые используются для уничтожения бактерий.

Антибактериальные препараты вирусного происхождения

Широко используются антибактериальные препараты на основе бактериофагов (табл. 11). Бактериофаги – это группа вирусов, заражающих бактериальные клетки, которые состоят из генома ДНК, инкапсулированного в белковую оболочку. Антибактериальные био-

стициды на основе бактериофагов разработаны против следующих бактериальных фитопатогенов: *Erwinia amylovora*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris* pv. *Vasicatoria*, *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*, *Xanthomonas arboricola* pv. *Pruni*, *Xyllela* sp., *Dickeya* sp., *Pectobacterium* sp.

Таблица 11. Преимущества и недостатки бактериофагов в сравнении с другими антибактериальными препаратами

Преимущества	Недостатки
1) Являются самовоспроизводящимися и самодозирующимися агентами. После уничтожения хозяина, они самоограничиваются, в отличие от химических или других клеточных биологических агентов. Таким образом, количество фагов в окружающей среде остается регулируемым. 2) Не влияют на эукариотические клетки. 3) Не влияют на нецелевые микроорганизмы. 4) Сохраняются в почве. 5) Разработка формул фаговых препаратов является относительно быстрой и экономичной по сравнению с другими противомикробными препаратами. 6) Демонстрируют высокую степень генетической пластичности, могут быть сконструированы для экспрессии различных типов лекарств и ферментов. 7) Фаги и литические ферменты на их основе более эффективны против фитопатогенов, образующих биопленки. 8) Могут использоваться в качестве диагностических биосенсоров и для профилактических мер по борьбе с фитопатогенами.	1) Плохая стойкость фагов к физико-химическим факторам среды (температура, pH, влажность, ультрафиолетовое излучение, фитохимические вещества, вырабатываемые растениями). 2) Устойчивость хозяина к фагам из-за таких механизмов, как редактирование рецепторов хозяина, образование капсул экзополисахаридов, связанных с образованием биопленки, фаговый иммунитет за счет CRISPR и систем модификации рестрикции. 3) Возможен плохой транспорт фагов к фитопатогену. Фитопатогены, инфицирующие сосудистую ткань или межклеточную мезофилловую ткань могут быть недоступны для местного применения фагов.

Антибактериальные препараты животного происхождения

К антибактериальным препаратам животного происхождения относится хитозан и его производные. Они ингибируют рост бактерий, преимущественно, грамположительных (например, кишечная палочка (*Escherichia coli* Migula), золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus* Rosenbach), сиреневый псевдомонас (*Pseudomonas syringae* van Hall), *Agrobacterium tumefaciens*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*) [77].

5.2.3. Борьба с грибковыми болезнями растений

Биофунгициды – это препараты на основе микроорганизмов или биологически активных веществ, обладающих способностью подавлять развитие болезнетворных грибов. Данные препараты обеспечивают биологическую защиту растений от микозов. Механизм их действия заключается в подавлении развития фитопатогенных грибов путем воздействия на них прямым паразитированием, конкуренцией за субстрат, выделением биологически активных веществ (ферментов, антибиотиков и других) [4]. Наиболее экологичным методом детоксикации микотоксинов в растительном сырье при заражении растений токсиногенными грибами считается использование микроорганизмов-деструкторов микотоксинов.

Биофунгициды бактериального происхождения

Примерами биофунгицидных бактерий являются:

- сенная палочка (*Bacillus subtilis*). Штаммы данного микроорганизма ингибируют грибы *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Alternaria alternata*, *Rhizoctonia solani*, *Podosphaera leucotricha*, *Pyricularia oryzae* Cav., *Peronosclerospora philippinensis*, *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum falcatum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium solani*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusicladium dendriticum*, *Sphaerotheca mors-uvae*, а также представителей родов *Mucor* и *Candida*, вызывающие болезни растений. Антифунгицидная активность *Bacillus subtilis* связана со способностью синтезировать липопептидные соединения (сурфактин, итурин, фенгизин), механизм воздействия которых связан с влиянием на мембраны грибов, приводя к образованию пор и последующему лизису клеток. Также штаммы этой бактерии синтезируют ряд антибиоти-

ков. На основе *Bacillus subtilis* разработаны такие препараты, как: «Алирин-Б», «Баксис», «Бактофит», «Витаплан», «Гамаир», «Фитоспорин-М» [78].

- штаммы *Bacillus velezensis* способны продуцировать липопептидные фунгициды. Используются для борьбы с *Xanthomonas oryzae*, *Penicillium digitatum* и другими фитопатогенными грибами. Вторичные метаболиты *Bacillus velezensis* обладают антибактериальной активностью широкого спектра действия [79].

- штаммы *Bacillus amyloliquefaciens* также способны продуцировать липопептидные фунгициды, преимущественно – итурин. Используются против грибов *Fusarium oxysporum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, и *Alternaria sp.* Штамм *Bacillus amyloliquefaciens* КС-2 входит в состав препарата «БФТИМ КС-2» [76].

- *Bacillus aryabhatai* продуцирует хитиназу с двумя N-концевыми LysM-доменами, позволяющими эффективно разрушать кристаллический хитин и подавлять развитие гриба *Fusarium oxysporum* [76].

- *Pseudomonas aureofaciens*. Штамм *Pseudomonas aureofaciens* BS 1393 является активным компонентом препарата «Псевдобактерин-2». Штамм *Pseudomonas aureofaciens* OV 17, выделенный из ризосферы овса, является активным компонентом препарата «Псевдобактерин-3». Штамм *Pseudomonas aureofaciens* Н-16 входит в состав препарата «Агат-25К». Данные биофунгициды проявляют высокую активность против таких фитопатогенных грибов, как: *Alternaria alternata*, *Blumeria graminis*, *Phytophthora infestans*, *Gaeumannomyces graminis*, *Rhizoctonia cerealis*, *Rhizoctonia solani*, *Cercospora herpotrichoides*, *Fusarium graminearum*, *Helmintosporium sativum*, *Pythium debaryanum*, *Pseudoperonospora cubensis*, *Sclerotinia melophtorum*, *Cladosporium fulvum*, *Uncinula necator*. Перечисленные препараты на основе *Pseudomonas aureofaciens* предназначены для предпосевной обработки семян, и обработки сельскохозяйственных культур в период вегетации в целях защиты растений и посадочного материала от грибковых заболеваний.

- *Pseudomonas fluorescens* AP-33, является активным компонентом препаратов «Планриз» и «Ризоплан», которые эффективны против следующих фитопатогенных грибов: *Puccinia recondita*, *Septoria tritici*, *Botrytis cinerea*, *Blumeria graminis*, *Monilia cinerea*, *Cochliobolus*

sativus, *Pyrenophora teres*, *Rhizopus stolonifera*, *Rhynchosporium secalis*, *Rhizoctonia solani*, *Olpidium brassicae*. *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia spp.* Также данный штамм бактерий синтезирует вещества, стимулирующие рост и развитие растений.

- штаммы *Pseudomonas chlororaphis* синтезируют антифунгицидные метаболиты – феназиновые соединения. Эффективны против грибов рода *Fusarium* [80].

- штаммы *Streptomyces hygroscopicus* обладают выраженной антифунгицидной активностью, используются против грибов рода *Fusarium* (*F. oxysporum* и *F. culmorum*), аспергилла (*Aspergillus*), фитофторы (*Phytophthora capsici*). Входят в состав препарата «Метабактерин».

Биофунгициды на основе грибов

Биофунгициды грибкового происхождения представлены следующими грибами:

- Микромицет триходерма (*Trichoderma*) – наиболее используемый, является грибковым антагонистом, который прорастает в ткани болезнетворного гриба и выделяет ферменты, разрушающие его клеточные стенки, а также распространяет в нем собственные споры. К применяемым видам относятся: *Trichoderma lignorum*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma viride*. Используются против таких грибов, как: *Ceratobasidium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Phytophthora* [2, 4].

- *Metarhizium anisopliae* эффективен против *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*.

- Из эндофитного гриба *Epicoccum sp.* выделены поликетиды, обладающие активностью против грибов, поражающих какао [81].

Биофунгициды растительного происхождения

К биофунгицидам растительного происхождения относятся:

- Алкалоиды стахидрин, эхинопсин, которые эффективны против *Fusarium incarnatum* и *Candida albicans*.

- Эфирные масла, эффективные против грибковых заболеваний растений, выделены из пихты сибирской (*Abies sibirica*), тмина (*Cuminum cyminum*), эльсгольции реснитчатой (*Elsholtzia ciliata*), чабера горного (*Satureja montana*), тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris*), душицы обыкновенной (*Origanum vulgare*), алоизии прият-

нейшей (*Aloysia gratisima*), желтодревесника (*Zanthoxylum*), а также *Hyptis marrubiioides*, *Zataria multidlara*, *Cordia verbenaceae*.

- Полисахариды из морских водорослей ульва (*Ulva*) применяются против гриба *Colletotrichum gloesporioides*.

- Экстракты погонатерума косматого (*Pogonatherum crinitum*) эффективны против двадцати фитопатогенных грибов, в том числе *Rizoctonia solani*.

- Экстракт маклеи сердцевидной (*Macleaya cordata*) используется против ложной мучнистой росы огурца.

- Метанольные и этанольные экстракты чилийских растений фабиана черепитчатая (*Fabiana imbricate*), *Ephedra breana*, *Nolana sedifolia* применяются против гриба *Botrytis cinerea*.

- Экссудаты корней китайского лука-порея эффективны против гриба *Fusarium oxysporum*.

- Экстракты корней колеуса форсколии (*Coleus forskochlii*) ингибируют мицелиальный рост и споруляцию гриба *Alternaria solani*.

Биофунгициды животного происхождения

Среди биофунгицидов животного происхождения описано применение хитозана против следующих грибов: нейроспора густая (*Neurospora crassa*), пеницилл распростертый (*Penicillium expansum*), фузариум злаковый (*Fusarium graminearum*), ботритис серый (*Botrytis cinerea*), а также *Pythium aphanidermatum*, *Phytophthora infestans*, *Alternaria solani*, *Alternaria alternata*, *Rhizopus stolonifer*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Puccinia trititica*, *Monilinia fructicola*, *Cryptococcus laurentii*, *Pyricularia grisea*, *Colletotrichum spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Cladosporium spp.* [77].

5.2.4. Борьба с насекомыми-вредителями растений

Биологические инсектициды – это препараты на основе биологических агентов, которые используются для борьбы с насекомыми.

Биоинсектициды бактериального происхождения

Энтомопатогенные бактерии, в основном, принадлежат к семействам *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillaceae*, *Micrococcaceae*, *Bacillaceae*. Препараты на основе бактерий относятся к препаратам кишечного действия, поэтому они эффективны только

при высокой пищевой активности насекомого-вредителя [4]. Большинство промышленных штаммов относится к роду *Bacillus*.

- Более 90% бактериальных препаратов изготовлено на основе бактерии *Bacillus thuringiensis* (Bt), белки которой токсичны для насекомых. Например, *Bt var. kurstaki* эффективен в основном против гусениц, питающихся листвой, и южной амбарной огнёвки (*Plodia interpunctella*) на хранящемся зерне. Данный биоинсектицид подвергается биологическому разложению, быстро дезактивируется под воздействием солнечного света. *Bt var. tenebrionis* эффективен против личинок колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*) и листоеда-долгожителя. Разрушается под воздействием ультрафиолетового излучения и не подвергается интенсивному циркулированию в окружающей среде.

- Липопептиды штамма *Bacillus velezensis* ZLP-101 применяются против бобовой тли (*Acyrtosiphon pisum*) [79].

- На основе штамма *Streptomyces aurantiacus* 0775 создан препарат «Алейцид», эффективный против оранжерейной белокрылки (*Trialeurodes vaporariorum*) и других сосущих членистоногих [82]

- На основе штамма *Streptomyces loidensis* П-56 разработан препарат «Индоцид», эффективный против трипсов (*Thripidae*) и обыкновенного паутиного клеща (*Tetranychus urticae*) [82].

- На основе штамма *Streptomyces herbaricolor* S-100 создан препарат «Гербен», эффективный против тли бахчевой (*Aphis gossypii*), тли персиковой (*Myzodes persicae*), тли пятнистой оранжерейной (*Neomyzus circumflexus*), тли бобовой (*Aphis fabae*), тли гороховой (*Aphis pisum*) и обыкновенного паутиного клеща (*Tetranychus urticae*) [82].

Биоинсектициды на основе грибов

Микоинсектициды используются для борьбы со многими насекомыми-вредителями. Инфекционным материалом грибов при разработке биопестицидов преимущественно являются конидии. Действие препарата начинается с контакта споры (конидии) с наружными покровами насекомого. Конидии могут развиваться на поверхности кутикулы или прорасти в полость тела насекомого. Кроме того, грибы продуцируют биологически активные вещества, усиливающие их патогенность (токсины). Энтомопатогенные грибы в основном пред-

ставлены штаммами родов *Entomophthora* (рис. 96), *Beauveria* (рис. 97), *Metarhizium* (рис. 98), *Paecilomyces* (рис. 99), *Lecanicillium*.



Рис. 96. Взрослая навозная муха (*Scatophaga stercoraria*), пораженная грибом *Entomophthora muscae* [83]



Рис. 97. Взрослая весенняя капустная муха (*Delia radicum*), пораженная грибом *Beauveria bassiana* [83]



Рис. 98. Личинки темного шелкоуна (*Agrotus obscurus*), пораженные грибом *Metarhizium anisopliae* [83]



Рис. 99. Взрослый долгоносик, пораженный грибом *Paecilomyces farinosus* [83]

- *Beauveria bassiana* оказывает патогенное воздействие на насекомых-вредителей, включая клопов незара зеленая (*Nezara viridula*), полевого клопа (*Lygus hesperus*), слепняков (*Creontiades*), белокрылок (*Aleyrodidae*), тлей (*Aphidoidea*), трипсов (*Thysanoptera*), мучнистых червецов (*Pseudococcidae*), цикад (*Cicadellidae*) и других [2]. Микориза данного гриба совместно с наночастицами диоксида кремния применяется на растениях хлопчатника обыкновенного (*Gossypium hirsutum* L.) в качестве агента биоконтроля против хлопчатниковой листовертки (*Spodoptera littoralis*) [84].

- Препараты на основе гриба *Beauveria brongniartii* поражают широкий спектр жесткокрылых, полужесткокрылых, чешуекрылых и двукрылых. Используются против жуков усачей (*Cerambycidae*), хруща майского западного (*Melolontha melolontha*) и других вредителей сельскохозяйственных культур [83].

- Гриб *Metarhizium anisopliae*, открытый И.И. Мечниковым, широко используется в качестве биоинсектицида. Он поражает более 200 видов насекомых. Активен в отношении таких вредителей, как: саранча перелетная (*Locusta migratoria*), саранча пустынная (*Schistocerca gregaria*), таракан американский (*Periplaneta americana*), жук-листоед (*Brontispa longissima*), западный пятнистый огуречный

жук (*Diabrotica undecimpunctata*), скосарь одиночный (*Otiorhynchus sulcatus*), щитовки *Nilaparvata lugens*, хрущик японский (*Popillia japonica*) и другие жуки из семейства пластинчатоусые (*Adoryphorus coulonii*, *Antitrogus parvulus*, *Aphodius tasmaniae*, *Oryctes rhinoceros*, *Rhizotrogus majalis*), термиты, трипсы [85].

- Гриб *Lecanicillium lecanii* используется для борьбы с чешуекрылыми, полужесткокрылыми, двукрылыми вредителями цветов, овощей и других сельскохозяйственных культур [83].

- На основе *Lecanicillium muscarium* разработан препарат «Вертициллин М», эффективный против белокрылок (*Aleyrodidae*), тлей (*Aphidoidea*), трипсов (*Thripidae*), тетраниховых клещей (*Tetranychidae*) [82].

- *Paecilomyces fumosoroseus* применяются против белокрылок, трипсов, паутиного клеща и тли [83].

Преимуществами использования энтомопатогенных грибов в качестве биоинсектицидов является сохранение инвазионности в течение длительного времени, способность спор прорасти сквозь внешние покровы насекомого без проникновения в пищеварительный тракт. Также происходит последующее заражение в популяции насекомых от контакта с инфицированными особями. К недостаткам относятся относительно низкая вирулентность и скорость уничтожения насекомых в сравнении с химическими пестицидами, а также чувствительность к факторам окружающей среды.

Для повышения вирулентности и устойчивости энтомопатогенных грибов применяется их генетическая модификация. Ниже приведены некоторые примеры:

- Для повышения вирулентности, в геном *Lecanicillium lecanii* внедряют ген токсина скорпиона *Buthus martensi* (BmKit). Экспрессия данного гена повышает патогенность гриба против хлопковой тли (*Aphis gossypii*).

- *Beauveria bassiana* генетически модифицируют специфичным для насекомых нейротоксином скорпиона AaIT.

- *Beauveria bassiana* модифицируют геном протеазы PR1A, разрушающей кутикулу насекомых, выделенной из гриба *Metarhizium anisopliae*. Полученные штаммы эффективны против личинок гусениц *Dendrolimus punctatus* и большой восковой моли (*Galleria mellonella*).

- Модифицированный штамм гриба *Beauveria bassiana*, в который был внесен ген наездника (*Microplitis mediator*), экспрессирует белок VRF1 и обладает большей эффективностью против хлопковой совки (*Helicoverpa armigera*).

- В геном гриба *Metarhizium anisopliae* вносятся дополнительные копии гена, кодирующего регулируемую протеазу, разрушающую кутикулу (Pr1), что повышает токсичность против бражника табачного (*Manduca sexta*) [4, 86].

Биоинсектициды вирусного происхождения

Вирусные энтомопатогенные биопестициды обладают узкой специфичностью, высокой устойчивостью к неблагоприятным факторам окружающей среды и длительным сохранением активности вне хозяина. Среди патогенных вирусов насекомых наиболее широко изучены и часто встречаются представители семейства *Baculoviridae*, которое включает четыре рода:

- *Alphabaculovirus* – нуклеополигедровирусы отряда чешуекрылые (*Lepidoptera*),
- *Betabaculovirus* – грануловирусы отряда чешуекрылые (*Lepidoptera*),
- *Gammabaculovirus* – нуклеополигедровирусы подотряда сидячебрюхие (*Symphyta*),
- *Deltabaculovirus* – нуклеополигедровирусы отряда двукрылые (*Diptera*) [2, 4, 89].

Бакуловирусы – это крупные вирусы с двуцепочечной ДНК, распространяющиеся в форме окклюзионных телец, содержащих десятки вирионов. Окклюзионные тельца представляют собой многогранные белковые тельца, окружающие окклюзионные вирионы. Вирионы включают один или несколько нуклеокапсидов. Каждый нуклеокапсид содержит один вирусный геном. Окклюзионное тело защищает вирионы от факторов окружающей среды (рис. 100) [2, 4, 87–89].

Главным преимуществом бакуловирусов является высокая видоспецифичность. Они не оказывают негативного воздействия на растения, млекопитающих, птиц, рыб и нецелевых насекомых. Благодаря инсектицидной активности природные бакуловирусы используются в качестве безопасных и эффективных биопестицидов для защиты полевых и плодовых культур [2, 4, 88].

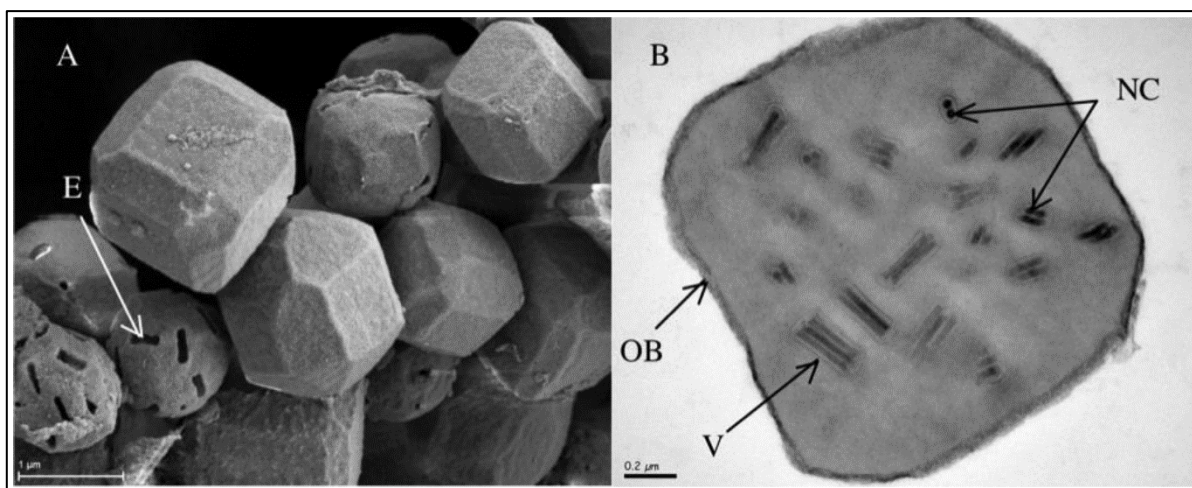


Рис. 100. Вирус *Autographa californica* (AcMNPV). А – Сканирующая электронная микроскопия окклюзионных тел. Е – Силуэты вирионов на очищенных окклюзионных телах. В – Просвечивающая электронная микроскопия поперечного сечения одного окклюзивного тела с вирионами в форме стержней (V) и нуклеокапсидами (NC) [87]

Поражение насекомых-вредителей происходит через пищеварительный тракт. Попадая в кишечник личинки насекомого, белковая оболочка вируса разрушается, бакуловирусы заражают клетку-хозяина и захватывают механизм её размножения. Высвобождаются новые вирусные частицы. В результате инфицирования личинки хозяина не способны переваривать пищу и погибают в течение нескольких дней после заражения [2, 4, 88].

Схематическое изображение цикла инфекции бакуловируса представлено на рисунке 101.

Бакуловирусы используют смешанную стратегию передачи – как горизонтальную, так и вертикальную (рис. 102). Горизонтальная передача заключается в распространении вируса в популяции от одного насекомого к другому. Вертикальная – передача вируса от матери к эмбриону. Горизонтальная передача является выгодной при высокой плотности хозяев, вертикальная передача предпочтительна при низкой плотности популяций. Личинки насекомых, которые проглатывают окклюзионные тела с пищей, но не погибают, могут продолжить развитие и превратиться во взрослых особей с латентной инфекцией [89].

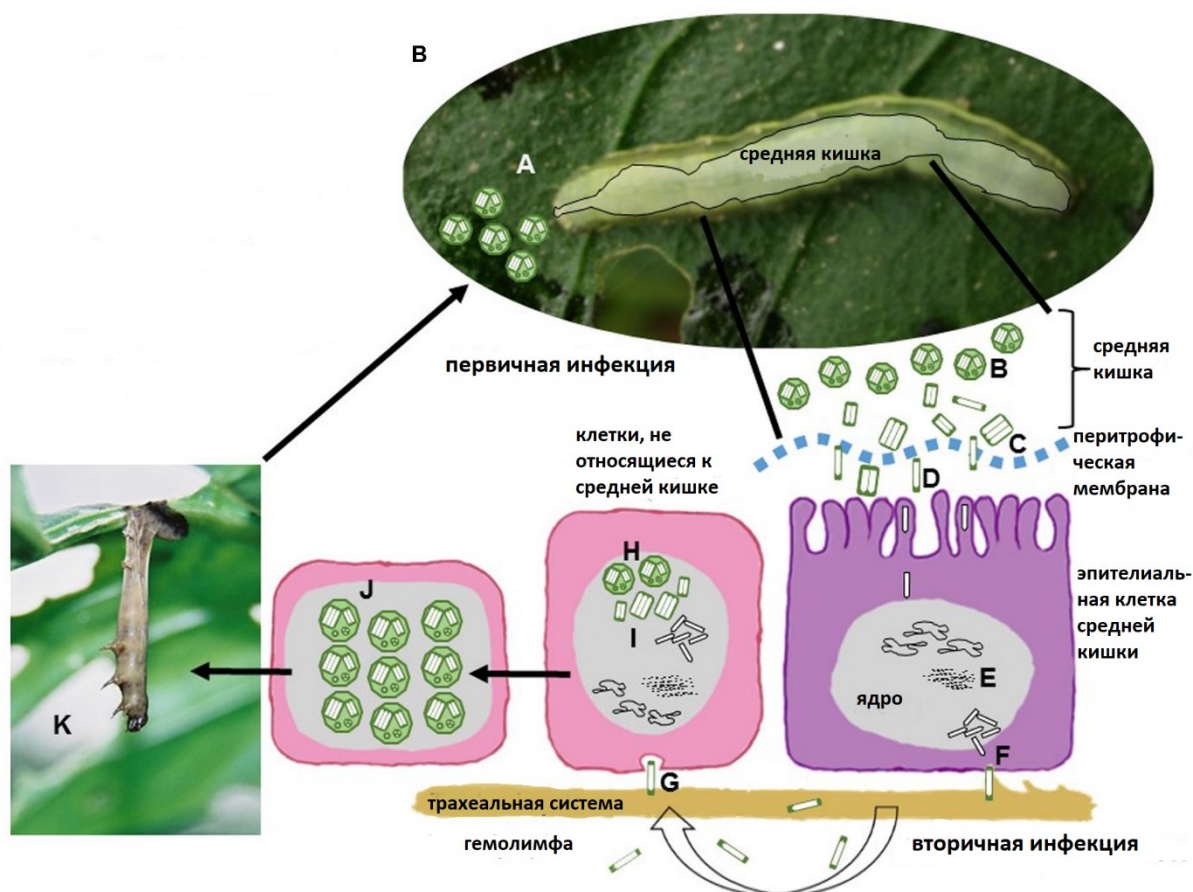


Рис. 101. Схематическое изображение цикла инфекции бакуловируса. (А) – Первичная инфекция. При питании зараженной листвой окклюзионные тела попадают в организм личинки. (В) – окклюзионные тела растворяются в средней кишке насекомых и высвобождают окклюзионные вирионы, которые проходят через перитрофическую мембрану (С) и сливаются с микроворсинками эпителиальных клеток средней кишки (D). Нуклеокапсиды перемещаются в ядро, где они высвобождают вирусный геном, чтобы инициировать репликацию. (Е) – Репликация вируса происходит в вирусогенной строме. Образовавшиеся нуклеокапсиды проходят через базальную мембрану (F), в ходе которой они приобретают оболочку, содержащую гибридный белок GP64 или F, присутствующий в модифицированной вирусом клеточной мембране. Во время вторичной фазы инфекции эти вирионы диспергируются в гемолимфе или вдоль клеток трахеальной системы насекомых, распространяя инфекцию на клетки других тканей. (G) – вирусы проникают в клетки посредством эндоцитоза и реплицируются в ядре. Вновь собранные нуклеокапсиды (H) могут выходить клетки или образовывать окклюзионные тела (I). В конце инфекционного цикла окклюзионные тела накапливаются в ядре (J). Погибшие личинки обычно свисают с верхних листьев растения-хозяина (K). Личиночная оболочка разрывается и выделяет окклюзионные тела [89]

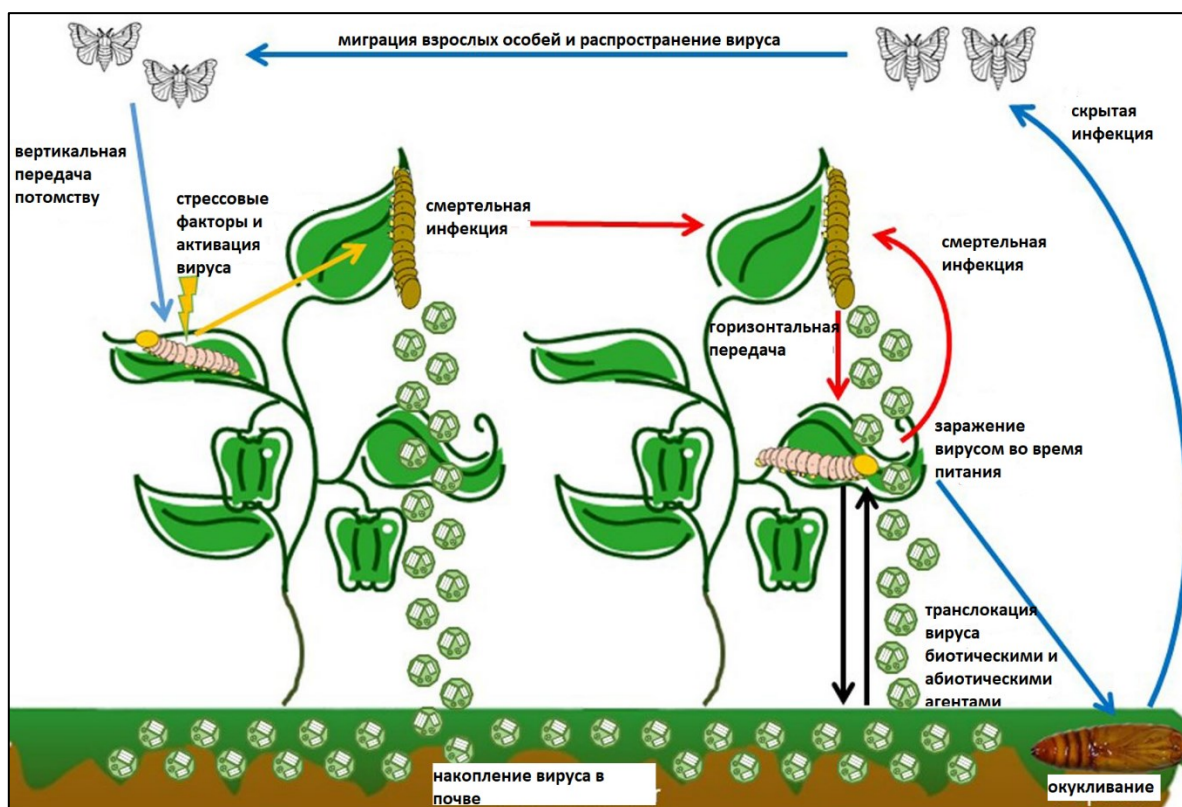


Рис. 102. Пути передачи бакуловируса, способ заражения и пути распространения в окружающей среде. После того, как личинки поглощают вирусы с зараженной листвой, у части инфицированных особей развивается смертельное заболевание. Вирусы попадают на растение-хозяина, где они могут передаваться восприимчивому хозяину (красная стрелка). Часть окклюзионных тел попадает в почву, откуда они могут переноситься обратно на растения под действием биотических и абиотических факторов (черные стрелки). Личинки, которые потребляют вирусы, но выживают, продолжают развиваться, окукливают и становятся скрытно инфицированными взрослыми особями (синие стрелки). Инфицированные взрослые особи передают инфекцию потомству. Вертикальная передача может сохраняться в течение нескольких поколений, пока какой-либо возбудитель или стрессовый фактор не спровоцирует перерастание скрытой инфекции в смертельную болезнь (оранжевая стрелка), которая возвращается к горизонтальному циклу передачи (красные стрелки) [89]

Применение бакуловирусов в качестве биоинсектицидов в настоящее время не имеет широкого распространения, для них характерен ряд недостатков:

- 1) Медленное действие в сравнении с синтетическими химическими пестицидами,
- 2) Узкая специфичность,
- 3) Низкая стабильность в полевых условиях;

4) Высокая стоимость производства.

Недостатки могут быть устранены путем генетической модификации бакуловируса с использованием технологии рекомбинантной ДНК путем введения чужеродного гена в геном бакуловируса, продукт которого изменяет физиологию насекомого-мишени или является токсичным для него [2, 4, 88].

5.2.5. Борьба с сорными растениями

Биогербициды – препараты на основе организмов, патогенных для сорных растений, а также их ферментов и метаболитов.

К продуцентам биогербицидов предъявляются следующие требования:

- 1) высокая биологическая эффективность в полевых условиях.
- 2) высокая продуктивность на дешевых питательных субстратах.
- 3) безопасность для защищаемых культурных растений.
- 4) безопасность для нецелевых видов и человека.

Биогербициды на основе грибов

Наиболее часто применяются грибные фитопатогены и грибные фитотоксины, так как различные штаммы грибов используют широкий спектр источников питания. Биогербициды, полученные на основе фитопатогенных грибов, являются высокоспецифичными, быстро распространяются в популяциях растений-хозяев. Примером могут служить грибы рода *Phytophthora*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium* [4, 90, 91].

- *Fusarium oxysporum*, продуцирующей высокие концентрации аминокислоты тирозина, используется для борьбы с паразитическим сорняком стригой (*Striga hermonthica*) [91].

- Виды *Fusarium culmorum* и *Fusarium semitectum* используются против вьюнка полевого (*Convolvulus arvensis*) [90].

- *Fusarium lateritium* применяется против канатника Теофраста (*Abutilon theophrasti*) [90].

- Из гриба *Aspergillus terreus* выделена аспергеровая кислота, являющаяся ингибитором дегидратазы дигидроксикислот и эффективным послевсходовым гербицидом [91].

- *Alternaria cirsinaxia* используются против бодяка полевого (*Cirsium arvense*) [90].
- *Alternaria crassa* применяется против дурмана вонючего (*Datura stramonium*) [90].
- *Alternaria cassia* используется против кассии (*Cassia*) [90].
- Грибы рода септория (*Septoria convoluli*, *Septoria longispora*, *Septoria calistegini*) используются для подавления вьюнка полевого (*Convolvulus arvensis*) [90].
- На основе штамма *Stagnospora convolvulus* LA-39 разработан биогербицид против вьюнка полевого (*Convolvulus arvensis*) и повоя заборного (*Calystegia sepium*) [90].
- *Stagonospora cirsii* применяется против бодяка полевого (*Cirsium arvense*) [90].
- *Piccinia cancliculata* используется против сыти (*Cyperus*) [90].

Грибы рода *Colletotrichum* являются продуцентами метаболитов широкого спектра биологической активности, поэтому на их основе разработан ряд микогербицидов:

- Препараты «LuBao» и «LuBao 2» применяют против повилики, засоряющей урожайи сои.
- Препараты «Collego» и «LockDown» применяется против сорного растения *Aeschynome virginica* в посевах риса и сои.
- Препарат «BioMal» разработан для борьбы с мальвой круглолистной (*Malva pusilla*) в посевах пшеницы, чечевицы и льна.
- Препарат «Velgo» (на основе *Colletotrichum coccodes*), применяется против канатника Теофраста (*Abutilon theophrasti*) в посевах кукурузы и сои.
- Препарат «Nakatak» применялся против хакеи (*Hakea gummosis* и *Hakea sericea*). Представляет собой гранулы из высушенного мицелия *Colletotrichum acutatum*, пшеничного глютенa и соевой муки.
- *Colletotrichum truncatum* рассматривается в качестве агента биоконтроля сорного растения сесбания рослая (*Sesbania exaltata*).
- *Colletotrichum graminicola* может быть использован для борьбы с ежовником обыкновенным (*Echinochloa crus-galli*) и частухой подорожниковой (*Alisma plantago-aquatica*) [92].

Одной из главных проблем применения микогербицидов является их недостаточная эффективность, узкая специфичность и ограниченный рынок сбыта. Негативные факторы воздействия микогерби-

цидов на человека, животных и нецелевые организмы включают эффект переноса, образование токсичных соединений. Кроме того, в природных условиях грибок, развиваясь на растении-хозяине, способен образовывать вторичные метаболиты, отличные от продуктов его метаболизма в искусственных условиях [92].

Биогербициды на основе бактерий

Бактериальные фитопатогены более устойчивы к факторам внешней среды, в сравнении с грибовыми. Однако они в меньшей степени поражают сорные растения [4]. Примерами являются препараты, состоящие из лактобактерий, образующих фитотоксичные молочную и лимонную кислоты. Так, биогербицид «Bioprotec Herbicide» используется для подавления роста клевера на газонах [91].

Биогербициды растительного происхождения

Биогербициды на основе растений представляют собой эфирные масла, растительные экстракты, сидераты, растительные отходы пищевого производства. В качестве биогербицидов также используются растения с сильными аллелопатическими свойствами. **Аллелопатия** – это биологическое явление, с помощью которого организм вырабатывает одно или несколько химических соединений (аллелохимикалий), влияющих на рост, выживание и воспроизводство других организмов. Аллелохимикалии могут оказывать благоприятное (положительная аллелопатия) или неблагоприятное (отрицательная аллелопатия) воздействие на целевые организмы. Они являются метаболитами растений и могут содержаться в стеблях, листьях, корнях, цветках, соцветиях, плодах и семенах растений-доноров [90].

Аллелопатическая активность была выявлена у следующих видов культурных растений: ячменя (*Hordeum vulgare*), ржи (*Secale cereale*), риса (*Oryza sativa*), сорго (*Andropogon sorghum*), подсолнечника (*Helianthus annuus*), пшеницы (*Triticum vulgare*) [93].

Вика мохнатая (*Vicia villosa*) и горох посевной (*Pisum sativum*) применяются как покровные культуры при выращивании риса и хлопка [93].

Для подавления весеннего отрастания сорных видов применяются: посев аллелопатически активных видов сидератов, обработка водными экстрактами, мульчирование полей пожнивными остатками аллелопатических видов и продуктами их переработки, отходами сельскохозяйственного и биотехнологического производства [93].

Широко используется обработка посевов риса, хлопка, сои, пшеницы, кукурузы 10% водным экстрактом «Соргаб» зеленой биомассы сорго с действующим веществом сорголеон. Плотность сорных видов снижается на 44%, урожай зерна вырастает на 30–40%. Сорго также высаживают как предшественник для снижения плотности сорных видов и для заполнения междурядий, так как его экзометаболиты содержатся в корневых экссудатах. Эффективность сорголеона повышается при комплексном воздействии, в сочетании с боронованием, отсрочкой посева основной культуры [93].

Измельченная зеленая масса горчицы и соевая мука применяются для подавления сорняков в посевах шпината (*Spinacia oleracea* L.) и брокколи (*Brassica oleracea* L.) в условиях органического земледелия [93].

Экстракт канавалии (*Canavalia ensiformis*) используется для подавления плюща (*Ipomoea grandifolia*) и коммелинии (*Commelina benghalensis*) в посевах сои [93].

Фенольные вещества из *Ludwigia hyssopifolia* подавляют рост побегов и накопление биомассы *Amaranthus spinosus*, *Dactyloctenium aegyptium*, *Cyperus iria* [93].

Из листьев *Plumbago auriculata* выделен плюмбагин, эффективный в полевых условиях против ряда однодольных и двудольных сорных растений. Из *Ailanthus altissima* выделен аилантон [93].

Эфирные масла тмина красного (*Vicatia atosanguinea*), габер душистого (*Thymus serpyllum*), лимнантеса (*Limnanthes*), коричника (*Cinnamomum*) использовали против мари белой, амброзии полынно-листной и гумая [93].

Гербицид MBI-011 контактного действия компании Marrone Bio Innovations Inc. на основе амида сарментина из плодов перца длинного (*Piper longum*) подавляет прорастание семян ежевника обыкновенного (*Echinochloa crus-galli*), амаранта Палмера (*Amaranthus palmeri*), одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale*), вьюнка полевого (*Convolvulus arvensis*), мятлика однолетнего (*Poa annua*) [93].

Экстракты полыни горькой (*Artemisia absinthii*), ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla*) снижают биомассу и темп накопления хлорофилла звездчаткой средней (*Stellaria media*).

Артемизин – водный экстракт полыни однолетней (*Artemisia annua*) применяют для послепосевной обработки посевов сои и пше-

ницы. Препарат вызывает снижение плотности некоторых сорных видов на 40–66%.

Аллелопатические вещества медуницы сахарной (*Pulmonaria saccharata*) снижают всхожесть и скорость накопления сухого веса проростками клевера лугового (*Trifolium pratense*) и овсяницы тростниковой (*Festuca arundinacea*).

В качестве биогербицида также используется кукурузный глютен, при разложении которого образуются фитотоксичные пептиды [93].

Для борьбы с сорными растениями также могут использоваться растительно-микробные взаимодействия. Например, эндофитная бактерия рода буркхольдерия (*Burkholderia* sp.), обитающая в листовых клубеньках тропического кустарника психотрия Кирки (*Psychotria kirkii*), синтезирует карбосахар (+)стрептол. Он вызывает у высших растений нарушения формирования клеточной стенки в тонких корнях на стадии перехода клеток к анизотропному удлинению. Глюкозидированная неактивная форма (+)стрептола транспортируется из листовых клубеньков в корни растения-хозяина. В составе корневых экссудатов (+)стрептол попадает в почву и поражает корни растений – конкурентов. Корни останавливаются в развитии, в растущих окончаниях деформируются и разрушаются клеточные стенки, прекращается поглощение воды и минеральных веществ, снижается резистентность к заражению патогенами. Психотрия Кирки является единственным видом среди высших растений, не чувствительным к воздействию (+)стрептола. Таким образом, (+)стрептол может использоваться для создания новых биогербицидов [93].

Биогербициды животного происхождения

Животные-фитофаги также используются для борьбы с сорными растениями. Например, амброзиевый полосатый листоед (*Zygogramma suturalis*), амброзиевая совка (*Tarachidia candefacta*) и *Ophraella communa* применяются в борьбе с амброзией полыннолистной (*Ambrosia artemisiifolia*) [90, 94] (рис. 103–104).



Рис. 103. Амброзиевый полосатый листоед (*Zygogramma suturalis*) на поврежденных растениях амброзии обыкновенной [94]



Рис. 104. Растение амброзии, поврежденное гусеницами амброзиевой совки (*Tarachidia candefacta*) [94]

5.3. Применение биопестицидов в борьбе с переносчиками заболеваний человека и животных

Трансмиссивные болезни – это инфекционные заболевания, переносчиками которых являются кровососущие представители типа членистоногие, преимущественно, насекомые или клещи (рис. 105). Трансмиссивные заболевания являются серьезной проблемой общественного здравоохранения. Ежегодно более 1 миллиона человек в мире погибает из-за болезней, переносимых комарами. Наиболее эффективной профилактической стратегией является борьба с переносчиками заболеваний. Согласно оценкам, в период 2000–2020 гг. было предотвращено 1,7 миллиарда случаев заболевания и 10,6 миллиона смертей от малярии.

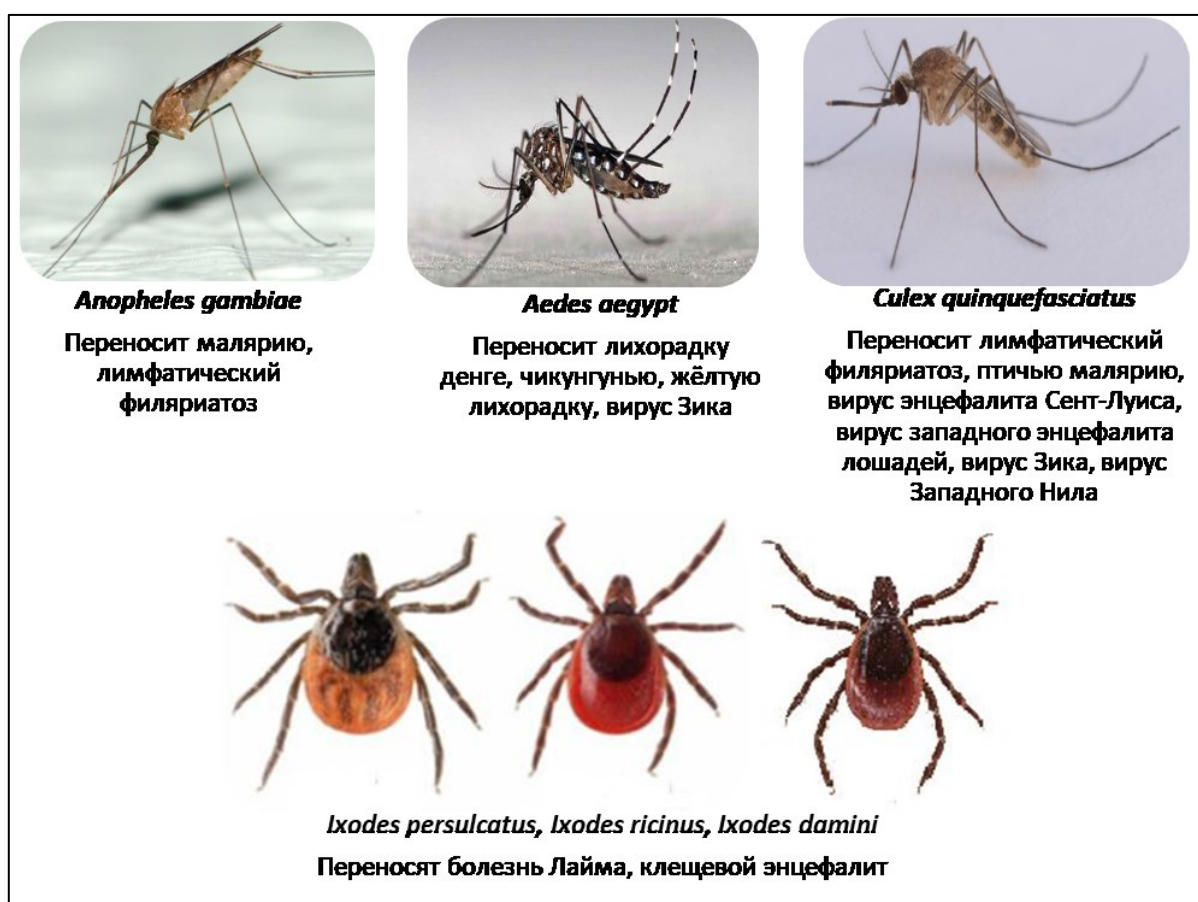


Рис. 105. Примеры членистоногих – переносчиков заболеваний

Борьба с переносчиками заболеваний в основном опирается на химические инсектициды и акарициды. Однако, их ограничения за-

ключаются в нецелевой токсичности, длительной стойкости в окружающей среде и большей устойчивости к ним видов-мишеней. В связи с перечисленными проблемами, перспективной альтернативой синтетическим соединениям являются природные инсектициды и акарициды. Чаще всего, они представляют собой вторичные метаболиты, продуцируемые бактериями, растениями или грибами.

Препараты на основе бактерий

Первой описанной бактерией, обладающей инсектицидной активностью, является *Bacillus thuringiensis*. Штамм *Bacillus thuringiensis serovar israelensis*, открытый в 1970-х гг., широко используется для борьбы с переносчиками болезнетворных микроорганизмов, таких как комары (*Culicidae*) и мошки (*Simuliidae*). Описана эффективность *Bacillus thuringiensis* против комаров родов *Aedes* и *Psorophora*, а также *Anopheles coluzzii* [2]. Его преимущества связаны со специфическим механизмом действия, отсутствием резистентности, несмотря на длительное использование. К недостаткам относятся: необходимость повторного применения в течение сезона и нацеливание только на личиночную стадию жизненного цикла комара [95].

Штамм *Bacillus cereus* VCRC-B540 эффективен против комаров *Culex quinquefasciatus*, *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* [94].

Штаммы бактерии *Bacillus sphaericus* высоко активны против личинок комаров, относящихся к родам *Culex*, *Psorophora*, *Culiseta*. Однако они слабо токсичны против комаров рода *Aedes*, кроме *Aedes vexans*. В целом, токсичность варьируется в зависимости от конкретного штамма бактерии и вида комара [94].

Заражение энтомопатогенной бактерией *Chromobacterium anophelis* sp. снижает выживаемость личинок и репродуктивный потенциал взрослых особей [95].

Препараты на основе грибов

Наиболее широко используемыми энтомопатогенными грибами для борьбы с малярийными комарами являются виды *Beauveria* и *Metarhizium*, около 13 видов которых были зарегистрированы как микоинсектициды или микоакарициды. Например, *Beauveria bassiana* используется против комара *Anopheles stephensi* [96].

Некоторые штаммы *Isaria* sp., *Galactomyces* sp., *Mucor* sp. являются патогенными для *Aedes aegypti* и *Anopheles gambiae* [97].

Гриб *Aspergillus clavatus* является патогенным для комаров *Culex quinquefasciatus*.

Препараты на основе растений

К растениям, из которых выделены вторичные метаболиты, проявляющие высокую ларвицидную активность против личинок комаров *Aedes aegypti* и *Culex quinquefasciatus*, относятся: полынь обыкновенная (*Artemisia vulgaris*), акмелла огородная (*Acemella oleracea*), агератум конизовидный (*Ageratum conyzoides*), бархатцы прямостоячие (*Tagetes erecta*), зизифус жоазейро (*Ziziphus joazeiro*), зантоксилум (*Zanthoxylum sp.*), муравьиное дерево (*Tabebuia avellanedae*), мерремия египетская (*Merremia aegyptia*), сенна туполистная (*Senna obtusifolia*), энтеролобиум скрученностручковый (*Enterolobium contortisiliquum*), триплярис американский (*Triplaris americana*), ятоба (*Hymenaea courbaril*), скопария душистая (*Scoparia dulcis*), эритрина мулунгу (*Erythrina mulungu*), тёрнера вязолистная (*Turnera ulmifolia*), сосна карибская (*Pinus caribaea*), ряд видов, относящихся к родам аннона (*Annona crassiflora*, *Annona mucosa*, *Annona coriacea*), анакардиум (*Anacardium humile*, *Anacardium occidentale*), базилик (*Ocimum canum*, *Ocimum sanctum*), гварея (*Guarea kunthiana*, *Guarea humaitensis*, *Guarea scabra*, *Guarea sylvatica*), кордия (*Cordia curassavica*, *Cordia leucomalloides*, *Cordia globosa*), копаифера (*Copaifera langsdorffii*, *Copaifera multijuga*, *Copaifera reticulata*), кротон (*Croton argyrophyllodes*, *Croton heliotropiifolius*, *Croton pulegioidorus*, *Croton nepetifolius*, *Croton rhamnifolioides*, *Croton regelianus*, *Croton sonderianus*, *Croton tetradenius*, *Croton zehntneri*), хиппис (*Hyptis martiusii*, *Hyptis pectinata*), эвгения (*Eugenia candolleana*, *Eugenia brejoensis*, *Eugenia piauiensis*), псидиум (*Psidium guajava*, *Psidium myrsinites*), цимбопогон (*Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon flexuosus*), перец (*Piper aduncum*, *Piper corcovadensis*, *Piper hispidum*, *Piper klotzschianum*, *Piper marginatum*, *Piper tuberculatum*), цитрус (*Citrus limonia*, *Citrus sinensis*), сипаруна (*Siparuna guianensis*, *Siparuna camporum*), липпия (*Lippia alba*, *Lippia gracilis*, *Lippia microphylla*, *Lippia nodiflora*, *Lippia sidoides*, *Lippia pedunculosa*), а также *Azolla pinnata*, *Albizia polyantha*, *Anadenanthera macrocarpa*, *Auxemma glazioviana*, *Ottonia anisum*, *Baccharis reticularia*, *Bauhinia acuruana*, *Dalbergia brasiliensis*, *Derris urucu*, *Dioclea megacarpa*, *Commiphora leptophloeos*, *Connarus deterius*, *Coccoloba mollis*, *Rourea doniana*, *Schinopsis brasiliensis*, *Guettarda*

grazielae, *Luetzelburgia auriculate*, *Rhinacanthus nasutus*, *Hyptis martiusii*, *Pterodon polygalaeflorus*, *Helicteres velutina*, *Waltheria viscosissima*, *Myracrodruon urundeuva*, *Schinus terebenthifolia*, *Carapa guianensis*, *Terminalia fagifolia*, *Myrcia sylvatica*, *Ormosia arborea*, *Parkia platycephala*, *Tephrosia egregia*, *Licaria puchury-major*, *Spermacoce latifolia*, *Spermacoce verticillate*, *Ocotea velloziana*, *Smilax brasiliensis*, *Solanum variabile*, *Vitex cymose*, *Stemodia maritima*, *Talisia esculenta* [98–100].

В России среди природно-очаговых инфекций бактериальной и вирусной этиологии около 50% составляют инфекции, возбудителей которых передают клещи. Наиболее распространенными являются клещевой боррелиоз и клещевой вирусный энцефалит. В азиатской части России также зарегистрированы случаи инфицирования вирусом Хасеки через укус лугового клеща (*Dermacentor reticulatus*) и клеща Павловского (*Ixodes pavlovskyi*). Среди биологических пестицидов, применяемых для борьбы с клещами чаще всего используются неспецифические микоинсектициды и микоакарициды, то есть виды грибов, поражающие как насекомых, так и клещей. Примерами являются: *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Metarhizium anisopliae*, *Metarhizium robertsii*, *Metarhizium brunneum*, *Metarhizium pempighi*, *Metarhizium flavoviride*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Paecilomyces farinosus*, *Paecilomyces eriophyes*, *Paecilomyces terricola*, *Verticillium lecanii* [101].

Виды клещей, а также различные стадии их жизненного цикла различаются по чувствительности к грибам. Например, по отношению к грибу *Metarhizium brunneum*, клещ *Hyalomma excavatum* является устойчивым, *Rhipicephalus annulatus* – чувствительным. Данные эффекты связаны с различиями в белковом составе кутикулы этих видов клещей, вследствие чего гриб не способен проникнуть через кутикулу *Hyalomma excavatum* [101].

Эффективность микоакарицидов также зависит от условий окружающей среды (температуры, влажности, освещенности), в связи с этим большое значение имеет препаративная форма биопестицида. При культивировании в жидкой среде представители родов *Beauveria* и *Metarhizium* (рис 106) способны продуцировать бластоспоры, которые также обладают энтомопатогенным действием и легко проникают через кутикулу членистоногих. Для защиты конидий грибов от уль-

трафиолетового излучения и потери влаги разработаны эффективные составы на масляной основе. Шарики альгината кальция с гранулированным кукурузным крахмалом или порошком хитина в качестве питательных веществ способны защитить инкапсулированные бласто-споры от высыхания [101].



Рис. 106. Европейский лесной клещ (*Ixodes ricinus*), пораженный грибом *Metarhizium anisopliae* [83]

Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятия «пестициды».
2. Приведите классификацию пестицидов в зависимости от направления действия.
3. Дайте определение понятия «биопестициды».
4. Какие свойства микроорганизмов учитываются при отборе для производства биопестицидов?
5. Перечислите преимущества и недостатки биопестицидов.
6. Приведите классификацию наиболее распространенных биопестицидов по механизму действия.
7. Дайте определение понятия «микробиологические биопестициды».
8. Что входит в состав микробиологических биопестицидов?
9. Дайте определение понятия «биохимические пестициды».
10. Что входит в состав биохимических пестицидов?
11. Дайте определение понятия «защитные средства, инкорпорированные в растения».
12. Приведите примеры защитных средств, инкорпорированных в растения.
13. Что такое РНК-интерференция?
14. Охарактеризуйте пестициды, подавляющие гены, основанные на процессе РНК-интерференции.
15. Перечислите свойства микроорганизмов, которые учитываются при разработке биопестицидов, применяемых для нужд сельского хозяйства.
16. Приведите примеры растений, которые обладают способностью подавлять вирусы.
17. Перечислите вторичные метаболиты растений со специфической противовирусной активностью.
18. Перечислите защитные противовирусные белки растений.
19. Приведите примеры алкалоидов растений, обладающих противовирусной активностью.
20. Приведите примеры флавоноидов растений, обладающих противовирусной активностью.
21. Приведите примеры эфирных масел растений, обладающих противовирусной активностью.

22. Приведите примеры полисахаридов растений, обладающих противовирусной активностью.
23. Какие вещества являются главными противовирусными активными компонентами грибов?
24. Приведите примеры грибов, используемых против вирусов растений.
25. Приведите примеры бактерий, используемых против вирусов растений.
26. Приведите примеры противовирусных соединений животного происхождения, используемых против вирусов растений.
27. Дайте определение понятия «бактерициды».
28. Дайте определение понятия «биологические бактерициды».
29. Дайте определение понятия «бактериофаг».
30. Охарактеризуйте принцип действия бактериофагов.
31. Перечислите преимущества бактериофагов в сравнении с другими антибактериальными препаратами.
32. Перечислите недостатки бактериофагов в сравнении с другими антибактериальными препаратами.
33. Приведите примеры антибактериальных препаратов животного происхождения.
34. Дайте определение понятия «биофунгициды».
35. Приведите примеры биофунгицидных бактерий.
36. Приведите примеры биофунгицидов грибкового происхождения.
37. Приведите примеры биофунгицидов растительного происхождения.
38. Приведите примеры биофунгицидов животного происхождения.
39. Дайте определение понятия «биологические инсектициды».
40. Приведите примеры биоинсектицидов бактериального происхождения.
41. Приведите примеры биоинсектицидов грибкового происхождения.
42. Охарактеризуйте принцип действия биоинсектицидов грибкового происхождения.

43. Перечислите преимущества использования энтомопатогенных грибов в качестве биоинсектицидов.
44. Приведите примеры генетически модифицированных энтомопатогенных грибов, используемых в качестве биоинсектицидов.
45. Дайте определение понятия «бакуловирусы».
46. Охарактеризуйте принцип действия бакуловирусов.
47. Перечислите достоинства применения бакуловирусов в качестве биоинсектицидов.
48. Перечислите недостатки применения бакуловирусов в качестве биоинсектицидов.
49. Дайте определение понятия «биогербициды».
50. Перечислите требования, которые предъявляются к продуцентам биогербицидов.
51. Приведите примеры биогербицидов на основе грибов.
52. Приведите примеры биогербицидов на основе бактерий.
53. На чем основан принцип действия биогербицидов растительного происхождения?
54. Приведите примеры биогербицидов растительного происхождения.
55. Приведите примеры растительно-микробных взаимодействий для борьбы с сорными растениями.
56. Приведите примеры биогербицидов животного происхождения.
57. Дайте определение понятия «трансмиссивные заболевания»
58. Перечислите примеры наиболее значимых членистоногих-переносчиков заболеваний человека и животных.
59. Приведите примеры препаратов на основе бактерий для борьбы с членистоногими-переносчиками заболеваний человека и животных.
60. Приведите примеры препаратов на основе грибов для борьбы с членистоногими-переносчиками заболеваний человека и животных.
61. Приведите примеры растений, используемых для борьбы с членистоногими-переносчиками заболеваний человека и животных.

Глава 6. БИОПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПЛОДОРОДИЯ ПОЧВ И ПРОДУКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ (БИОУДОБРЕНИЯ)

Удобрения – это вещества, используемые для питания растений и повышения плодородия почвы. Они необходимы для обеспечения растений дополнительными питательными элементами, такими как азот, фосфор, калий, сера, магний. Для повышения производительности сельского хозяйства широко используются химические удобрения. Однако чрезмерное применение синтетических удобрений приводит к нарушению биогеохимических циклов и ухудшению состояния окружающей среды. В первую очередь оно проявляется в нарушении структуры почвы, загрязнении, изменении плодородия, ухудшении усвоения питательных веществ и способности удерживать воду, снижении содержания органических веществ, повышении засоленности. Кроме того, избыток использования химических удобрений приводит к снижению биоразнообразия, загрязнению грунтовых вод, способствуя эвтрофикации, а также негативному воздействию на здоровье людей.

Безопасной альтернативой являются биологические удобрения, на основе полезных микроорганизмов в качестве биостимуляторов, биопротекторов и устойчивых источников различных питательных веществ для растений, таких как азот, фосфор, калий, цинк и железо. В связи с тем, что уровень плодородия почвы обуславливается интенсивностью и направленностью микробиологических процессов, которые регулируются численностью микроорганизмов, биоудобрения содержат специфические штаммы микроорганизмов, под действием которых в почве активизируются процессы превращений соединений, содержащих питательные вещества. Биоудобрения являются экономически эффективным, экологически чистым и возобновляемым источником питательных веществ для растений. Они служат ценным инструментом в сельскохозяйственной экосистеме, улучшая качество почвы, смягчая неблагоприятное воздействие химических удобрений, сохраняют почвенную среду, обогащают её рядом микро- и макроэлементов, за счет фиксации азота, растворения фосфатов и калия, минерализации, синтеза фитогормонов, антибиотиков и биodeградации органических веществ в почве.

Биоудобрения – это препараты, содержащие живые микроорганизмы или их побочные продукты, которые увеличивают поступление или доступность основных питательных веществ или стимулируют рост целевой культуры [2, 102, 103].

Биопрепараты для повышения плодородия почв и продуктивности растений используются в сельском хозяйстве путем внесения в почву или предпосевной обработки семян.

В состав биологических удобрений чаще всего входят бактерии, грибы и водоросли. Также используются смешанные препараты, содержащие организмы, относящиеся к разным таксономическим группам (рис. 107). Например, производятся микробиологические удобрения, в состав которых входят бактерии и грибы, а также консорциумы зеленых микроводорослей и цианобактерий.



Рис. 107. Многообразие биологических удобрений

6.1. Бактериальные биоудобрения

Бактериальные удобрения – это биопрепараты, в которых содержатся полезные для сельскохозяйственных растений почвенные бактерии.

Бактериальные удобрения широко используются в сельском хозяйстве по всему миру. Первое бактериальное удобрение – «Нитрагин» было создано в 1896 году в Германии. Оно представляло собой измельчённые клубеньки бобовых культур в смеси с почвой. В СССР с 1935 года были организованы собственные лаборатории для исследования и разработки биологических удобрений. Отечественными учеными созданы такие препараты, как «Азотобактерин», «Фосфобактерин», «Ризоторфин», «Экстрасол» и другие. В настоящее время

мировое производство биоудобрений насчитывает тысячи запатентованных препаратов различного состава.

Бактерии, обитающие в естественных условиях и функционирующие, как удобрения, способствующие развитию растений представлены родами *Bacillus*, *Frankia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Micrococcus*, *Streptomyces*, *Xanthomonas*, *Enterobacter*, *Cellulomonas*, *Serratia*, *Arthrobacter*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Acinetobacter*, *Actinoplanes*, *Thiobacillus*, и другими. Они включают симбиотические ризобактерии, обитающие в ризосфере растений и бактерии-эндофиты, способные колонизировать определенные участки растительной ткани, а также цианобактерии. Увеличению прироста растений способствует ряд механизмов, используемых бактериями. К ним относятся: азотфиксация, минерализация макро- и микроэлементов, секреция экзополисахаридов, выработка фитогормонов, синтез сидерофоров и антибиотиков [102].

Инокуляция бактериями *Pseudomonas* повышает устойчивость растений кукурузы к стрессу от засухи, приводит к увеличению содержания сахара и биомассы в обработанных образцах. Защитный эффект связан с активацией белка дегидрина и повышением уровня пролина [102].

Инокуляция тропической кукурузы в условиях солевого стресса бактериями *Pantoea agglomerans* и *Bacillus megaterium* повышает устойчивость растений и улучшает их рост. Данное воздействие связано с регуляцией уровня аквапорина, который усиливает рост корней и удержание влаги листьями [102].

Бактерии рода *Streptomyces* выделяют вещества, необходимые для роста растений, такие как, индолилуксусная, гиббереллиновая, птеридиновая кислоты, а также синтезируют антибиотики, ингибирующие жизнедеятельность патогенной микрофлоры [104].

Цианобактерии родов *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Nostoc*, *Anabaena*, *Aulosira* являются наиболее распространенными азотфиксирующими организмами. Они увеличивают содержание нитратов, общего азота и доступного фосфора в почве, могут вырабатывать гормоны роста растений, витаминами группы В, ауксины, гиббереллины, индолуксусную кислоту, полисахариды, антибактериальные вещества и сидерофоры. Также являются основными источниками органических ве-

ществ в агроэкосистеме, за счет усвоения атмосферного углекислого газа посредством фотосинтеза [102, 105].

К наиболее важным макроэлементам, необходимым для повышения плодородия почв и продуктивности растений относятся: азот, фосфор и калий.

Бактериальные удобрения для обеспечения растений азотом

Азот является важным макроэлементом, влияющим на рост, обмен веществ и урожайность растений в связи с тем, что входит в состав аминокислот, азотистых оснований, нуклеиновых кислот, алкалоидов, витаминов, амидов, коферментов, гормонов. Обеспечение растений азотом влияет на такие физиологические процессы, как рост, биосинтез хлорофилла, а также синергетически способствует усвоению и использованию других питательных веществ, включая калий и фосфор. Однако растения не способны усваивать атмосферный азот из воздуха, несмотря на его высокое содержание. Повышение плодородия почв и продуктивности растений с помощью микробиологических удобрений основано на биологической фиксации азота, которая представляет собой процесс преобразования атмосферного азота (N_2) в доступный для растений аммонийный азот (NH_4^+). Биологические азотфиксаторы – это микроорганизмы, которые перерабатывают инертный диоксид азота в органическую форму, усвояемую растениями. Среди бактерий, фиксирующих азот, выделяют: свободноживущие diaзотрофы, ассоциативные diaзотрофы и симбиотические клубеньковые бактерии (рис. 108) [103].



Рис. 108. Классификация азотфиксирующих бактерий

I. Свободноживущие diaзотрофы – бактерии, фиксирующие азот без участия растения-хозяина. Они относительно редки в ризосфере. Включают:

- класс альфапротеобактерии (*Alphaproteobacteria*), к которому относятся роды: *Bradyrhizobium*, *Rhodospirillum*, *Beijerinckia*, *Rhodobacteria*, *Rhodopseudomonas*, *Rhizobium*;
- класс бетапротеобактерии (*Betaproteobacteria*), к которому относятся роды: *Nitrosospira*, *Burkholderia*;
- класс гаммапротеобактерии (*Gammaproteobacteria*), к которому относятся роды: *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*;
- тип фирмикуты (*Firmicutes*), к которому относятся роды: *Clostridium*, *Paenibacillus* [103].

Например, *Azotobacter* – это diaзотрофная бактерия, способная расщеплять азот. Её метаболическая активность вносит значительный вклад в круговорот азота. *Azotobacter* синтезирует соединения, которые подавляют корневые патогены, стимулируют рост корней, улучшают усвоение минеральных веществ, повышают плодородие почвы. К ним относятся: гиббереллины, витамины группы В, рибофлавин, тиамин, индолилуксусная кислота, противогрибковые вещества и антибиотики. Биоудобрения на основе азотобактера используются для выращивания небобовых культур: риса, хлопчатника, сорго, сахарного тростника и овощей [102].

II. Ассоциативные diaзотрофы – это азотфиксирующие бактерии, образующие эндоризосферные ассоциации на корнях небобовых растений. Представлены бактериями родов *Azospirillum*, *Acetobacter*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Moraxella*, *Brevibacillus*, *Burkholderia*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Azoarcus*, *Bradyrhizobium*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Nostoc*, *Anabaena*, *Aulosira*. Они связаны с такими культурными растениями, как: рис, кукуруза, пшеница, сахарный тростник, сахарная свекла, кофе, картофель, сорго, томаты, рапс [103].

Рассмотрим некоторые примеры.

Azospirillum – род грамотрицательных аэробных азотфиксирующих бактерий, не образующих клубеньки (рис. 109–110). Вид *Azospirillum lipoferum* синтезирует значительное количество веществ, способствующих росту растений, в том числе гиббереллины, цитоки-

нины, индолилуксусную кислоту, пантотеновую кислоту, тиамин, ниацин. Представители этого рода бактерий образуют симбиотические отношения с рядом растений, особенно с теми, для которых характерен С4-фотосинтез. Поэтому, *Azospirillum* рекомендуют в качестве удобрения для выращивания таких растений, как жемчужное просо, сорго, сахарный тростник и кукуруза [102].

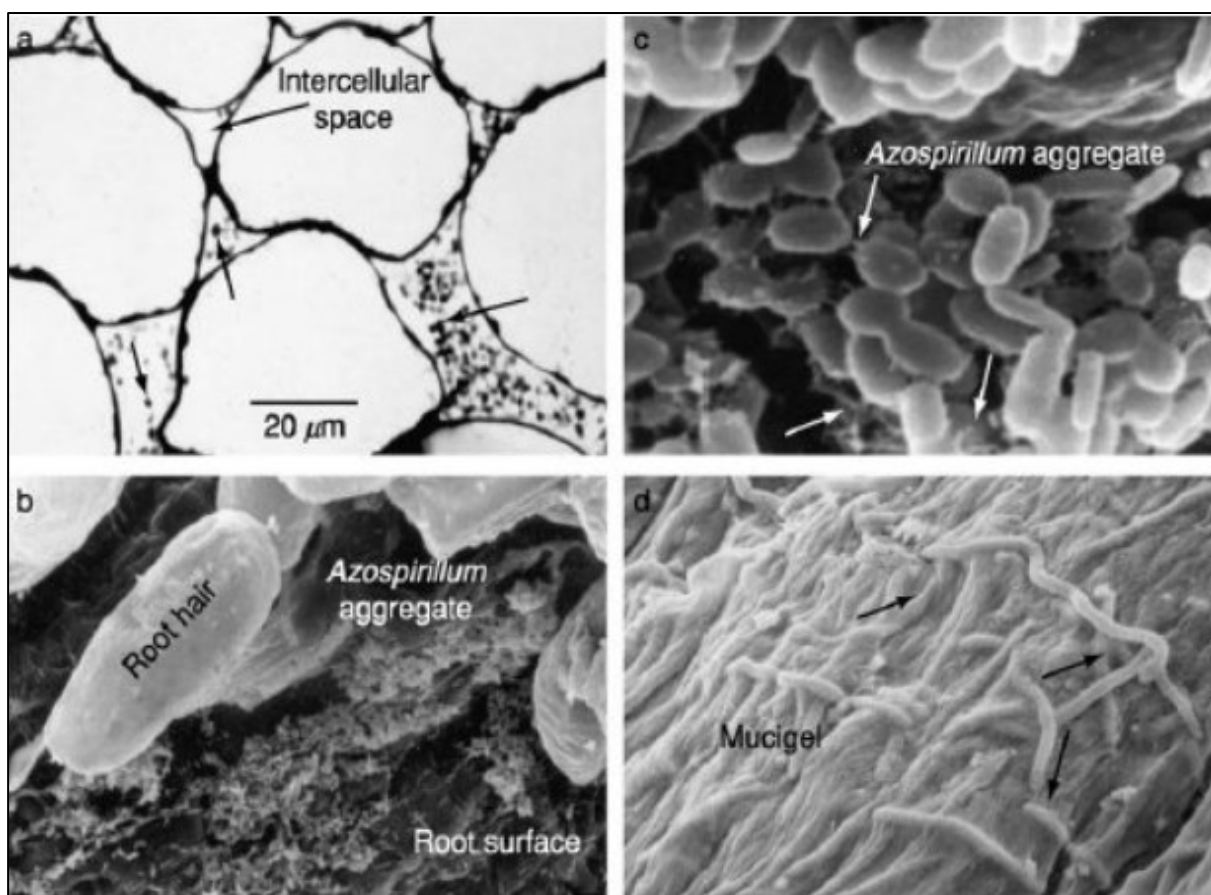


Рис. 109. (а) – Световая микрофотография поперечного среза корней пшеницы, показывающая локализацию бактерии *Azospirillum brasilense* в межклеточных пространствах внутренних слоев кортикальных клеток в зоне удлинения корней (показаны стрелками). (b, c) – Колонизация поверхности корней пшеницы бактерией *Azospirillum brasilense*. Стрелками показаны фибриллярные соединения между бактериями. (d) – образование слизи на корнях черных мангровых деревьев, инокулированных diaзотрофной цианобактерией *Microcoleus chthonoplastes* (показаны стрелками) [106]

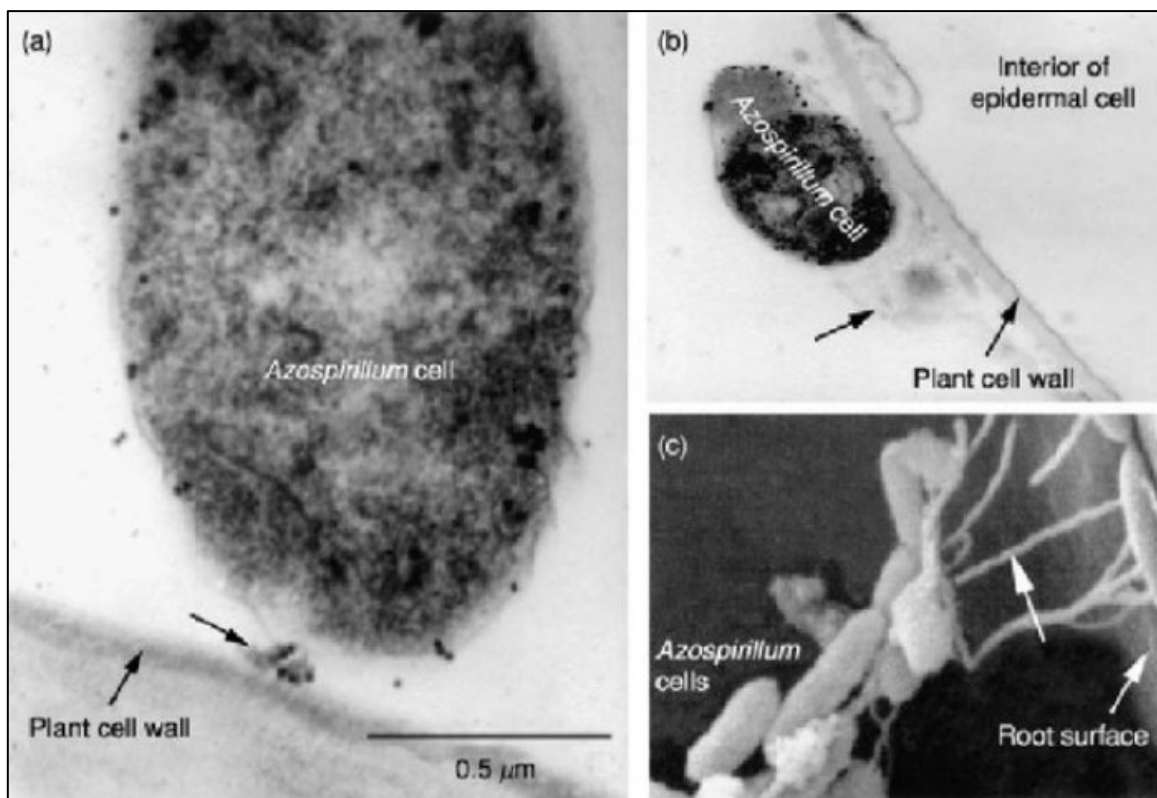


Рис. 110. Просвечивающая (a, b) и сканирующая (c) электронная микроскопия прикрепления бактерий *Azospirillum brasilense* к поверхности корней пшеницы и хлопчатника с помощью фибриллярного материала. (a) – полярное прикрепление бактерии к клеточной стенке растения пшеницы с помощью коротких фибрилл (показано стрелками); (b) – неполярное прикрепление бактерии к клеточной стенке растения пшеницы (показано стрелками); (c) – прочное прикрепление бактерий к поверхности корней хлопчатника посредством образования длинных фибрилл (показано стрелками) [106]

Acetobacter diazotrophicus обладает устойчивостью к повышенному содержанию сахарозы и эндофитно развивается в стеблях, корнях и листьях растений сахарной свеклы и сахарного тростника. Вырабатывает вещества, стимулирующие рост, в том числе индолилуксусную кислоту, которые способствуют развитию корней, прорастанию семян и усвоению питательных веществ.

Gluconacetobacter diazotrophicus служит азотфиксирующим эндосимбионтом в растениях сахарного тростника, где оказывает антагонистическое воздействие на патогенные бактерии *Xanthomonas albilineans*, подавляя синтез бактериального полисахарида [102].

III. Симбиотические клубеньковые бактерии – это азотфиксирующие бактерии, которые тесно связаны с растением, образуя специализированные органы (клубеньки). Примерами могут служить

представители родов *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium* (рис. 111–112). К растениям, вступающим в симбиоз, преимущественно относятся бобовые (*Fabaceae*). Внутри клубеньков азотфиксирующие бактерии извлекают молекулярный азот из атмосферы и преобразуют его в доступную для растений форму – ионы аммония, которые используются для производства витаминов, белков и других веществ с высоким содержанием азота. Применение удобрений основе азотфиксирующих бактерий улучшает развитие сельскохозяйственных культур за счет усиления роста растений, благодаря изменениям в структуре корней и физиологических процессах. Симбиотическая азотфиксация является важным альтернативным источником азота для устойчивого сельского хозяйства. При совместном выращивании бобовых культур и пастбищных видов можно получать 200–300 кг азота с 1 га [102].



Рис. 111. Бактерии *Bradyrhizobium diazoefficiens* образуют азотфиксирующие клубеньки на сое обыкновенной (*Glycine soja*) [107]

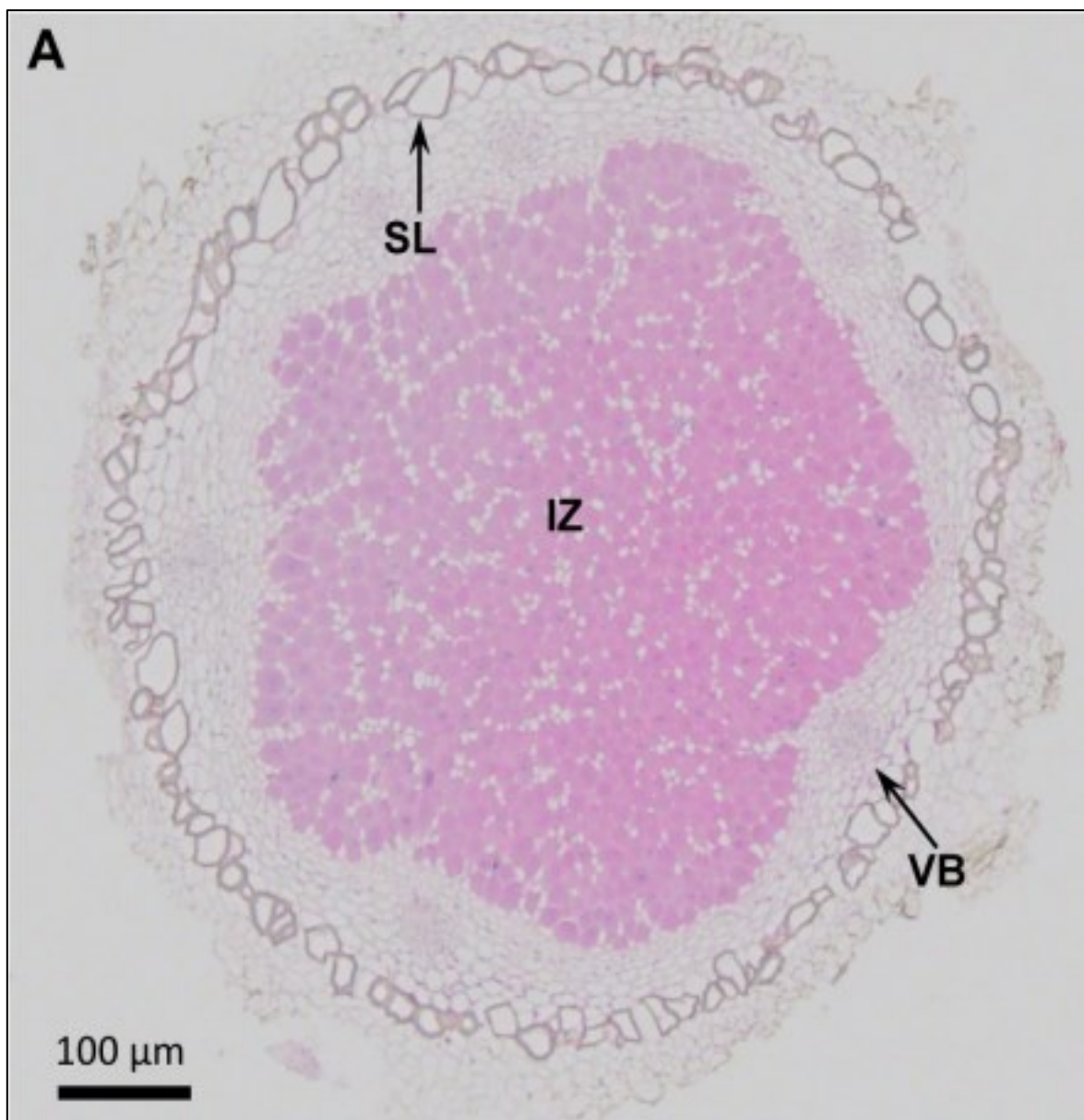


Рис. 112. Поперечный срез клубенька, индуцированного бактериями *Bradyrhizobium diazoefficiens* на сое обыкновенной (*Glycine soja*). IZ – инфицированная бактериями зона; SL – склероидный слой; VB – сосудистый пучок [107]

Бактериальные удобрения для обеспечения растений фосфором

Растения обычно содержат около 0,2% фосфора в пересчете на сухую массу. Данный макроэлемент важен для их развития и роста, но является наименее подвижным питательным веществом, доступным растениям в большинстве почвенных сред. Данную проблему решают микроорганизмы, которые способствуют мобилизации фосфатов, преобразовывая менее доступные формы фосфора в более доступные. Фосфатсольбилизирующие бактерии – это почвенные мик-

роорганизмы, которые минерализуют нерастворимые фосфаты, делая их более доступными для растений. К ним относятся представители родов *Bacillus*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Aerobacter*, *Burkholderia*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Mycobactreium*, *Rhodococcus*, *Sarcina*, *Xanthomonas*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Scytonema*, а также виды *Serratia phosphaticum*, *Escherichia freundii*, *Calothrix brauni*, *Tolypothrix ceylonica*. В микробных сообществах эти бактерии составляют от 1% до 50% от общей популяции микроорганизмов. Они мобилизуют фосфат двумя путями: 1) секретируют органические кислоты, высвобождающие неорганические фосфаты; 2) выделяют ферменты, отщепляющие органические фосфаты. Фосфатсолубилизирующие бактерии улучшают рост растений также благодаря способности к образованию индолилуксусной кислоты и выработке ферментов, эффективных против растительных патогенов [102, 108].

Бактериальные удобрения для обеспечения растений калием

Калий является одним из наиболее важных элементов, усиливающих рост растений. Он играет роль в обмене веществ, синтезе крахмала, участвует в различных ферментных системах, способствует устойчивости к засухе и болезням, контролирует рост корней, регулирует движение устьиц. При недостаточном поступлении калия, ухудшается развитие растений, замедляются темпы роста, снижается урожайность, повышается восприимчивость к болезням и вредителям. В ризосфере обитают микроорганизмы, играющие важную роль в выделении калия из различных нерастворимых соединений. Существует ряд бактерий, солубилизирующих калий, к которым относятся: *Aminobacter*, *Acidothiobacillus ferrooxidans*, *Bacillus circulans*, *Burkholderia*, *Enterobacter hormaechei*, *Paenibacillus sp.*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus glucanolyticus*, *Sphingomonas*. Применение таких микроорганизмов в составе биоудобрений делает калий более доступным для растений. Важное значение имеет группа силикатных бактерий, способных растворять силикатные минералы и высвобождать из них соединения калия. Примерами являются *Bacillus mucilaginosus*. Разрушение силикатов происходит под действием кислот, выделяемых микроорганизмами [102, 108].

6.2. Грибковые биоудобрения

Грибковые биоудобрения – это препараты, основу которых составляют грибы-сапрофиты, эффективно разлагающие различные органические остатки и образующие минеральные соединения. При создании биопрепаратов для повышения плодородия почв и продуктивности растений используются арбускулярные микоризные грибы и эктомикоризные грибы.

Арбускулярные микоризные грибы являются микобионтами, формирующими несептированный многоядерный мицелий, который присутствует и в межклетниках растения-хозяина, образуя внутриклеточные структуры – арбускулы и везикулы (рис. 113). Арбускулы представляют собой древовидные разветвления, целью которых является увеличение площади поверхности, на которой происходит обмен питательных веществ. Везикулы – это овальные вздутия мицелия гриба, проникающего в клетки корня высшего растения при образовании микоризы.

Эктомикоризные грибы не проникают в клетку растения, но колонизируют внешние слои клеток, образуя сеть Гартига – сеть растущих внутри гиф, которая простирается в корень растения-хозяина, проникая между растительными клетками в эпидермисе корня и кортекса (рис. 114–115) [2].

При таком симбиозе растения обеспечивают микоризные грибы углеводами. В свою очередь грибы предоставляют растению-хозяину ряд преимуществ:

1) Увеличивают зону поглощения питательных веществ благодаря быстрому росту гиф. Гифальная сеть может простираться на большие расстояния за пределы зоны поглощения питательных веществ вокруг корней. Таким образом всасывающая поверхность и площадь питания увеличивается до 10 раз [109].

2) Переводят недоступные для поглощения растениями нерастворимые или сложные органические соединения в доступное для растений состояние [109].

3) Улучшают нейтрализацию натрия при солевом стрессе, что способствует повышению толерантности растений в условиях засоления [109].

4) Повышают устойчивость к засухе в силу своей адаптационной способности выживать в условиях нехватки воды в среде [109].

5) Микоризные сети улучшают агрегатное состояние почвы скрепляя почвенные частицы, образуя гломатин, который обуславливает склеивание и повышение гидрофобности агрегатов почвы и их водопрочности [109].

6) Повышают устойчивость к болезням, так как микоризные грибы индуцируют синтез защитных флавоноидов в растительных клетках [109].

7) Облегчают вызванную тяжёлыми металлами токсичность [109].

8) Увеличивают активность фотосинтеза и фитогормональный статус [109].

9) Способствуют накоплению фитохимических веществ, эфирных масел, каротиноидов, флавоноидов и полифенолов [109].

К используемым арбускулярным микоризным грибам относятся представители следующих родов:

- *Trichoderma* (*Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma reesei*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma atroviride*, *Trichoderma koningii*).

- *Aspergillus sp.*
- *Penicillium sp.*
- *Paecilomyces sp.*
- *Alternaria sp.*
- *Glomus sp.*
- *Gigaspora sp.*
- *Paraglomus sp.*
- *Fusarium sp.*,
- *Rhizoctonia sp.*
- *Cephalosporium sp.*
- *Cylindrocladium sp.*
- *Entrophospora sp.*
- *Acaulospora sp.*
- *Epichloë sp.*

А также виды *Torula thermophile*, *Rhodotorula minuta*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Sclerotium rolfisi*, *Rhizophagus irregularis* [102].

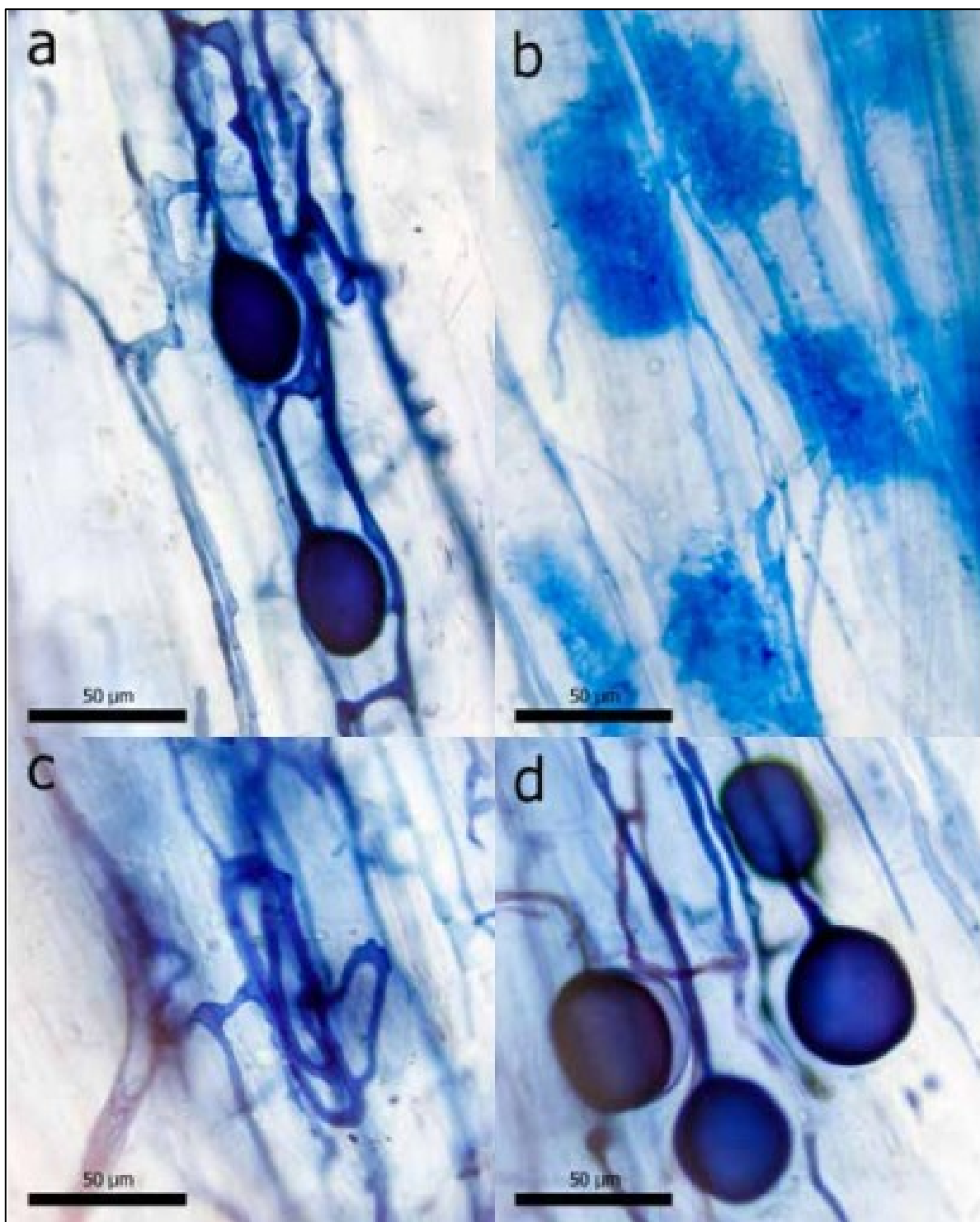


Рис. 113. Арбускулярная микориза в корнях растений: а – везикулы и гифы в корне дудника болотного (*Ostericum palustre*). б – арбускулы и гифы в кортикальных клетках корня растения гирча тминолистная (*Selinum carvifolia*). с – гифы в корне гвоздики пышной (*Dianthus superbus*). d – везикулы и гифы в корне гвоздики пышной (*Dianthus superbus*) [110]

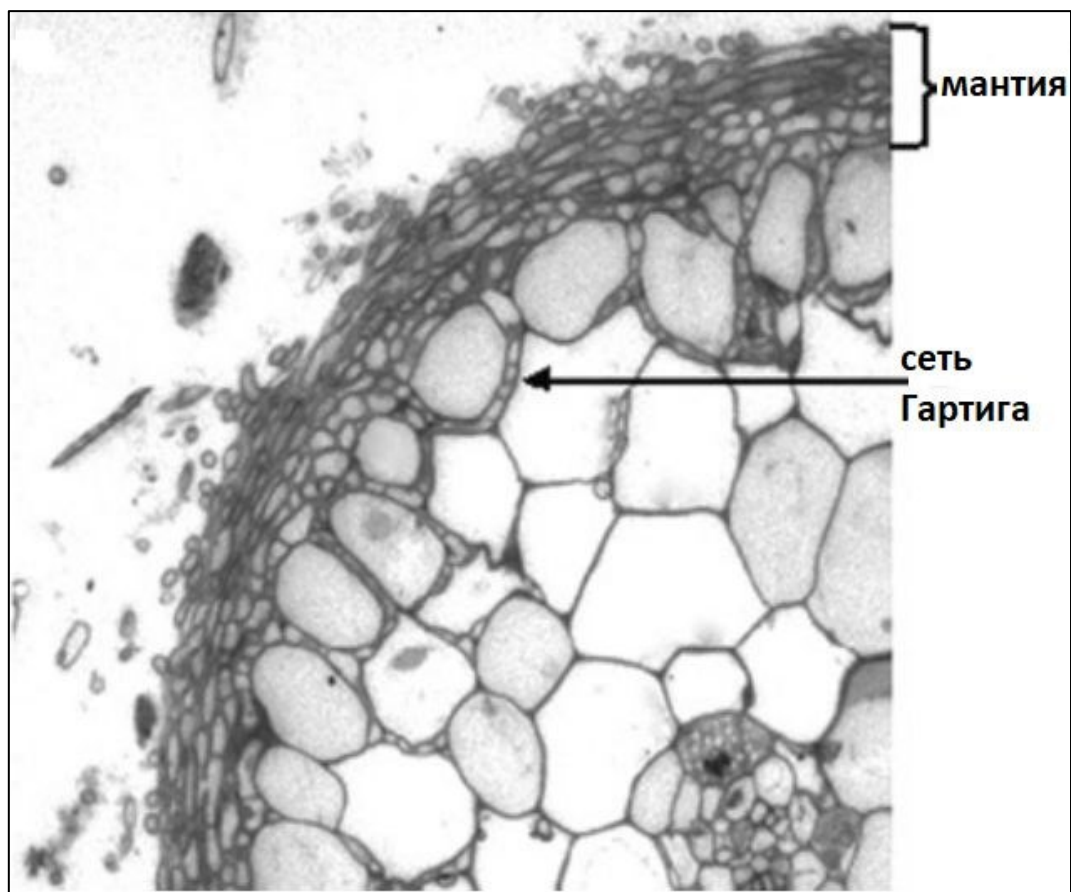


Рис. 114. Поперечный разрез корня тополя волосистоплодного (*Populus trichocarpa*), который демонстрирует гифы гриба, проникающие между клетками эпидермиса и образующие сеть Гартига [111]

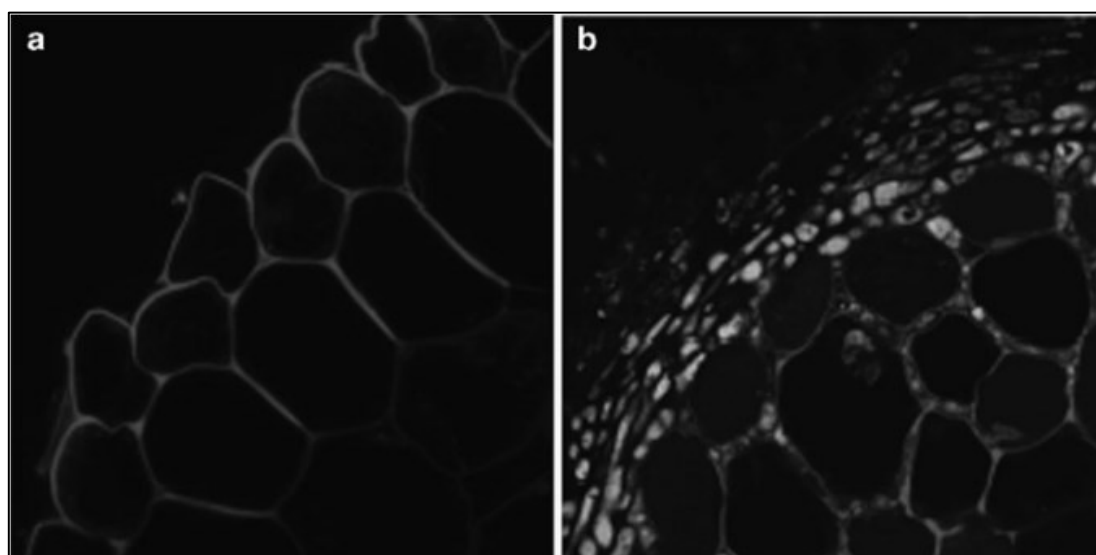


Рис. 115. Локализация грибкового белка в кончиках корней с окрашиванием клеточных стенок йодидом пропидия. а – Поперечный срез неколонизированного корня тополя волосистоплодного (*Populus trichocarpa*); б– Поперечный срез корня с присутствием процесса микоризации [111]

6.3. Биоудобрения на основе водорослей

Водоросли находят применение в сельском хозяйстве в качестве средств для повышения плодородия почвы и продуктивности растений благодаря способности к фотосинтезу и адаптациям к условиям окружающей среды. В качестве биоудобрений используются, как микроводоросли, так и макроводоросли, относящиеся к следующим отделам:

- Зеленые водоросли (*Chlorophyta*). Примерами служат: хлорелла (*Chlorella* sp.), сценедесмус (*Scenedesmus* sp.), хлорококк (*Chlorococcum* sp.).
- Красные водоросли (*Rhodophyta*). Примерами служат: грацилярия (*Gracilaria* sp.), палмария (*Palmaria* sp.).
- Охрофитовые водоросли (*Ochrophyta*). Примерами служат: ламинария пальчаторассечённая (*Laminaria digitata*), аскофиллум узловатый (*Ascophyllum nodosum*), саргассум (*Sargassum* sp.).

Микроводоросли являются азотфиксаторами, могут существовать при экстремальном освещении и ограниченном содержании питательных веществ, таких как С и N. Они способны вырабатывать гормоны роста растений, полисахариды, антибактериальные вещества, а также увеличивать содержание органического углерода в почве, усваивая углекислый газ в процессе фотосинтеза. Выделение экзополисахаридов зелеными микроводорослями улучшает плодородие почвы, всхожесть семян, рост растений, урожайность и питательную ценность сельскохозяйственных культур [105].

Chlorella vulgaris – одна из наиболее часто используемых микроводорослей в составе биоудобрений (рис. 116). Увеличивает содержание общего азота и доступного фосфора в почве. Хлорелла может быть использована в качестве биоудобрения для проращивания семян томатов и огурцов [105].

Морские макроводоросли используются в качестве удобрения с в прибрежных районах с XVIII века. Они содержат биологически активные вещества: каротиноиды, терпеноиды, ксантофиллы, хлорофиллы, фикобилины, полиненасыщенные жирные кислоты, полисахариды, витамины, стерины, токоферол, фикоцианины. Удобрения из морских водорослей повышают всхожесть растений, увеличивают содержание органического углерода и азота в почве, нормализуют pH. В

настоящее время разрабатываются биоудобрения с применением бурых и красных макроводорослей. Например, саргассум (*Sargassum*) – это быстрорастущая бурая макроводоросль с высоким содержанием антиоксидантов, каротиноидов и фенолов. Красные водоросли *Palmaria palmata* и бурые морские водоросли *Laminaria digitata* (рис. 117) увеличивают общее содержание азота, фосфора и углерода в почве, а также доступность фосфора и азота для растений [105].

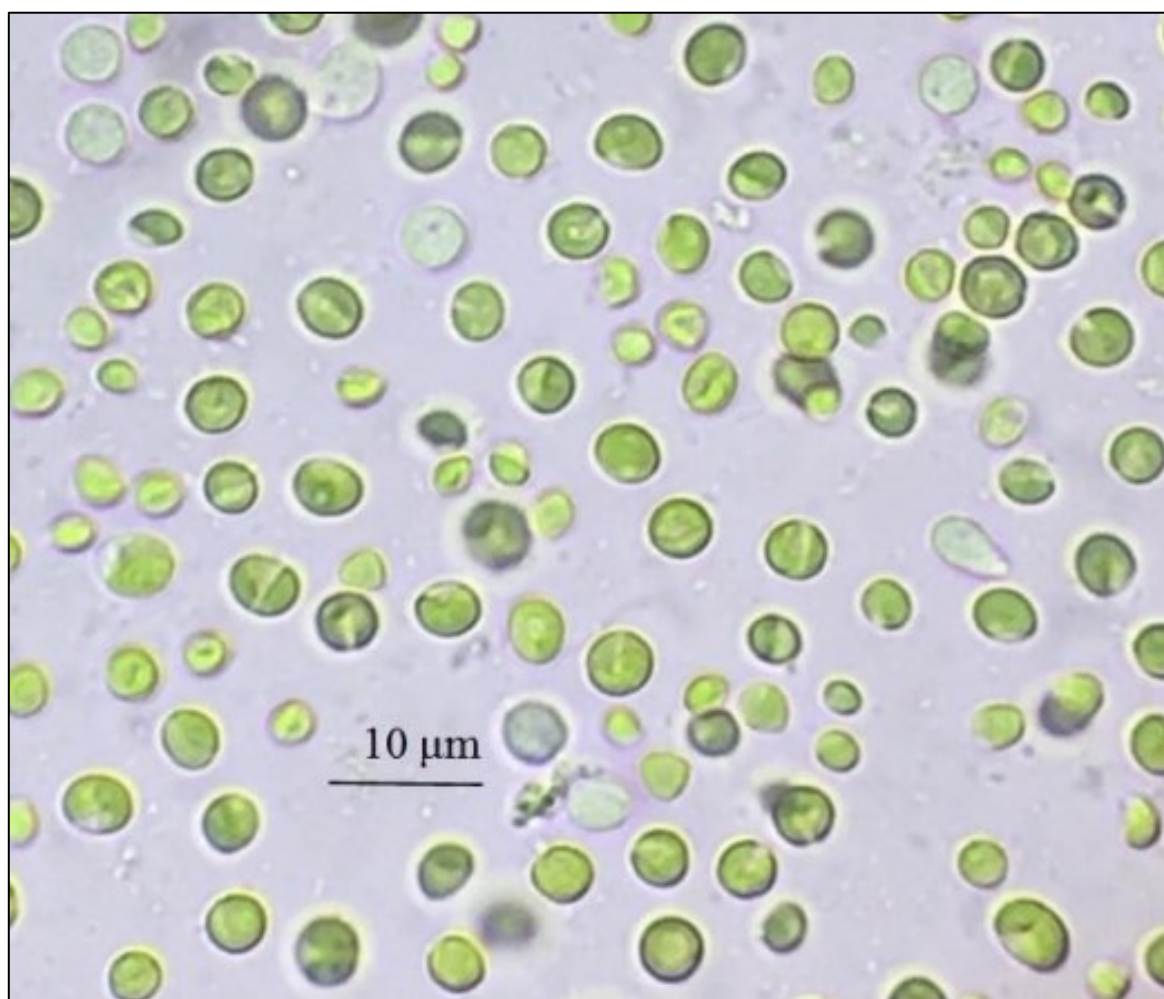


Рис. 116. *Chlorella vulgaris* [112]

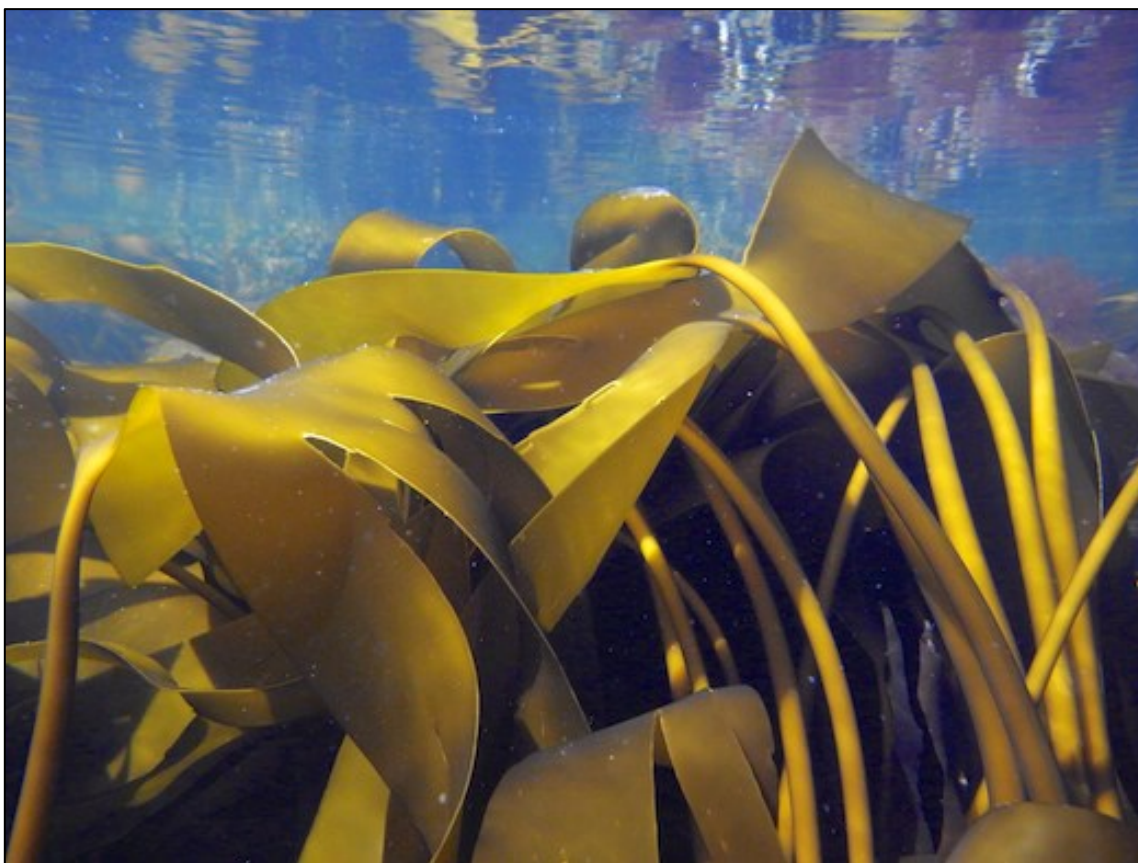


Рис. 117. Ламинария пальчаторассечённая (*Laminaria digitata*). Источник: https://www.seaweed.ie/descriptions/Laminaria_digitata.php

6.4. Перспективы использования архей в биоудобрениях

В настоящее время археи рассматриваются в качестве перспективных микроорганизмов для использования в биопрепаратах, повышающих плодородие почв и продуктивность растений. Они могут участвовать в различных реакциях восстановительного цикла азота, включая азотфиксацию, нитрификацию и денитрификацию. Азотфиксация обнаружена у следующих видов: *Methanosarcina barkeri*, *Methanobacterium bryantii*, *Methanococcus thermolithotrophicus*, *Methanococcus maripaludis*, *Methanospirillum hungatei* [103].

Способность продуцировать индолилуксусную кислоту вывлена у *Sulfolobus acidocaldarius* и некоторых других галофильных архей [103].

Способность архей к обитанию в экстремальных условиях, таких как дефицит влаги и высокая концентрация солей, может использоваться для помощи растениям в преодолении абиотических стрессов.

сов. Так, галофильные археи, растворяющие фосфаты, выделены из ризосферы дикорастущих трав, произрастающих в засоленной индийской пустыне [103].

Выявлены растительно-микробные ассоциации между культурными растениями и представителями архей, которые также могут использоваться при разработке биоудобрений. Примерами служат:

- Тип эвриархеоты (*Euryarchaeota*) обнаруживаются в ризосфере риса посевного (*Oryza sativa*), кукурузы (*Zea mays*), эруки посевной (*Eruca sativa* Mill.), кофейного дерева арабийского (*Coffea arabica* L.), оливы европейской (*Olea europaea* L.), ятрофы куркас (*Jatropha curcas*), вишни (*Cerasus*).

- Тип кренархеоты (*Crenarchaeota*) обнаруживаются в ризосфере томата культурного (*Lycopersicum esculentus*), кофейного дерева арабийского (*Coffea arabica* L.), оливы европейской (*Olea europaea* L.), ятрофы куркас (*Jatropha curcas*), кукурузы (*Zea mays*), эруки посевной (*Eruca sativa* Mill.), тростника южного (*Phragmites australis*), вишни (*Cerasus*).

- Тип *Thaumarchaeota* обнаруживаются в ризосфере риса посевного (*Oryza sativa*), оливы европейской (*Olea europaea* L.), эруки посевной (*Eruca sativa* Mill.).

- Роды *Nitrosopumilus* и *Nitrososphaera* обнаруживаются в ризосфере сарсазана шишковатого (*Halocnemum strobilaceum*).

- Класс *Methanobacteria* обнаруживаются в ризосфере тростника южного (*Phragmites australis*), риса посевного (*Oryza sativa*), красное мангровое дерево (*Rhizophora mangle*).

- Класс *Methanobacteria* обнаруживаются в ризосфере тростника южного (*Phragmites australis*), риса посевного (*Oryza sativa*), красное мангровое дерево (*Rhizophora mangle*) [103].

Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятия «удобрения».
2. Дайте определение понятия «биоудобрения».
3. Какие организмы чаще всего входят в состав биоудобрений?
4. Дайте определение понятия «бактериальные удобрения».

5. Какие механизмы, используемые бактериями, способствуют увеличению продуктивности растений?
6. Дайте определение понятия «биологические азотфиксаторы».
7. Приведите классификацию азотфиксирующих бактерий.
8. Дайте определение понятия «свободноживущие diaзотрофы». Приведите примеры.
9. Дайте определение понятия «ассоциативные diaзотрофы». Приведите примеры.
10. Дайте определение понятия «симбиотические клубеньковые бактерии». Приведите примеры.
11. Дайте определение понятия «фосфатсольюбилизирующие бактерии». Приведите примеры фосфатсольюбилизирующих бактерий.
12. Приведите примеры бактерий, сольюбилизирующих калий.
13. Дайте определение понятия «грибковые биоудобрения».
14. Дайте определение понятия «арбускулярные микоризные грибы». Приведите примеры.
15. Дайте определение понятия «эктомикоризные грибы».
16. Дайте определение понятий «арбускулы», «везикулы».
17. Что такое сеть Гартига?
18. Перечислите преимущества, которые предоставляют арбускулярные микоризные грибы растению-хозяину.
19. Водоросли каких отделов используются для производства биоудобрений? Приведите примеры соответствующих растений.
20. Какие свойства микроводорослей способствуют их использованию в качестве биоудобрений?
21. Приведите примеры микроводорослей, используемых для производства биоудобрений.
22. Какие свойства макроводорослей способствуют их использованию в качестве биоудобрений?
23. Приведите примеры макроводорослей, используемых для производства биоудобрений.
24. В связи с какими особенностями археи рассматриваются в качестве перспективных микроорганизмов для использования в биоудобрениях?
25. Приведите примеры растительно-микробных ассоциаций между культурными растениями и представителями архей.

Глава 7. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЙ В БИОРЕМЕДИАЦИИ

7.1. Основы биоремедиации

Экологические опасности и риски, возникающие в результате накопления отходов или токсичных химических веществ могут быть уменьшены или устранены благодаря применению биоремедиации [2].

Биоремедиация – это комплекс методов очистки, основанный на использовании биологических систем для разложения или преобразования загрязняющих веществ в менее токсичные или нетоксичные формы, устраняя загрязнение окружающей среды. Данная технология использует широкий потенциал биохимических процессов живых организмов для ассимиляции, переваривания или преобразования опасных веществ в менее вредные или нетоксичные формы.

К преимуществам биоремедиации относятся:

- Экологичность. Как правило, в процессе биоремедиации отсутствуют вторичные отходы, что является преимуществом для обеспечения безопасности окружающей среды.

- Эффективность.

- Экономичность, которая выражается в низкой стоимости.

К биологическим агентам, используемым для биоремедиации, относятся: бактерии, грибы, простейшие, растения, животные (рис. 118). Они применяются для очистки почвы, водоемов и грунтовых вод, воздуха от органических и неорганических загрязнений [2].

Методы биоремедиации можно разделить на *in situ* (на исходном месте) и *ex situ* (вне исходного места). Основные методы перечислены на рисунке 119. Выбор конкретного метода зависит от свойств очищаемой среды и характеристик загрязнителя [4].



Рис. 118. Биологические агенты, используемые для биоремедиации



Рис. 119. Основные методы биоремедиации

Биовентиляция – это метод очистки загрязнённых почв и грунтовых вод, основанный на увеличении притока кислорода для стимуляции роста естественных или интродуцированных микроорганизмов.

Биостимуляция – это метод очистки окружающей среды, основанный на активизации жизнедеятельности автохтонной микробиоты путем внесения питательных веществ.

Биоаугментация – это метод очистки окружающей среды, основанный на введении селективно приспособленных природных штаммов или генетически измененных микроорганизмов, способных справиться с загрязняющими веществами.

Биоконцентрирование – это метод очистки окружающей среды, основанный на накоплении загрязняющего вещества в локальной зоне путем адсорбции или иммобилизации биообъектами.

Биовыщелачивание – это метод очистки окружающей среды, основанный на избирательном извлечении микроорганизмами химических элементов из многокомпонентных соединений посредством их растворения в водной среде.

Обработка в биореакторах – это метод очистки окружающей среды, основанный на деструкции загрязнений из транспортированной в биореакторы почвы, где созданы оптимальные условия для развития микроорганизмов.

7.2. Организмы, применяемые в биоремедиации

Ксенобиотики – это искусственные синтетические соединения, которые, как правило, не встречаются в природе. Большинство ксенобиотических соединений являются стойкими, а некоторые из них подвергаются биологическому усилению до вредных уровней. Некоторые ксенобиотики сохраняются в окружающей среде длительное время, поскольку сохраняют свою молекулярную целостность, физические, химические и функциональные характеристики [2].

Биомагнификация – это постепенное повышение концентрации ксенобиотических соединений по мере их прохождения по пищевой цепи. Например, ДДТ (дихлордифенилтрихлорэтан), который поглощается растениями, микроорганизмами, фитопланктоном, зоопланктоном, не только передается по пищевой цепи, но и накапливается в основном в жирах организма. Некоторые морские птицы накапливают ДДТ в печени до токсичного уровня, что снижает их плодовитость и вызывает заболевания.

Регулярное воздействие даже низких концентраций таких химических веществ может привести к их накоплению в организме человека. Ксенобиотики могут вызывать заболевания кожи, крови и сердечно-сосудистой системы, болезни органов дыхания, репродуктив-

ной системы, а также аллергические и аутоиммунные заболевания. Различные галогенированные углеводороды обладают канцерогенными свойствами.

Химические вещества, которые трудно разлагаются в окружающей среде, представляют интерес для исследователей в области экологической биотехнологии. В связи с тем, что микроорганизмы могут расщеплять различные вещества для своего роста и удовлетворения энергетических потребностей, проводятся многочисленные исследования, направленные на выявление микроорганизмов, способных разрушать ксенобиотики. Воздействие химических веществ вызывает изменения в микробном сообществе, стимулирует эволюцию новых катаболических путей, позволяя микроорганизмам адаптироваться к загрязнению окружающей среды. Развитие способности усваивать стойкое соединение дает преимущество до тех пор, пока эта способность не распространится по всему микробному сообществу путем горизонтального переноса генов [2, 113].

Скорость биodeградации ксенобиотиков в окружающей среде может варьироваться от нескольких дней и недель до нескольких лет и десятилетий. Биodeградация зависит от химической структуры и физического состояния соединения. Кроме того, она может быть полной и неполной. Полная биodeградация приводит к детоксикации путем минерализации загрязняющих веществ до углекислого газа, воды и безвредных неорганических солей. При неполной биodeградации образуются продукты распада, которые могут быть менее токсичными, чем исходный загрязнитель [2].

7.2.1. Использование бактерий для биоремедиации

Бактерии являются наиболее активными организмами, участвующими в биodeградации органических отходов. Виды *Rhodococcus* способны разлагать широкий спектр органических соединений, что может быть обусловлено тремя факторами: наличием генов, кодирующих различные моно- и диоксигеназы, способностью переносить токсичные соединения и наличием крупных линейных плазмид. Большой набор биоразлагающих генов, которыми обладают *Rhodococcus*, широкое распространение в почве и наличие крупных линейных конъюгативных катаболических плазмид позволяет этому

роду быстро реагировать на новые химические соединения и развивать соответствующие пути катаболизма, чтобы использовать преимущества новых потенциальных источников углерода и энергии. для роста. Таким образом, основным фактором эволюции бактериальных катаболических путей являются конъюгативные плазмиды широкого спектра действия [113].

Известно, что некоторые виды *Desulfovibrio* и *Geobacter* используются для преобразования радионуклидов [113].

К бактериям, ответственным за деградацию полициклических ароматических углеводородов, относятся: *Achromobacter sp.*, *Bacillus sp.*, *Mycobacterium sp.*, *Burkholderia sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Rhodococcus sp.*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Sphingomonas sp.*, *Xanthomonas sp.* [114].

В современных методах биоремедиации генетически модифицированные организмы играют ключевую роль. Введение чужеродного гена в бактерии превращает их в уникальные штаммы с повышенными возможностями быстрого расщепления загрязняющих веществ. Использование генетически модифицированных бактерий имеет ряд преимуществ, таких как точность, эффективность и универсальность.

Генетически модифицированные штаммы кишечной палочки (*Escherichia coli*) широко используются в качестве высокоэффективного агента в процессе биоремедиации. Примерами служат:

- Штамм *E. coli* SE5000, которая обладает геном *nixA*, отвечающим за активацию транспортной системы Ni^{2+} , позволяющую эффективно устранять загрязнение никелем.
- Штамм *E. coli* FACU, которая обладает способностью восстанавливать Cr (IV) до Cr (III), демонстрируя большой потенциал в биоремедиации опасных соединений хрома в аэробных условиях.
- Рекомбинантная кишечная палочка, экспрессирующая ген металлотioneина для поглощения Cd.
- Сверхэкспрессия ферментов *almA*, *xylE* и *p450cam* генетически модифицированной *E. Coli* способствует ликвидации нефтяных загрязнителей в почве, вызванных разливами нефти.
- Штамм *E. coli* JM109 может использоваться в устранении загрязнения ртутью Hg^{2+} благодаря синтезу белка *merT-merP* и металлотioneина, которые отвечают за накопление ртути в организме.

- Штам *E. coli*, метаболизирующий трихлорэтилен после трансформации с различными фенольными катаболическими генами, такими как *pheA*, *pheB*, *pheC*, *pheD* и *pheR*.

- Рекомбинантная *E. Coli* с инкапсулирующей *AtzA*, которая используется для деградации атразина [114].

Наиболее опасными поллютантами, присутствующими в почве и воде, являются нефть и нефтепродукты. Нефтепродукты – это смеси углеводородов, а также химические соединения, получаемые из нефти и нефтяных газов. К ним относятся: бензин, керосин, дизельное топливо, смазочные материалы, растворители, нефтехимическое сырьё. При деструкции нефтяных загрязнений почвы следует учитывать наличие среди автохтонной микрофлоры бактерий, способных окислять углеводороды. К ним относятся представители родов *Rhodococcus*, *Mycobacterium*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Nocardia*. Степень разложения нефтяных углеводородов связана с множеством факторов, таких как наличие питательных веществ для целевых микроорганизмов, pH, содержание кислорода, температура. Например, высокая соленость может значительно препятствовать биоразложению, так как снижает гидрофобность клеточной поверхности, ограничивает продуктивность биоэмульгаторов и деградацию нерастворимых длинноцепочечных n-алканов. Молекулярный кислород участвует в окислении субстрата, опосредованном оксидазой в процессе аэробной деградации, способствуя расщеплению колец и выступая в качестве терминального акцептора электронов. Добавление необходимых питательных веществ может усилить процесс микробного разложения нефтяных углеводородов. Достаточное содержание азота и фосфора обеспечивает выживаемость и деградационную активность модифицированного штамма *Acinetobacter* sp. HC8-3S-9 при биоаугментации нефти. Таким образом, создавая оптимальные условия для развития микроорганизмов, разлагающих нефтепродукты, можно повысить эффективность очистки [115].

Также для биоремедиации окружающей среды от нефтяных загрязнений применяются биопрепараты, созданные на основе бактерий, разлагающих углеводороды. В их состав входят особые штаммы родов *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Shigella*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*,

Flavobacterium, *Arthrobacterium*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Mycobacterium*, и другие [2, 4, 114].

Микроорганизмы демонстрируют различные функциональные механизмы, связанные с разложением нефти. К ним относятся:

- Наличие генов, ответственных за трансформацию и метаболизм нефтяных углеводородов. Например, *alkB*, *LadA*, *pcaG*, *nahAc*, *nahH*, *alkJ*, кодирующие алканмонооксигеназу, кольцевую гидроксигенирующую диоксигеназу, нафталиндиоксигеназу, катехол2,3-диоксигеназу и алифатическую спиртдегидрогеназу соответственно.

- Синтез биологических поверхностно-активных веществ, которые могут эффективно снижать поверхностное и межфазное натяжение между водной и органической фазами, что важно для растворимости и биодоступности гидрофобных загрязнителей, связанных с углеводородами.

Примером бактерий, разрушающих нефтепродукты, может служить синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*), которая является одной из хорошо изученных бактерий, способных разлагать алканы, моноароматические соединения, нафталин и фенантрен в аэробных условиях (рис. 120) [2, 115].



Рис. 120. Сканирующая электронная микрофотография штамма *Pseudomonas aeruginosa* AQNU-1 [115]

Металлы являются естественным компонентом почв, некоторые из них служат необходимыми микроэлементами для развития растений. Тем не менее, они являются одними из наиболее опасных соединений в окружающей среде. К таким элементам относятся Pb, Cu, Ni, Hg, Cr, Cd, Zn, металлоид As. Тяжелые металлы представляют собой основной источник неорганического загрязнения. Они способны накапливаться в почве и воде, приводя к подавлению роста и гибели живых организмов, нарушению структуры микробиоценоза, снижению плодородия почвы. Удаление тяжелых металлов из почвы представляет собой серьезную проблему, поскольку они не поддаются биологическому разложению. Детоксикация может быть достигнута путем изменения степени их окисления. В настоящее время в качестве инструмента биоремедиации широко используется способность микроорганизмов трансформировать тяжелые металлы. Проводятся исследования, позволяющие понять, как модельные организмы реагируют на тяжелые металлы и преобразуют их. Например, изучение доступности полных последовательностей генома микроорганизмов, восстанавливающих металлы, *Shewanella oneidensis* и *Geobacter sulfurreducens*, привела к новому пониманию того, какие гены могут быть вовлечены в восстановление металлов [113].

Некоторые регуляторные механизмы, выработанные бактериями в ответ на стресс, вызванный воздействием металлов, включают:

- Усиление экспрессии внеклеточных полимеров или сидерофоров, содержащих функциональные группы, способные координировать ионы металлов. Таким образом, при воздействии металлов они могут быть подвержены уменьшенному поглощению или усиленному оттоку мембранными транспортерами.

- Осаждение металлов в виде оксидов, сульфидов, белковых агрегатов или кристаллов.

- Связывание тяжелых металлов с клеточной мембраной, клеточной стенкой и внеклеточными полисахаридами. Биосорбция с помощью хемосорбционных сайтов, таких как тейхоевые кислоты. Использование цитоплазматических белков (бактериоферритин, металлотioneины) для связывания, секвестрации или хранения металлов. Установлена способность некоторых цианобактерий поглощать и накапливать металлы. К данным организмам относятся: *Oscillatoria sp.*, *Gloeocapsa sp.*, *Anabaena sp.*, *Aulosira sp.*, *Nostoc sp.*, *Westiellopsis*

sp., *Fischerella sp.*, *Lyngbya sp.*, *Tolypothrix tenuis*, *Stigonema sp.*, *Phormidium sp.*, *Arthrospira platensis* [105].

- Использование металлов в специфических окислительно-восстановительных и ковалентных реакциях, которые превращают их в менее токсичные формы с помощью различных клеточных ферментов. Например, ртутьоксидаза восстанавливает Hg^{2+} до Hg, которая имеет низкую температуру испарения и диффундирует из клетки.

- Вытеснение тяжелых металлов из цитоплазмы во внешнюю среду с помощью катион-протонного антипортера, присутствующего на клеточной мембране. Характерно для некоторых грамотрицательных бактерии, например, *Alcaligenes eutrophus* [2].

- Выработка 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатдеаминазы, снижающей концентрацию этилена, вызывающего стресс у растений и вырабатываемого при воздействии тяжелых металлов. К продуцентам данного фермента относятся бактерии: *Achromobacter chroococcum*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Ralstonia metallidurans*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Variovox paradoxus*, *Kluyvera ascorbata*, *Bradyrhizobium sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Brevibacillus sp.*, *Rhizobium sp.*, *Sinorhizobium sp.*, *Mesorhizobium sp.*, *Ochrobactrum sp.*, *Psychrobacter sp.*, *Xanthomonas sp.* [102].

Пестициды также являются одними из распространенных токсичных химических веществ, загрязняющих почву и оказывающих негативное воздействие на окружающую среду. Микроорганизмы используют ферментативную деградацию в качестве основного механизма разложения пестицидов. Этот процесс включает следующие ферменты: эстеразы, монооксигеназы, гидролазы и глутатион-S-трансферазы. Разложение пестицидов микроорганизмами зависит как от ферментативных систем, так и от условий окружающей среды (температуры, pH, доступных питательных веществ) [102].

Установлено, что способность снижать токсичность пестицидов характерна для следующих родов бактерий: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Acinetobacter*, *Klebsiella*, *Moraxella*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Paenibacillus*, *Serratia*, *Enterobacter*. Например, бактерии *Raoultella sp.* и *Paracoccus sp.* способны к метаболическому расщеплению соединения димето-

ата. *Arthrobacter nicotinovorans* могут разлагать атразин, симазин, пропазин и цианазин.

7.2.2. Использование грибов для биоремедиации

Микоремедиация – это метод биоремедиации, основанный на использовании грибов для разложения или связывания загрязняющих веществ в окружающей среде. Грибы являются важными разрушителями биополимеров и используются при переработке твердых отходов, особенно при компостировании и биоремедиации почвы.

Грибы играют важную роль в биоремедиации благодаря своей структуре и разнообразным метаболическим возможностям. Они способны выживать в различных средах обитания, преимущественно, в почве, а также в пресных и морских водах. Разнообразие местообитаний и способность выделять множество ферментов делают грибы перспективными кандидатами для биоремедиации от различных токсичных и трудноразлагаемых соединений: нефтепродуктов, полиароматических углеводородов, фармацевтических препаратов, пестицидов, красителей, а также сточных вод текстильной и целлюлозной промышленности, кожевенной промышленности [116].

Грибы, вызывающие белую гниль, являются основными агентами биологического разложения древесных материалов в природе. Примерами таких организмов могут служить: траметес разноцветный (*Trametes versicolor*) (рис. 121), бьеркандера опалённая (*Bjerkandera adjusta*), пилолистник тигровый (*Lentinus tigrinus*), вешенка обыкновенная (*Pleurotus ostreatus*) (рис. 122), трутовик щетинистоволосый (*Inonotus hispidus*), флебия дрожжащая (*Phlebia tremellosa*), *Hirschioporus larincinus*, *Phanerochaete chrysosporium*, трутовик окаймлённый (*Fomitopsis pinicola*) и другие. Лигнинолитические ферменты (лакказы и пероксидазы), выделяемые этими грибами, применяются для преобразования различных органических загрязнителей [116].

Некоторые грибы, разлагающие лигнин, такие как *Phanerochaete chrysosporium*, способны разрушать и различные загрязняющие вещества, например, пентахлорфенол и диоксин [2].

Внеклеточные лигнинолитические ферменты обладают способностью адсорбировать красители, что также используется для разру-

шения или обесцвечивания красителей в сточных водах различными видами вешенок (*Pleurotus*), траметесом разноцветным (*Trametes versicolor*), *Hirschioporus larincinus*, трутовиком щетинистоволосым (*Inonotus hispidus*), флэбии дрожащей (*Phlebia tremellosa*), *Phanerochaete chrysosporium* [116].

Виды грибов, вызывающих белую гниль, снижают общее содержание фенольных соединений. Для рекультивации почвы, загрязненной крезолатом могут использоваться некоторые штаммы траметеса разноцветного (*Trametes versicolor*) и пилолистник тигровый (*Lentinus tigrinus*) [116].



Рис. 121. Траметес разноцветный (*Trametes versicolor*) [117]



Рис. 122. Вешенка обыкновенная (*Pleurotus ostreatus*) [117]

Грибы, вызывающие белую гниль, также синтезируют лакказу – фермент, катализирующий реакции окисления ароматических и неароматических соединений. Например, траметес разноцветный (*Trametes versicolor*) и вешенка обыкновенная (*Pleurotus ostreatus*), синтезирующие данный фермент, показали свою эффективность в удалении фенантрена и пирена [116].

В отличие от бактерий, высшие грибы могут минерализовать полициклические ароматические углеводороды с 4 и более конденсированными ароматическими кольцами, что связано с синтезом комплекса внеклеточных ферментов. Примерами являются траметес разноцветный (*Trametes versicolor*) и трутовик окаймлённый (*Fomitopsis pinicola*). Таким образом воздействие грибов делает доступными для

бактерий углеводороды с большим количеством ароматических колец. Процесс деструкции полициклических ароматических углеводородов в этом случае происходит более полно [118].

Высшие грибы способны поглощать тяжелые металлы и накапливать их в плодовых телах, что позволяет использовать их в целях биоремедиации. К числу перспективных грибов-биосорбентов относится вид траметес разноцветный (*Trametes versicolor*) (рис. 123) [119].

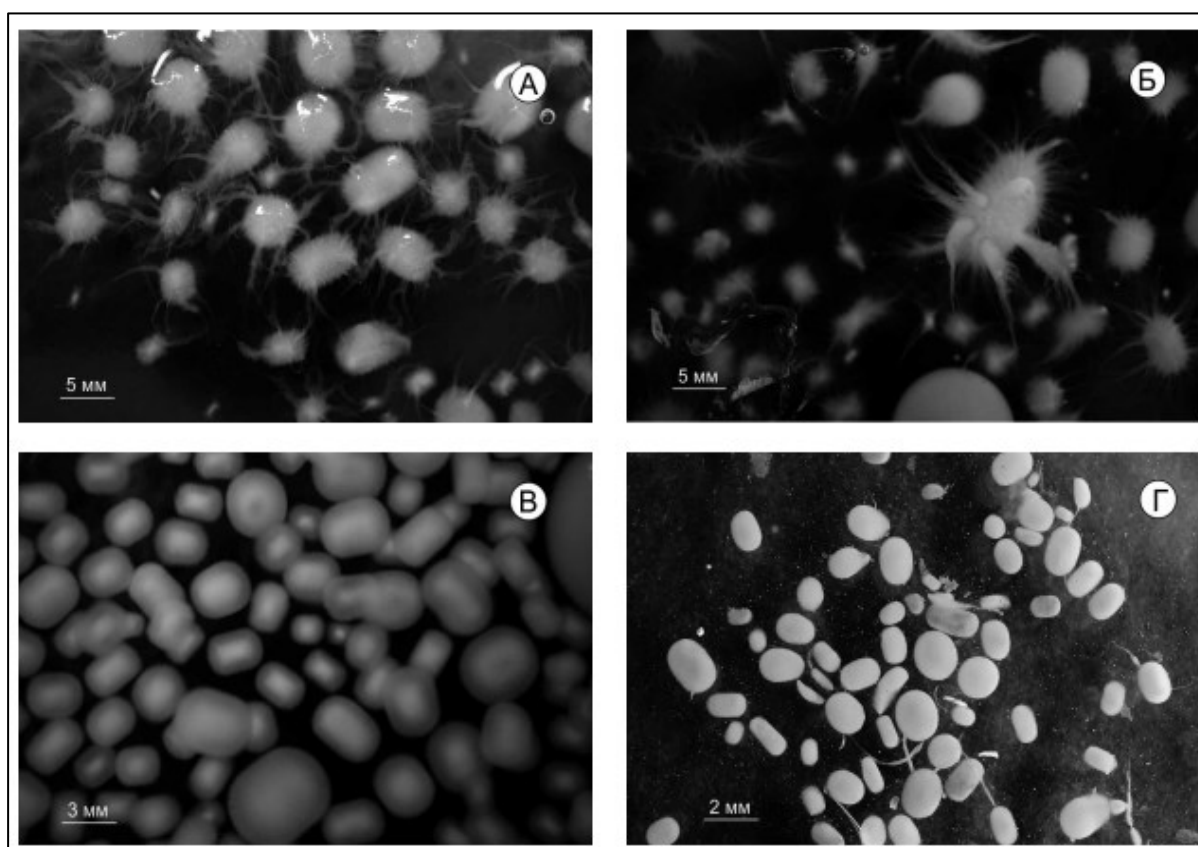


Рис. 123. Морфология мицелия гриба траметес разноцветный (*Trametes versicolor*) в погружённой культуре в зависимости от наличия в среде ионов металлов: А – контроль, Б – Pb(II), В – Cu(II), Г – Zn(II) [119]

К грибам, которые широко используются для биоремедиации от пестицидов, относятся:

- представители рода Аспергилл (*Aspergillus*): аспергилл чёрный (*Aspergillus niger*), аспергилл желтый (*Aspergillus flavus*), аспергилл дымящий (*Aspergillus fumigates*), аспергилл земляной (*Aspergillus terreus*), *Aspergillus sydowii*,

- представители рода Фанерохета (*Phanerochaete*): *Phanerochaete chrysosporium*, *Phanerochaete sordida*,
- представители рода Траметес (*Trametes*),
- представители рода Полипорус (*Polyporus*),
- *Fusarium oxysporum*,
- *Penicillium chrysogenum*,
- *Cyathus bulleri*.

Потенциал морских грибов в биоремедиации связан с их способностью адаптироваться к условиям с высокого солесодержания и экстремальных значений pH, что обеспечивает биологическое преимущество перед наземными грибами. Морские грибы способны переносить высокие концентрации тяжелых металлов, таких как свинец и медь. Для улучшения биоремедиации токсичных и стойких органических загрязнителей используется свойство морских грибов синтезировать лакказу, устойчивую к высокой солености и фенольным соединениям [116].

Грибы, обитающие в экстремальных условиях, очень важны с промышленной точки зрения благодаря ферментам, которые обладают устойчивостью к высоким температурам, широкому диапазону pH и другим суровым условиям. Психрофильный гриб *Cryptococcus sp.*, выделенный из глубоководных отложений, показал устойчивость в присутствии высоких концентраций тяжелых металлов. Многие гидролитические ферменты, синтезируемые грибами, участвуют в процессах восстановления в экстремальных условиях, таких как высокая соленость и загрязнение нефтью. Например, *Pestalotiopsis palmarum* синтезирует лакказу. *Lecanicillium muscarium* продуцирует хитиназу, способную воздействовать на хитин [116].

Грибы вступают в тесную связь с растениями и бактериями. Арбускулярные микоризные грибы представляют собой наиболее распространенные симбиотические отношения между грибами и растениями. Например, *Rhizophagus custos* повышает устойчивость растений к полициклическим ароматическим углеводородам, особенно к антрацену. Эктомикоризные грибы козляк (*Suillus bovinus*) и ризопогон розоватый (*Rhizopogon roseolus*), образующие симбиоз с сосной, способствуют удалению кадмия из почвы [116].

7.2.3. Использование растений для биоремедиации

Фиторемедиация – это метод биоремедиации, основанный на использовании растений. В биоремедиации могут использоваться, как низшие, так и высшие растения.

Биологическая роль растений в восстановлении загрязненных почв связана с их способностью получать необходимые минеральные элементы из окружающей среды [4].

Основными фиторемедиационными технологиями являются:

1) ризофильтрация (фитофильтрация) – избирательная адсорбция или осаждение растворенных веществ, находящихся в растворе, окружающем корневую зону, на поверхности корней растений [4, 120];

2) фитоэкстракция (фитоаккумуляция/ фитосорбция/ фитосеквестрация) – это поглощение и накопление опасных загрязнителей из почвы или воды корнями растений и их перемещение в надземную биомассу [4, 120];

3) фитоиспарение (фитоволатизация) – вынос поллютантов из почвы посредством их трансформации растениями в летучие формы и транспирации в атмосферу [4, 120];

4) фитостабилизация – перевод химических соединений в корневой зоне определенных видов растений в менее подвижную и активную форму, что предотвращает миграцию загрязняющих веществ в почве [4, 120];

5) фитодеградация и фитотрансформация – разложение или изменение через метаболические процессы растениями и симбиотическими организмами преимущественно органической части загрязнений [4, 120];

6) фитостимуляция – стимуляция растениями развития симбиотических микроорганизмов, принимающих участие в процессе очистки [4, 120].

Фиторемедиация наиболее часто используется для удаления тяжелых металлов и металлоидов из загрязненных почв, грунтовых вод, донных отложений. Основным методом при этом является фитоэкстракция, эффективность которой зависит от биодоступности тяжелых металлов, свойств почвы, видового состава растений. Растения, под-

ходящие для фитоэкстракции, должны обладать следующими характеристиками:

- Высокая скорость роста [120].
- Производство большого количества надземной биомассы [120].
- Обширная и сильно разветвленная корневая система [120].
- Перемещение накопленных тяжелых металлов из корней в побеги [120].
- Устойчивость к токсическому воздействию целевых тяжелых металлов [120].
- Хорошая адаптация к преобладающим экологическим и климатическим условиям [120].
- Устойчивость к патогенам и вредителям [120].
- Простота выращивания и сбора урожая [120].
- Отсутствие использования в качестве пищи травоядными животными во избежание передачи по пищевой цепи [120].

Фитоэкстракционный потенциал растений в основном определяется двумя ключевыми факторами: концентрацией металлов в побегах и биомассой побегов [120].

Для фитоэкстракции тяжелых металлов обычно применяются два подхода:

1) Использование гипераккумуляторов, которые производят сравнительно меньше надземной биомассы, но накапливают целевые тяжелые металлы в большей степени [120].

2) Применение растений, которые накапливают целевые тяжелые металлы в меньшей степени, но производят больше надземной биомассы, так что общее накопление сравнимо с накоплением гипераккумуляторов за счет производства большего количества биомассы. Примером может служить горчица сарептская (*Brassica juncea*) [120].

Для фитоэкстракции более предпочтительны травы, в сравнении с кустарниками и деревьями, из-за их высокой скорости роста, большей приспособляемости к стрессовым условиям окружающей среды и высокой биомассы [120].

Наиболее важными растительными белками, участвующими в накоплении металлов и их переносимости, являются фитохелатины и металлотионеины. Они богаты сульфгидрильными группами цистеи-

на, которые связывают и изолируют ионы тяжелых металлов в очень стабильные комплексы [120].

Водоросли обладают значительной способностью связывать металлы, что связано с наличием на поверхности их клеточных стенок полисахаридов, белков и липидов, которые включают функциональные группы, выступающие в качестве мест связывания металлов. Таким образом, клеточные стенки могут задерживать тяжелые металлы. Пептидные цепи водорослей связываются с тяжелыми металлами, образуя металлоорганические комплексы, которые проникают в вакуоли и регулируют концентрацию этих элементов в цитоплазме. К водорослям, способным к поглощению и накоплению металлов относятся: ламинария японская (*Laminaria japonica*), фукус пузырчатый (*Fucus vesiculosus*), *Ascophyllum nodosum*, *Platymonas subcordiformis*, *Closterium lunula*, *Tetraselmis chuii*, *Micrasterias denticulate*, а также *Chlorella* sp., *Spirogyra* sp., *Scenedesmus* sp., *Sargassum* sp., *Padina* sp., *Dunaliella* sp. *Chlorococcum* sp. [105].

Разрабатываются методы фиторемедиации окружающей среды при загрязнении нефтепродуктами. Например, арахис культурный (*Arachis hypogaea* L.), амарант гибридный (*Amaranthus hybridus*), целозия гребенчатая (*Celosia argentea*), посаженные в почве, загрязненной смесью нефтепродуктов, снизили общее содержание углеводов примерно на 80%. Также в подобных исследованиях использовались водяной гиацинт (*Eichhornia crassipes*), абльмош съедобный (*Abelmoschus esculentus*), *Scirpus grossus*, *Telfairia occidentalis* [121].

Проводились исследования по использованию древесных культур для фитоэкстракции пестицидов. Эффективность показали эвкалипт красный лесной (*Eucalyptus tereticornis*), леуцена светлоголовчатая (*Leucaena leucosephala*), мелия азедарах (*Melia azedarach* L.), клен остролистный (*Acer platanoides* L.), клен белый (*Acer pseudoplatanus* L.), береза повислая (*Betula pendula*), дуб черешчатый (*Quercus robur* L.), липа мелколистная (*Tilia cordata*), вяз гладкий (*Ulmus laevis*), а также сосна (*Pinus* sp.), ива (*Salix* sp.), тополь (*Populus* sp.) [122].

Некоторые виды зеленых водорослей также обладают способностью разлагать фосфорорганические инсектициды, такие как хлорпифос, монокротофос и хиналфос [2].

7.2.4. Использование простейших для биоремедиации

Простейшие в меньшей степени используются в целях биоремедиации. В ряде исследований установлено, что *Stylonychia mytilus*, *Vorticella microstoma* и некоторые виды *Peranema* способны удалять тяжелые металлы из сред [123].

7.2.5. Использование животных для биоремедиации

Дождевые черви часто используются для биоремедиации загрязнённой почвы.

Опубликованы исследования биоремедиации почвы, загрязненной дизельным топливом с помощью червей *Eudrilus eugeniae* (рис. 124). Они улучшили физико-химические свойства загрязнённой почвы, значительно снизили концентрацию тяжёлых металлов, общих углеводов, бензола, толуола, этилбензола и ксилола [124].



Рис. 124. *Eudrilus eugeniae* [124]

Компостный червь (*Eisenia fetida*) (рис. 125) применялся для биоремедиации почв от пирена и бенз(а)пирена [124].

Использование обыкновенного дождевого червя (*Lumbricus terrestris*) (рис. 126) способствовало снижению pH почвы [124].



Рис. 125. *Eisenia fetida* [125]



Рис. 126. Дождевой червь (*Lumbricus terrestris*) [125]

Aporrectodea longa, *Eudrilus eugeniae*, *Lumbricus rubellus* и некоторые другие виды червей используются для биоремедиации почв от тяжелых металлов [124].

Увеличивается применение трансгенных животных в биоремедиации в связи с тем, что они могут быть сконструированы для экспрессии определенных ферментов или других белков, которые могут расщеплять целевые загрязняющие вещества. Например, разработаны трансгенные рыбы, которые могут эффективно метаболизировать загрязняющие вещества и обладают способностью расщеплять токсичные соединения, снижая их воздействие на водные экосистемы.

Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятия «биоремедиация».
2. Перечислите биологические агенты, используемые для биоремедиации.
3. Перечислите преимущества биоремедиации.
4. Перечислите основные методы биоремедиации.
5. Дайте характеристику метода биовентиляции.
6. Дайте характеристику метода биостимуляции.
7. Дайте характеристику метода биоаугментации.
8. Дайте характеристику метода биоконцентрирования.
9. Дайте характеристику метода биовыщелачивания.
10. Дайте характеристику метода обработки в биореакторах.
11. Дайте определение понятия «ксенобиотики».
12. Дайте определение понятия «биомагнификация».
13. В чем преимущество использования генетически модифицированных организмов для биоремедиации?
14. Приведите примеры генетически модифицированных бактерий, используемых в биоремедиации.
15. Дайте определение понятия «нефтепродукты».
16. Перечислите функциональные механизмы бактерий, связанные с разложением нефтепродуктов.
17. Приведите примеры бактерий, разлагающих нефтепродукты.
18. Перечислите регуляторные механизмы, выработанные бактериями в ответ на стресс, вызванный воздействием металлов.

19. Приведите примеры бактерий, используемых при биоремедиации от тяжелых металлов.
20. Какой основной механизм разложения пестицидов используют микроорганизмы?
21. Приведите примеры бактерий, способных снижать токсичность пестицидов.
22. С чем связана способность бактерий *Rhodococcus* разлагать широкий спектр органических соединений?
23. Приведите примеры бактерий, которые используются для преобразования радионуклидов.
24. Приведите примеры бактерий, способных к деградации полициклических ароматических углеводородов.
25. Дайте определение понятия «микоремедиация».
26. Приведите примеры грибов, используемых в биоремедиации.
27. С чем связан потенциал использования морских грибов в биоремедиации?
28. С чем связан потенциал использования грибов, обитающих в экстремальных условиях, в качестве агентов биоремедиации?
29. Дайте определение понятия «фиторемедиация».
30. Перечислите основные фиторемедиационные технологии.
31. Какими характеристиками должны обладать растения, подходящие для фитоэкстракции?
32. Какие два подхода обычно применяются фитоэкстракции тяжелых металлов?
33. Приведите примеры водорослей, которые обладают значительной способностью связывать металлы.
34. Приведите примеры растений, используемых для фиторемедиации окружающей среды при загрязнении нефтепродуктами.
35. Приведите примеры растений, применяемых для фитоэкстракции пестицидов.
36. Приведите примеры простейших, используемых для биоремедиации.
37. Приведите примеры животных, используемых для биоремедиации.

Глава 8. БИОЭНЕРГЕТИКА

Стремительная урбанизация и рост промышленного производства приводят к увеличению потребления энергии. Значительная доля энергопотребления удовлетворяется за счет ископаемых видов топлива, запасы которых быстро истощаются, что приводит к серьезным проблемам загрязнения окружающей среды. Таким образом, возрастает потребность в изучении и применении возобновляемых источников энергии, на основе биомассы, солнечной энергии, гидроэнергии и энергии ветра. Альтернативные источники энергии соответствуют принципам устойчивого развития и направлены на уменьшение выбросов парниковых газов и последствий изменения климата.

Биоэнергетика – современное направление науки и отрасли производства, изучающее и использующее механизмы и закономерности преобразования энергии в процессах жизнедеятельности организмов, энергетические процессы в биосфере, а также процессы, связанные с образованием биомассы и ее использования для получения энергии в промышленных целях [4].

Биоэнергия – это энергия, произведенная из биомассы. Исходным материалом для дальнейшей переработки в энергию могут служить отходы растительного и животного происхождения, такие как растительные остатки, некоторые бытовые, сельскохозяйственные, лесные и промышленные отходы. В настоящее время доля энергии, получаемой из биомассы, составляет 10% от общемировой. Это делает биомассу одним из наиболее перспективных потенциальных кандидатов среди всех других видов возобновляемых источников энергии.

Биомасса – это общая масса органических веществ, создаваемых и преобразовываемых в результате деятельности живых организмов. Биомасса подразделяется на:

- первичную – получаемую, при прямом использовании солнечной энергии в процессе фотосинтеза. Обычно её получают из фотосинтезирующих микроорганизмов, таких как микроводоросли или макроводоросли, места обитания которых не конкурируют с пахотными землями и сводят к минимуму конфликты между людьми
- вторичную – продукты преобразования или разложения органической массы животных [4].

Все продукты растительного и животного происхождения, используемые для создания энергии, называют возобновляемым сырьем [4].

Биотопливо – это топливо, произведенное из биомассы. По сырьевому происхождению оно подразделяется на три поколения (рис. 127).

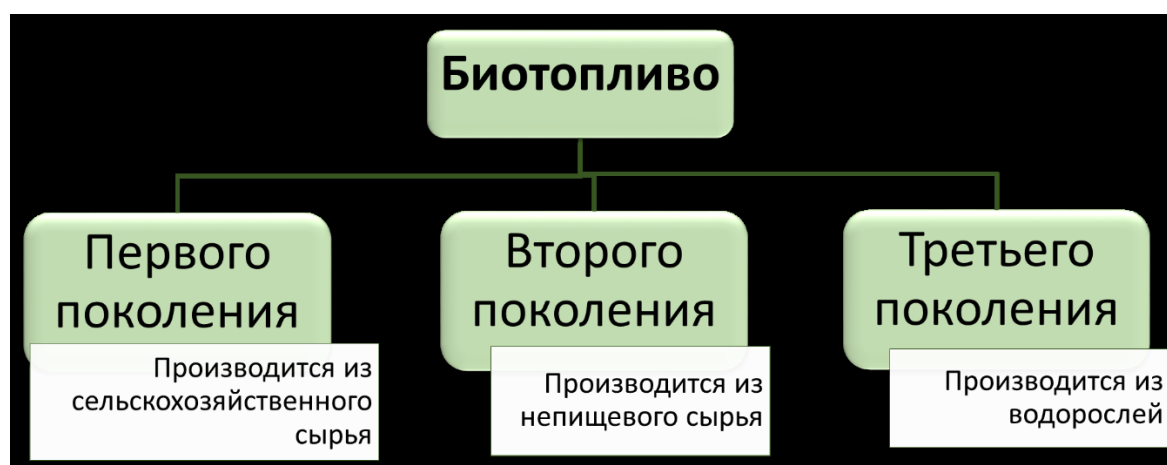


Рис. 127. Поколения биотоплива по сырьевому происхождению

Биотопливо первого поколения производится из сельскохозяйственного сырья посредством применения традиционных технологий, таких, как брожение. В качестве сырья выступает сахарный тростник, кукуруза, пшеница, соя, рапс, пальма, подсолнечник, также может применяться животный жир. Недостатком получения биотоплива первого поколения является необходимость использования территорий пахотных земель, тяжелой сельскохозяйственной техники, удобрений и пестицидов. Эти факты делают производство биотоплива прямым конкурентом пищевого сектора экономики страны-производителя [4].

Биотопливо второго поколения производится из непищевого сырья, такого как отработанные жиры и растительные масла, биомасса растений, в том числе отходы лесопромышленного и агропромышленного комплекса. Преимущество биотоплива второго поколения заключается в том, что необходимое для производства сырье может выращиваться на несельскохозяйственных землях и не требует большого количества специализированной техники, удобрений и пестицидов. Основным недостатком производства заключается в свойствах самого сырья: лигноцеллюлоза древесины – сложный полимерный углевод, требующий большого числа химических превращений и, соответ-

ственно, затрат энергии. Условная эффективность производства энергии из биомассы биотоплив первого и второго поколений одинакова и составляет около 50% [4].

Биотопливо третьего поколения производится из водорослей. Перспективность их применения связана с высоким содержанием жиров как наиболее энергоемких органических соединений, водной средой обитания, которая не конкурирует с производством сельскохозяйственной продукции. Кроме того, с одной технологической площадки можно получить до 35 урожаев в год [4].

На мировом рынке биотоплива преобладает традиционное производство первого поколения. Ведущими производителями являются США, Бразилия, ЕС, Индонезия, Китай. Их общая доля производства составляет 85% от общемировой [126].

По агрегатному состоянию биотопливо классифицируется на твёрдое, жидкое и газообразное (рис. 128).

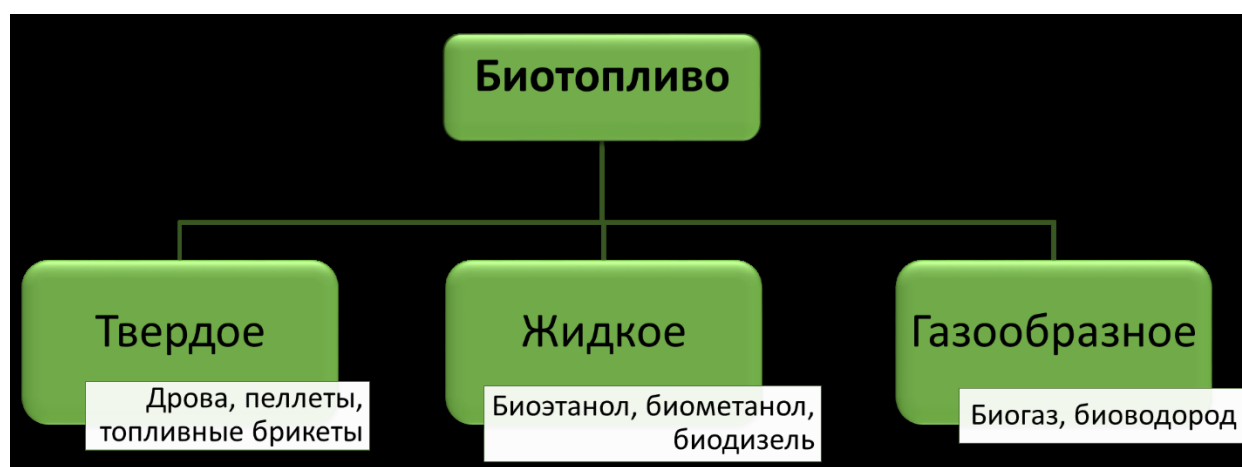


Рис. 128. Классификация биотоплива по агрегатному состоянию

8.1. Твёрдое биотопливо

Классическим примером твёрдого биотоплива являются дрова. В настоящее время для их получения широко используют специальные энергетические леса, в состав которых входят быстрорастущие породы древесины, кустарников и трав (ива, тополь, эвкалипт, акация, сахарный тростник, кукуруза и другие). Период ротации энергетического леса составляет 4–6 лет [4].

Также используются брикетированные твердые биотоплива. Они просты в производстве и выпускаются в основном из отходов де-

ревопереработки (некондиционная дровесина, опилки, щепа, кора) и сельского хозяйства (навоз, солома, лузга, скорлупа), бытовых отходов, отходов целлюлозно-бумажного производства, торфа. Брикетированные твердые биотоплива представляют собой:

- Топливные брикеты – высушенные и брикетированные энергоносители биологического происхождения. Имеют форму брусков или цилиндров. Существуют промышленные и потребительские топливные брикеты, отличающиеся по целевому назначению. Промышленные брикеты применяются в качестве топлива в промышленности и муниципальных котельных и электростанциях. По теплотворной способности и фракционному составу они аналогичны каменному углю, поэтому топливными брикетами можно заменять уголь без переоборудования котельных. Промышленные брикеты выпускаются небольшими кусками или в форме шайб, представляющих собой насыпной материал. Потребительские брикеты предназначены для частного использования в загородном отоплении [127].

- Топливные гранулы (пеллеты) – это топливный продукт, изготовленный прессованием древесных отходов, отходов сельского хозяйства и другой биомассы. Имеют форму мини-цилиндров и более высокую плотность в сравнении с брикетами, так как сжимаются под большим давлением (рис. 129).

Основными требованиями, предъявляемыми к качеству твердого биотоплива, являются высокие влагостойкость, плотность и прочность, которые позволяют транспортировать их на большие расстояния без изменения свойств [127].

Прессованное биотопливо имеет ряд преимуществ перед древесным топливом:

- большая теплотворная способность;
- меньшая стоимость оборудования для котельных установок;
- возможность автоматизированной подачи топлива;
- уменьшения объема складских помещений до 50 % [127].

Пеллеты, в основном, производятся без добавления связующих веществ. Для получения брикетов с улучшенными показателями качества используются различные добавки и связующие вещества. Большинство международных стандартов запрещают применение синтетических связующих веществ из-за выбросов диоксида углерода, оксидов серы и азота, и других токсичных газов. Поэтому для улуч-

шения технологических характеристик прессованного биотоплива используются экологически чистые природные связующие компоненты, такие как лигнин, рапсовая мука и другие [127].

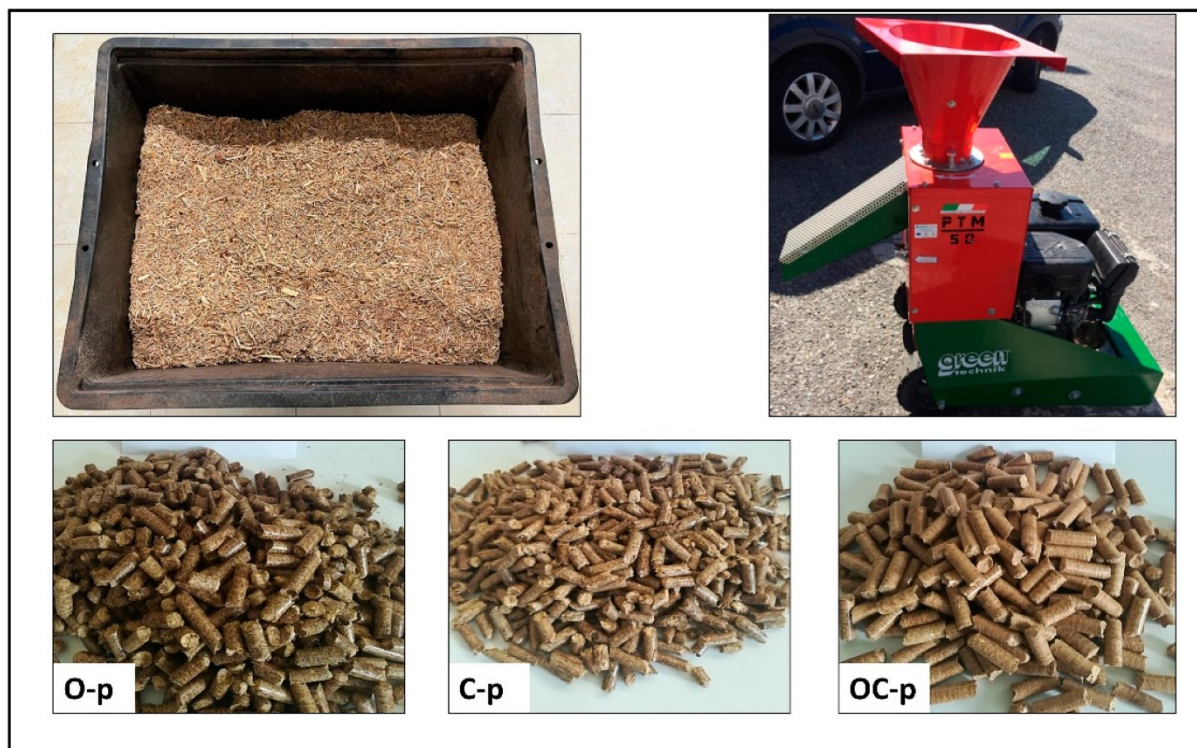


Рис. 129. Изготовление пеллет с использованием вращающегося роликового гранулятора. О-р – обрезка оливок; С-р – обрезка цитрусовых; ОС-р – сочетание 50% обрезки цитрусовых и 50% обрезки оливок [128]

8.2 Жидкое биотопливо

Существует несколько основных видов жидкого биотоплива: биоэтанол, биометанол, биобутанол и биодизельное топливо. Они являются возобновляемыми и обеспечивают лучшие экологические показатели, чем их ископаемые аналоги, поскольку при их сжигании выделяется в основном ранее поглощенный CO_2 .

В качестве сырья для производства жидкого биотоплива выступают целлюлозное волокно, водоросли, в том числе генетически модифицированные, растительные масла

Технологии переработки отходов в топливо имеют особое значение. Культуры растений, имеющих C_4 -фотосинтез, лучше фиксируют углекислый газ из атмосферы и дают больший выход лигноцеллюлозной биомассы. Интеграция производства биотоплива в суще-

ствующую промышленную инфраструктуру обеспечивает более широкий выбор доступного сырья [126].

Предварительная обработка сырья может повысить скорость гидролиза, общую эффективность переработки лигноцеллюлозной биомассы, эффективность конверсии и выход продукта.

Биоэтанол – это спирт, полученный путем брожения, в основном из растительного сырья, богатого углеводами (кукурузы, сахарной свеклы, сахарного тростника, рапса, сорго, пшеницы или патоки). Также в качестве сырья разрабатывается целлюлозная биомасса, полученная из непищевых источников, таких как дерево. Биоэтанол может использоваться в качестве топлива для транспортных средств в чистом виде, либо в качестве присадки к бензину. Он является наиболее распространенным биотопливом во всем мире, особенно в Бразилии. Экологический эффект применения биоэтанола в качестве топлива состоит в снижении выбросов диоксида углерода [4].

Биометанол – это разновидность метанола, который производится из биомассы или возобновляемого сырья. Биометанол получают посредством переработки биомассы, как правило, сельскохозяйственных отходов. Перспективным методом также является использование морского фитопланктона. Данный вид биотоплива считается одним из самых перспективных, так как отличается более высокой выработкой биомассы, отсутствием серьезных требований к производственной площадке и высоким уровнем энергоотдачи [4].

Биодизель – вид биотоплива, который производится из масел или жиров с использованием переэтерификации. Сырьем может выступать пальмовое, рапсовое, соевое и другие масла, отходы пищевой промышленности, а также морские водоросли. Биодизель используется в качестве топлива для транспортных средств в чистом виде, а также в качестве присадки к дизельному топливу для снижения уровня твердых частиц, угарного газа и углеводородов от дизельных транспортных средств [4].

Растет число инноваций, направленных на повышение эффективности производства биотоплива. Они включают нанотехнологии, передовую мультиомику, редактирование генов и метаболическую инженерию для увеличения производства биомассы или синтетическую биологию для повышения эффективности преобразования биомассы [126].

Нанотехнологии повышают эффективность и выход биотоплива за счет использования наноматериалов, таких как катализаторы, мембраны и переносчики, для переработки биомассы, ферментации и очистки. Наночастицы могут способствовать расщеплению сложной целлюлозы на более простые сбраживаемые сахара, увеличивать выход биотоплива из лигноцеллюлозной биомассы, а также улучшать кинетику реакции, селективность и стабильность при производстве биотоплива. Использование нанокатализаторов может значительно повысить выход биодизельного топлива. Они обладают большей возможностью повторного использования и способствуют снижению затрат [126].

Генная инженерия может помочь в улучшении способности микроорганизмов использовать более широкий спектр субстратов, а также повысить эффективность их преобразования. Использование геномики, транскриптомики, протеомики способствует оптимизации производства биотоплива за счет модификации ключевых метаболических путей для синтеза липидов, разработки устойчивых к бутанолу штаммов микроводорослей, повышения выхода биотоплива. Метаболическая инженерия предоставляет возможность получения биотоплива с уникальными свойствами по индивидуальному заказу. Генная инженерия дает возможность увеличить повысить потенциальный урожай и сделать биомассу более пригодной для переработки в биотопливо [126].

Микроводоросли лучше всего подходят для производства биодизельного топлива благодаря своему жирнокислотному составу и другим полезным свойствам. Культивирование микроводорослей на сточных водах, особенно в закрытых фотобиореакторах, обеспечивает на 40–50% более высокую производительность по биомассе, чем при использовании традиционного растительного сырья, а также способствует удалению тяжелых металлов. Для выращивания подходят представители следующих родов: *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Synechocystis*, *Nannochloropsis*, *Dunaliella*, *Spirulina*, *Acutodesmus*. Способы улучшения производства биотоплива на основе водорослей включают: оптимизацию условий выращивания, разработку и использование инновационных катализаторов, технологий гидролиза, экстракции и очистки [126].

8.3. Газообразное биотопливо

Газообразное биотопливо – продукт, получаемый в результате брожения биомассы или использования иных термо- и биохимических процессов, направленных на ее переработку. Наиболее распространенный вид газообразного биотоплива – биогаз, одной из разновидностей которого является биоводород [4]. Биогаз представляет собой смесь, состоящую из 65% метана, 30% углекислого газа, 1% сероводорода и незначительных примесей азота, кислорода, водорода и оксида углерода.

Биотехнологические способы получения энергоносителей основаны на способности микроорганизмов в процессе жизнедеятельности преобразовывать энергию, заключенную в субстрате, в энергию, используемую в промышленных целях [4].

С 1970-х гг. биометаногенез, который применялся для переработки отходов животноводства и осадков водоочистительных станций, стал активно использоваться для получения биогаза. Биометаногенез для производства биогаза осуществляют в специальных биогазовых установках, основными элементами которых являются метантенки. В качестве сырья используются фекальные осадки, навоз, птичий помет, пивная дробина, свекольный жом, трава, бытовые отходы, отходы рыбных, забойных производств и осадки сточных вод. Также, биогаз производят из энергетических культур и водорослей [4].

Анаэробное сбраживание органических отходов происходит в две стадии. На стадии кислотообразования сложные органические вещества при температуре 30–35°C преобразуются в процессе ферментации в органические кислоты (масляную, пропионовую, молочную), которые в дальнейшем превращаются в уксусную кислоту, водород и углекислый газ. Осуществляют первую стадию различные бактерии, среди которых доминируют клостридии, энтеробактерии и стрептококки. На метаногенной стадии с помощью метаногенных архей происходит синтез метана из водорода и углекислого газа, а также из уксусной кислоты [4].

Метантенки могут работать в двух режимах загрузки:

1) проточной (непрерывной), когда органические отходы загружают через определенные промежутки времени (до 10 раз в сутки), при этом удаляют такое же количество сброженной массы;

2) периодической, когда используют два метантенка, которые загружают по очереди. Биогаз образуется по истечении 5–10 суток, при достижении максимального количества постепенно снижается до минимума [4].

Метаногенез требует затрат тепловой энергии для его осуществления, поскольку происходит при повышенных температурах (до 60°C с оптимумом 50–53°C). При эксплуатации метантенка следует поддерживать температурный режим стабильным. В связи с этим экономическая эффективность биометаногенеза зависит от климата региона [4].

Для ускорения процесса брожения часть сброженной в метантенке биомассы выводят из него и смешивают с вновь поступающим сырьем. При этом разложение органических веществ начнется до того, как они попадут в метантенк. Это дает возможность сократить основной цикл с пяти суток до одних [4].

Более подробно метантенки рассмотрены в разделе 4.6. главы 4.

Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятия «биоэнергетика».
2. Дайте определение понятия «биоэнергия».
3. Дайте определение понятия «биомасса».
4. Что такое первичная биомасса?
5. Что такое вторичная биомасса?
6. Дайте определение понятия «биотопливо».
7. Охарактеризуйте биотопливо первого поколения.
8. Охарактеризуйте биотопливо второго поколения.
9. Охарактеризуйте биотопливо третьего поколения.
10. Приведите классификацию биотоплива по агрегатному состоянию.
11. Что относится к твердому биотопливу?
12. Охарактеризуйте топливные брикеты.
13. Охарактеризуйте топливные гранулы (пеллеты).
14. Перечислите преимущества прессованного биотоплива перед древесным.
15. Перечислите основные виды жидкого биотоплива.

16. Что является субстратом для производства жидкого биотоплива?

17. Приведите примеры инноваций, направленных на повышение эффективности производства биотоплива.

18. За счет чего нанотехнологии повышают эффективность производства биотоплива?

19. Как применение генной инженерии повышает эффективность производства биотоплива?

20. Приведите примеры водорослей, которые используются для производства жидкого биотоплива.

21. Что такое газообразное биотопливо?

22. Каков состав биогаза?

23. На чем основаны биотехнологические способы получения энергоносителей?

24. Какой метод в основном применяется для производства биогаза?

25. В каких установках осуществляется биометаногенез?

26. Охарактеризуйте метантенки с проточным (непрерывным) режимом загрузки.

27. Охарактеризуйте метантенки с периодическим режимом загрузки.

28. Что используется для ускорения процесса брожения в метантенке?

Глава 9. БИОРАЗЛАГАЕМЫЕ БИОПОЛИМЕРЫ (БИОПЛАСТИКИ)

Традиционные пластмассы на основе синтетических полимеров на нефтяной основе (полиэтилен, полистирол, поливинилхлорид и т.д.) широко применяются во всех сферах человеческой деятельности – от бытового использования до фармацевтической промышленности. Они не поддаются биологическому разложению, что приводит к росту количества отходов и создаёт серьёзную экологическую проблему. Кроме того, при производстве пластмасс в качестве сырья используется большое количество невозобновляемых ресурсов, таких как нефть, уголь и природный газ.

Возобновляемые полимеры биологического происхождения становятся альтернативой традиционным пластиковым изделиям.

Биопластики или биоразлагаемые биополимеры производятся из природных возобновляемых ресурсов, они безопасны для окружающей среды, поддаются биологическому разложению, могут быть переработаны, повторно использованы или сожжены без образования токсичных побочных продуктов. При производстве биополимеров уменьшается выброс парниковых газов в атмосферу [2, 129].

В настоящее время разрабатываются биополимеры с улучшенными свойствами и штаммы микроорганизмов для их получения [2].

Биодеградация биоразлагаемых полимеров осуществляется благодаря воздействию ферментов микроорганизмов, что приводит к изменению химического состава, механических и структурных свойств (рис. 130–131). Следующим этапом является процесс биоминерализации. Происходит аэробная или анаэробная деградация. Аэробное разложение приводит к образованию углекислого газа и воды. Анаэробное разложение способствует образованию углекислого газа и метана [129].

На процесс биоразложения влияют такие факторы, как: морфология полимера, его структура и молекулярная масса [129].

Биоразлагаемые полимеры можно классифицировать в зависимости от их происхождения и метода синтеза, химического состава, экономического значения, метода обработки и применения [129].

В зависимости от происхождения они классифицируются на две группы: природные и синтетические [129].

Природные биополимеры получают из возобновляемых или биологических источников, включая целлюлозу, кукурузный крахмал, картофельный крахмал, растительное масло, сахарный тростник, коноплю, полимолочную кислоту, поли-3-гидроксibuтират. Сельскохозяйственные отходы являются основным источником для производства биопластиков. Основным источником полисахаридов являются сельскохозяйственные отходы растительного происхождения, где производятся биополимеры, такие как целлюлоза, крахмал и пектин. Использование сельскохозяйственных отходов в качестве сырья для синтеза биоразлагаемых полимеров позволяет снизить затраты на их производство. Биопластики, полученные из отходов сельскохозяйственного производства, обладают биоразлагаемостью, биофункциональностью, биостабильностью и биосовместимостью. Они могут быть использованы при производстве упаковки пищевых продуктов, биомедицинских изделий, электроники, транспортных средств [129].

Для синтеза биополимеров используются различные микроорганизмы. Например, полигидроксиалканойат синтезируется различными группами бактерий из дешевых возобновляемых ресурсов. Он полностью разлагается микроорганизмами в аэробных условиях. Полигидроксиалканойаты образуются в природе непосредственно в результате бактериального метаболизма. Они являются биоразлагаемыми и биосовместимыми термопластичными материалами. Полигидроксиалканойат является потенциальной альтернативой неразлагаемому полиэтилену и полипропилену. Поли-3-гидроксibuтират – природный полимер, синтезируемый бактериями. Он производится из недорогого, возобновляемого сырья, не оказывает негативного воздействия на окружающую среду, разлагается в анаэробных и аэробных условиях, не производит ядовитых веществ при разложении [129].

Синтетические биоразлагаемые полимеры производятся химическим способом с помощью процедур полимеризации. Разлагаемые полиэфиры считаются наиболее потенциальными материалами по сравнению с обычными пластиками. Характеризуются низким уровнем загрязнения окружающей среды. Более 90% биополимеров составляют полиэфиры, так как они содержат легко гидролизуемые связи сложных эфиров. Примерами синтетических биоразлагаемых по-

лимеров являются полилактид, поликапролактон, полибутиленсукцинат [129].

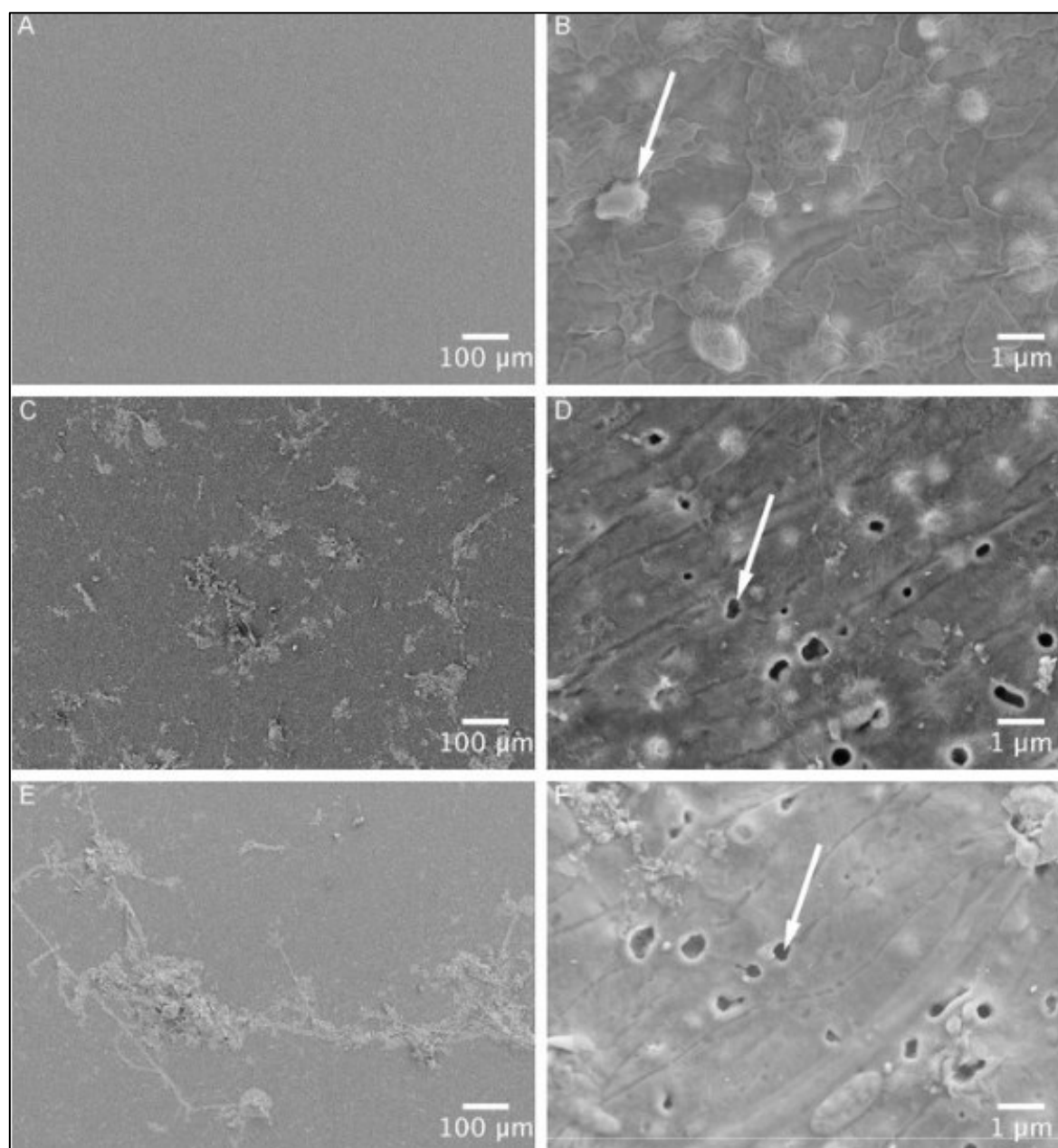


Рис. 130. Сканирующая электронная микрофотография поверхности образцов биоразлагаемого пластика. Каждый образец представлен в двух увеличениях. А, В – необработанные образцы биоразлагаемого пластика, стрелками отмечены видимые частицы крахмала. С, D – образцы биоразлагаемого пластика через 15 дней. Е, F – образцы биоразлагаемого пластика через 33 дня, стрелками показаны оставшиеся отверстия [130]

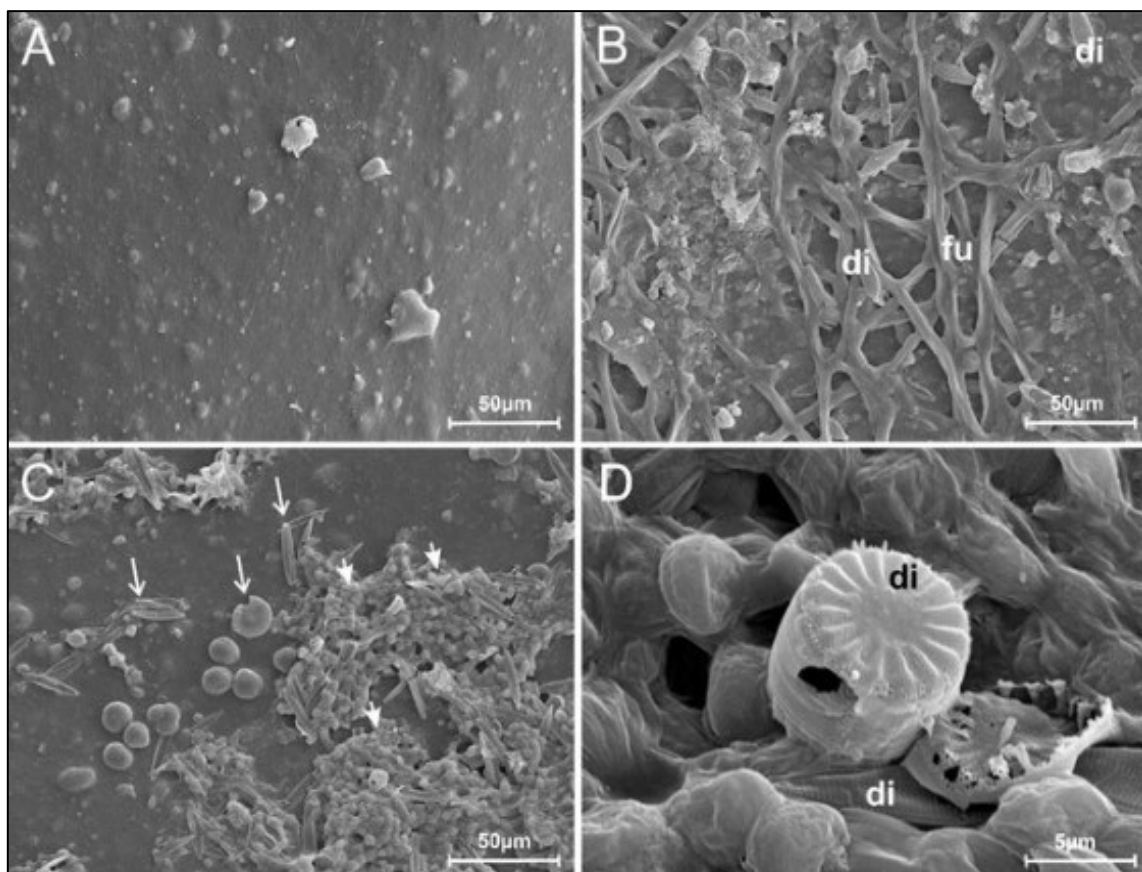


Рис. 131. Сканирующая электронная микрофотография, показывающая морфологическую характеристику поверхности биоразлагаемого пластика в аэробных условиях. А – Общий вид в начале эксперимента; В-D - Микробная колонизация после 2 месяцев выдержки, где можно увидеть присутствие диатомовых водорослей различной формы (di), интенсивную колонизацию грибами (fu), возможную колонизацию бактериями (стрелки) [131]

Контрольные вопросы

1. В чем преимущество использования биоразлагаемых биополимеров перед обычным пластиком?
2. Охарактеризуйте аэробную и анаэробную биodeградацию биоразлагаемых полимеров.
3. В зависимости от чего классифицируются биоразлагаемые биополимеры?
4. Охарактеризуйте природные биополимеры. Приведите примеры.
5. Охарактеризуйте синтетические биополимеры. Приведите примеры.

Глава 10. БИОСУРФАКТАНТЫ

10.1. Основные понятия сурфактантов и биосурфактантов

Сурфактант – это поверхностно-активное вещество, которое при добавлении к жидкости снижает её поверхностное натяжение, увеличивая свойства растекания и смачивания. Поверхностно-активные вещества используются в качестве моющих и чистящих средств, эмульгаторов, смачивающих агентов, пенообразователей, антистатических добавок или диспергаторов.

Биосурфактанты – это вторичные метаболиты, вырабатываемые микроорганизмами, растениями и высшими животными в процессе их жизнедеятельности. Являясь по своей природе амфифильными молекулами, они выступают альтернативой синтетическим поверхностно-активным веществам, производимым в химической промышленности [132]. Объем мирового рынка биосурфактантов составил более 1,8 млрд долларов в 2016 году. Наибольшее количество биосурфактантов производится в Европе. Ведущими производителями являются BASF Cognis, Ecover, MG Intobio, Urumqui Unite, Saraya, Sun Products Corporation, Akzo Nobel, Croda International, PLC, Evonik Industries, Mitsubishi Chemical Corporation, Jeneil Biosurfactant [132].

Наиболее активно биосурфактанты выделяются микроорганизмами. Микробные биосурфактанты включают несколько классов веществ: фосфолипиды, гликолипиды, протеолипиды, пептиды, протеины, липопептиды, липопротеиновые комплексы, биополимеры [132].

В зависимости от молекулярной массы выделяют:

1) Биосурфактанты с высокой молекулярной массой. К ним относятся липополисахариды, полисахариды, протеины, липопротеины. Эти вещества имеют выраженные свойства эмульсификаторов и стабилизаторов эмульсий. Среди представителей этой группы лучше всего исследован биоэмульсификатор эмульсан, продуцируемый *Acinetobacter* [132].

2) Биосурфактанты с низкой молекулярной массой. К ним относятся гликолипиды (рамнолипиды, софоролипиды, трегалолипиды, целлобиозолипиды, маннозилэритрит-липиды), липопептиды и фосфолипиды. Эти вещества эффективно уменьшают межфазное и по-

верхностное натяжение. Являются наиболее изученными и широко применяемыми [132].

В настоящее время среди микроорганизмов известны десятки продуцентов биосурфактантов, в основном это бактерии и микромицеты. Среди бактериальных продуцентов наиболее широко распространены представители родов *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Mycobacterium*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Nocardia*, *Gordonia*, *Acinetobacter*. Среди микромицетов – *Candida*, *Starmerella*, *Trichosporon*, *Saccharomyces*, *Pseudozyma*, *Ustilago* [132].

В качестве субстратов для наращивания этих культур применяются сахара, нефти, алканы, различные типы отходов сельскохозяйственной и пищевой промышленности [132].

В зависимости от получаемых видов биосурфактантов их продуценты можно разделить на группы:

- липопептиды, которые производят при помощи сенной палочки (*Bacillus subtilis*), *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas fluorescens*, *Aspergillus* sp., *Arthrobacter* sp. и других,
- гликолипиды, которые синтезируют синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*), *Rhodococcus* sp., *Candida antarctica*, *Ustilago* sp., *Pseudozyma* sp. и т. д.,
- полимерные биосурфактанты, которые синтезируют *Arthrobacter calcoaceticus*, *Candida tropicalis*, *Candida lipolytica* [132].

Наиболее представлены следующие биосурфактанты: по химической природе – софоролипиды, по сфере применения – моющие средства [132].

С точки зрения производственного процесса, биосурфактанты менее конкурентоспособны по сравнению с синтетическими аналогами, поэтому снижение стоимости производства и разработка новых биотехнологий для их получения являются одними из приоритетных направлений при изучении данных веществ [132].

Уникальные физико-химические и потребительские свойства, а также перспективы широкого применения в различных областях человеческой деятельности определяют устойчивый научный и практический интерес к биосурфактантам [132].

Основные преимущества биосурфактантов по сравнению с синтетическими поверхностно-активными веществами:

- низкая токсичность,
- практически полная биоразлагаемость,
- экологическая безопасность,
- высокая биосовместимость,
- возможность получения из дешевых и возобновляемых источников,
- разнообразие химической структуры и физико-химических свойств,
- термостабильность,
- кислотостойкость,
- способность растворять гидрофобные компоненты,
- низкие значения критической концентрации мицеллообразования,
- антибактериальная, антифунгицидная, антиадгезионная и антивирусная активность [132].

Важной характеристикой биосурфактантов является значение критической концентрации мицеллообразования. В целом оно варьирует в широком диапазоне (1–2000 мг/л). Значение критической концентрации мицеллообразования зависит в первую очередь от типа продуцента. Для рамнолипидов из различных штаммов синегнойной палочки (*Pseudomonas aeruginosa*) критическая концентрация мицеллообразования может изменяться от 10 до 230 мг/л [132].

Важной характеристикой биосурфактантов, определяющей их широкое практическое применение, является способность эффективно уменьшать межфазное и поверхностное натяжение, которое связано со значением критической концентрации мицеллообразования. По данному показателю биосурфактанты характеризуются большей эффективностью в сравнении с синтетическими поверхностно-активными веществами, что и расширяет сферу их возможного применения [132].

Биосурфактанты характеризуются высокой степенью толерантности к изменениям pH, температуры и ионной силы растворов. Значения pH, при которых биосурфактанты сохраняют свои основные свойства, варьируют от 2 до 12. Например, биосурфактанты, продуцируемые сенной палочкой (*Bacillus subtilis*), синегнойной палочкой (*Pseudomonas aeruginosa*) и *Rhodococcus erythropolis*, демонстрируют высокую стабильность при pH от 5 до 12 [132].

Устойчивость к солености раствора у биосурфактантов также выше, чем у синтетических поверхностно-активных веществ. Например, биосурфактанты, продуцируемые синегнойной палочкой (*Pseudomonas aeruginosa*), имеют верхний предел солености до 20 г/л [132].

Биосурфактанты демонстрируют высокую устойчивость к повышенным температурам. Например, целлобиозолипиды, полученные из *Chlorococcum humicola*, способны сохранять активность не менее 2–3 ч при температуре 50°C и не менее 30 мин при температуре 100°C. Биосурфактанты, продуцируемые синегнойной палочкой (*Pseudomonas aeruginosa*) показали высокую стабильность при повышении температуры до 120°C [132].

Микробные биосурфактанты могут храниться длительное время без потери свойств. Например, в растворе метанола липиды, полученные из *Chlorococcum humicola*, *Pseudozyma fusiformata*, *Pseudozyma graminicola*, сохраняют противогрибковую активность в течение 1,5–2 лет при температуре 0–5°C [132].

Биосурфактанты имеют высокий потенциал и практическое значение во многих сферах деятельности человека: в нефтяной и добывающей промышленности, сельском хозяйстве, медицине, косметологии, пищевой промышленности, химическом производстве моющих и чистящих средств, текстильной промышленности [132].

10.2. Использование биосурфактантов в нефтяной промышленности

В нефтяной промышленности биосурфактанты эффективно применяются при добыче тяжелых нефтей и битумов и в цикле переработки нефти. Их используют для увеличения нефтеотдачи месторождений, очистки загрязненных резервуаров и облегчения транспортировки тяжелой сырой нефти по трубопроводам. Наиболее активное применение биосурфактанты получили в качестве агентов для микробиологического увеличения нефтедобычи (MEOR) на основе культур микроорганизмов, производящих биосурфактанты различных типов. Данная технология представляет собой третичное извлечение нефти, при котором микроорганизмы или продукты их метаболизма используются для добычи остаточной нефти. Микроорганизмы производят биоповерхностно-активные вещества, которые снижают поверхност-

ное натяжение нефти и породы за счет уменьшения значений капиллярных сил, препятствующих движению нефти через поры породы. Биосурфактанты также способствуют эмульгированию и разрушению масляной пленки в горных породах. MEOR включает в себя различные стратегии, такие как закачка микроорганизмов, продуцирующих биосурфактанты в резервуар, закачка питательных веществ в резервуар для стимуляции роста аборигенных микроорганизмов, производящих биосурфактанты, или производство биосурфактантов и их последующая закачка в пласт. Методы MEOR, подразумевающие активизацию аборигенного микробного сообщества (введение определенных питательных веществ, варьирование внешних условий), называют MEOR *ex situ*. Методы, предполагающие введение в нефтяной пласт специально селекционированных культур микроорганизмов или наработанных микроорганизмами биосурфактантов, называют MEOR *in situ*. Эти процессы увеличивают добычу нефти из истощенного коллектора, тем самым продлевая срок его службы. Технология MEOR дешевле по сравнению с химическими технологиями увеличения нефтеотдачи, поскольку микроорганизмы производят эффективные продукты из недорогих субстратов и сырья [132].

Примерами служат:

- применение консорциума штаммов бактерий *Enterobacter cloacae* PTCC 1798 и *Enterobacter hormaechei*.
- использование сенной палочки (*Bacillus subtilis*), синегнойной палочки (*Pseudomonas aeruginosa*) и *Rhodococcus erythropolis*, выделенных из пластовой воды, которое позволило увеличить нефтеотдачу остаточной нефти на 14,3% [132].
- применение рамнолипидов в формате MEOR *in situ* из рекомбинантной *Pseudomonas stutzeri* Rhl имеет перспективы для одновременного контроля за ростом сульфатредуцирующих бактерий, удаления сероводорода и роста нефтеотдачи за счет увеличения количества биосурфактантов [132].

10.3. Применение биосурфактантов в сельском хозяйстве

В области сельского хозяйства биосурфактанты используются как агенты для биоремедиации сельскохозяйственных земель, загрязненных пестицидами и тяжелыми металлами, а также имеют потен-

циальное значение благодаря своим противомикробным и противогрибковым свойствам. Данные свойства биосурфактантов позволяют рассматривать их в качестве перспективных агентов биоконтроля, которые безопасны для растений, животных и человека, но обладают выраженной антифунгицидной и антимикробной активностью по отношению к фитопатогенам.

Кроме того, было обнаружено, что биосурфактанты, например, рамнолипиды, оказывают стимулирующее действие на иммунную систему сельскохозяйственных растений [132].

10.4. Применение биосурфактантов в медицине, фармакологии и косметологии

В медицине и косметологии биосурфактанты являются в первую очередь безопасными аналогами синтетических поверхностно-активных веществ и вспомогательными компонентами медицинских и косметических средств.

Они используются для синтеза микроэмульсий и наночастиц медицинского назначения. Применяются в качестве основы или компонентов различных систем доставки лекарств, включая таргетные, ввиду своей мицеллярной природы, которая позволяет им образовывать стабильные липосомы, способные заключать лекарство в оболочку, защищая его от повреждений, обеспечивая стабильный выход и зависимость доза-эффект [132].

Благодаря присущим им физико-химическим характеристикам, биосурфактанты сохраняют свои свойства даже при изменении условий среды в широких пределах. Это делает их идеальными компонентами основы различных лекарственных форм (жидкостей, жевательных форм, аэрозолей) [132].

Биосурфактанты обладают противомикробной, противогрибковой, антибиотикопленочной, антиадгезивной и противовирусной активностью и поэтому могут быть использованы как основные действующие вещества при разработке новых лекарственных средств [132].

Помимо симптоматического лечения вирусных инфекций биоактивные пептиды микробной природы способны инактивировать

вирусы, взаимодействуя с их липидной оболочкой – суперкапсидом. Например, циклоспорин А, продуцируемый аскомицетом *Tolyposcladium inflatum*, подавляет распространение вируса гриппа, воздействуя на цикл его встраивания и размножения. Циклоспорин А не влияет на адсорбцию или репликацию РНК вируса, но ингибирует стадии, следующие за синтезом белка, такие как сборка или почкование. Это чрезвычайно важно, поскольку почкование позволяет вирусам покидать клетки-хозяева и прикрепляться к производным мембранам, обогащенным вирусными белками, тем самым способствуя распространению инфекции [132].

Биосурфактанты могут использоваться в качестве компонентов вакцин и иммуномодуляторов. Синтетические липопептидные вакцины способны индуцировать вирус-специфические цитотоксические Т-лимфоциты против эпитопа нуклеопротеина гриппа, что открывает возможности для поиска липопептидов, микробной природы, имеющих аналогичное действие. Подобные результаты были получены в отношении вируса ящура и ВИЧ-1 [132].

Софоролипиды демонстрируют иммуномодулирующие и противовоспалительные свойства, в частности, их применение улучшило выживаемость при сепсисе в экспериментах на животных моделях. Помимо этого, софоролипиды проявляют активность в отношении вируса герпеса и ВИЧ при их модификации путем ацетилирования головных групп софорозы. Предполагается, что такая модификация повышает гидрофильность софоролипидов, тем самым усиливая их противовирусные и цитокин-стимулирующие свойства [132].

10.5. Применение биосурфактантов в пищевой промышленности

В пищевой промышленности актуально применение биосурфактантов в качестве функциональных компонентов и пищевых добавок. Например, некоторые дрожжи синтезируют биосурфактанты, которые обладают антиоксидантной активностью, высокой термостойкостью, нетоксичны, не являются потенциальными патогенами, что позволяет вводить их в рецептуры пищевых продуктов. Например, было предложено заменить яичный желток при промышленном производстве печенья на биосурфактант, продуцируемый пекарскими дрожжами (*Saccharomyces cerevisiae*) [132].

Биосурфактанты выступают как эмульгаторы, антиоксидантные агенты и антиадгезивные агенты. Например, маннопротеин, полученный из пекарских дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*), был успешно использован для стабилизации воды и масла при создании эмульсий для производства майонеза, печенья и мороженого. Дрожжи *Candida valida*, *Candida utilis*, *Hansenula anomala*, *Rrhodotorula graminis*, *Rhodospiridium diobovatum*, красная водоросль *Porphyridium cruentum*, бактерии *Klebsiella sp.*, *Acinetobacter calcoaceticus* являются продуцентами внеклеточных биоэмульгаторов, которые отличаются большей стабилизирующей активностью по сравнению с традиционными эмульгаторами [132].

Микробные биосурфактанты применяются и в иных сферах пищевой промышленности, включая контроль текстуры и срока хранения крахмалосодержащих продуктов, улучшение консистенции и текстуры продуктов на жировой основе, агломерацию жировых компонентов, стабилизацию аэрированных систем и изменение реологических свойств теста из пшеничной муки [132].

Имеются примеры включения биосурфактантов в рецептуры хлебобулочных изделий и мороженого для улучшения консистенции, отсрочки микробного увядания, солюбилизации масел, в качестве стабилизаторов жира и агентов против разбрызгивания. Рамнолипиды используются для улучшения текстуры теста, стабильности, сохранения объема и консервации хлебобулочных изделий. L-рамноза в составе рамнолипидов имеет значительный потенциал и уже используется в промышленности в качестве предшественника высококачественных ароматизирующих компонентов, таких как фуранеол [132].

Биосурфактанты обладают потенциалом в качестве антиоксидантных агентов. Липиды маннозилэритрита – биосурфактанты с доказанной *in vitro* антиоксидантной активностью. Аналогичные наблюдения были опубликованы для биосурфактанта, полученного из сенной палочки (*Bacillus subtilis*). Полисахаридный биосурфактант, продуцируемый бактерией *Klebsiella*, способен ингибировать перекисное окисление соевого масла путем инкапсуляции [132].

Некоторые биосурфактанты проявляют антиадгезивную и антимикробную активность. Опубликованы данные об антиадгезивной активности рамнолипидов и сурфактина на поверхности полистирола в отношении *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* и *Micrococ-*

cus luteus. Лунасан, продуцируемый дрожжами *Candida sphaerica* UCP0995, также полностью подавлял адгезию нескольких штаммов *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* и *Candida* на пластиковых планшетах для культивирования тканей. Руфизан, продуцируемый дрожжами *Candida lipolytica* обладает антиадгезивной и антимикробной активностью. Антиадгезивная активность биосурфактантов делает возможным их применение в качестве покрывающих агентов для посуды, используемой для употребления пищи или при производстве пищевых продуктов [132].

10.6. Применение биосурфактантов в производстве моющих и чистящих средств

В области производства чистящих и моющих средств биосурфактанты являются основной альтернативой синтетических поверхностно-активных веществ. На сегодняшний день в качестве компонентов коммерческих средств в основном представлены гликолипиды (софоролипиды, рамнолипиды и липиды манносилэритрита). Такие компании, как Saraya, Ecover и Henkel, применяют софоролипиды в своих средствах для стирки, мытья посуды и чистки. Производители BASF, Evonik, TeeGene, Unilever реализуют продукты на основе рамнолипидов и липопептидных биосурфактантов [132].

Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятия «сурфактанты».
2. Дайте определение понятия «биосурфактанты».
3. Приведите классификацию биосурфактантов в зависимости от молекулярной массы.
4. Охарактеризуйте биосурфактанты с низкой молекулярной массой.
5. Охарактеризуйте биосурфактанты с высокой молекулярной массой.
6. Приведите примеры бактериальных продуцентов биосурфактантов.
7. Перечислите основные преимущества биосурфактантов по сравнению с синтетическими поверхностно-активными веществами.

8. Перечислите наиболее важные характеристики биосурфактантов.

9. Приведите примеры использования биосурфактантов в нефтяной промышленности.

10. Приведите примеры использования биосурфактантов в сельском хозяйстве.

11. Приведите примеры использования биосурфактантов в медицине, фармакологии и косметологии.

12. Приведите примеры использования биосурфактантов в пищевой промышленности.

13. Приведите примеры использования биосурфактантов в производстве моющих и чистящих средств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экологическая биотехнология – это дисциплина, сфера применения которой постоянно расширяется. В начале XXI века экологическая биотехнология была признана ключевой технологией, способствующей «устойчивому развитию» благодаря разработке новых решений в области восстановления и мониторинга загрязненной окружающей среды, минимизации выбросов отходов, образующихся на промышленных предприятиях, созданию альтернатив синтетическим продуктам производства.

В настоящее время продолжают разрабатываться новые методы и технологии, использующие потенциал живых организмов для создания эффективных средств очистки, источников возобновляемого сырья и энергии, предотвращения загрязнения окружающей среды.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Bhatia S. History, scope and development of biotechnology // Introduction to Pharmaceutical Biotechnology. 2018. Vol. 1. P. 1–61. DOI:10.1088/978-0-7503-1299-8ch1
2. Principles and Applications of Environmental Biotechnology for a Sustainable Future/ Ed. Singh R.L. Springer, 2017. 502 p. DOI:10.1007/978-981-10-1866-4
3. Fári M.G., Kralovánszky U.P. The founding father of biotechnology: Károly (Karl) Ereky // International Journal of Horticultural Science. 2006. Vol. 12. № 1. P. 9–12.
4. Ленивко С.М. Экологическая биотехнология: электронный учеб.-метод. комплекс. Брест. гос. ун-т им. А.С. Пушкина. Брест: БрГУ, 2020. 144 с.
5. Matyushenko I., Dek I., Grigorova-Berenda L. Modern Approaches to Classification of Biotechnology as a Part of NBIC-Technologies for Bioeconomy// British Journal of Economics, Management & Trade. 2016. Vol. 14. P. 1–14. Article number: BJEMT.28151. DOI: 10.9734/BJEMT/2016/28151.
6. Воронина Л.П., Терехова В.А., Морачевская Е.В. Фитотестирование в экологическом контроле: Учебное пособие. М., 2020. 34 с. ISBN 978-5-9909558-7-5
7. Trace Metals and other Contaminants in the Environment. Chapter 1 Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment / Eds.: Markert B.A., Breure A.M., Zechmeister H.G. Elsevier, 2003. Vol. 6. P. 3–39. DOI:10.1016/S0927-5215(03)80131-5.
8. Терехова В.А. Биодиагностика и оценка воздействий на окружающую среду: учеб. пособие. М.: Изд-во ГЕОС, 2023. 102 с. ISBN 978-5-89118-870-9. DOI:10.34756/GEOS.2023.17.38665
9. Даев Е.В., Дукельская А.В., Барабанова Л.В. Цитогенетические методы индикации экологической напряженности в водных и наземных биосистемах // Экологическая генетика. 2014. Т. 12, № 2. С. 3–12.

10. Пределы изменчивости цитогенетических показателей сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в районе проведения разработок медно-никелевых месторождений в Воронежской области / И.В. Игнатова, В.Н. Калаев, С.А. Епринцев, Е.А. Калаева // Экосистемы. 2019. № 20(50). С. 57–67.

11. Cytome analysis in bioindication of environmental pollution in animals with nuclear erythrocytes / O. Cherednichenko [et al.] // Heliyon. 2024. Vol. 10(3). Article number: e37643. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e37643

12. Методология биодиагностики почв и особенности некоторых методов биоиндикации и биотестирования (обзор) / В.А. Терехова, С.А. Кулачкова, Е.В. Морачевская, А.П. Кирюшина // Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение. 2023. № 2. С. 35–45. DOI:10.55959/MSU0137-0944-17-2023-78-2-35-45.

13. Космачева А.Г. Фитотоксичность антибиотиков и их влияние на микробиоценоз почвы : диссертация ... кандидата биологических наук : 1.5.15. Владимир, 2022. 164 с.

14. Fluctuating Asymmetry of Plant Leaves: Batch Processing with LAMINA and Continuous Symmetry Measures / J.H. Graham [et al.] // Symmetry. 2015. Vol. 7. P. 255–268. DOI:10.3390/sym7010255

15. Василевская Н.В., Домахина А.Д. Полиморфизм пыльцы *Pinus sylvestris* L. и *Larix sibirica* Ledeb. города Мурманска // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. 2016. № 4(157). С. 13–20.

16. Vasilevskaya N. Pollution of the Environment and Pollen: A Review // Stresses. 2022. Vol. 2(4). P. 515–530. DOI:10.3390/stresses2040035

17. Бязров Л.Г. Лишайники в экологическом мониторинге. М.: Научный мир, 2002. 336 с.

18. Чеснокова С.М. Лихеноиндикация загрязнения окружающей среды: Практикум. Владимир: Владим. гос. ун-т., 1999. 38 с.

19. Инсарова И.Д., Инсаров Г.Э. Сравнительные оценки чувствительности эпифитных лишайников различных видов к загрязнению воздуха // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. 1989. Т. 12. С. 113–175.

20. Wakefield J.M., Bhattacharjee J. Effect of air Pollution on Chlorophyll Content and Lichen Morphology in Northeastern Louisiana // *Evansia*. 2011. Vol.29(4). P. 104–114. DOI:10.1639/079.029.0404
21. Evaluation of transplanted lichens, *Parmotrema tinctorum* and *Usnea diffracta* as bioindicator on heavy metals accumulation in southern peninsular Malaysia / A. Atikah [et al.] // *Journal of Sustainability Science and Management*. 2019. Vol. 14. P. 1–13.
22. Mammals and Birds as Bioindicators of Trace Element Contaminations in Terrestrial Environments // Ed. Kalisińska E. Springer Nature Switzerland AG, 2019. 708 p. DOI:10.1007/978-3-030-00121-6
23. Свердруп А.Э., Фролова Л.Л. Прототип экспертной системы для оценки экологического состояния водоемов по молекулярным маркерам гидробионтов // *Российский журнал прикладной экологии*. 2024. № 4(40). С. 62–68. DOI: 10.24852/2411-7374.2024.4.62.68.
24. Transgenic zebrafish for detecting mutations caused by compounds in aquatic environments / K. Amanuma, H. Takeda, H. Amanuma, Y. Aoki // *Nature Biotechnology*. 2000. Vol. 18(1). P. 62–65. DOI: 10.1038/71938.
25. Практикум по биотестированию экотоксичности почв : учебное пособие / Терехова В.А., Рахлеева А.А., Федосеева Е.В., Кирюшина А.П. Москва : МАКС Пресс, 2022. 102 с. ISBN 978-5-317-06868-4. DOI:10.29003/m3054.978-5-317-06868-4
26. Сарапульцева Е.И., Тушмалова Н.А. Двигательная активность простейших: место в иерархии критериев биотестирования окружающей среды // *Вестник Московского университета. Серия 16: Биология*. 2011. № 3. С. 3–7.
27. Leme D.M., Marin-Morales M.A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application // *Mutation Research*. 2009. Vol. 682, Iss. 1. P. 71–81. DOI:10.1016/j.mrrev.2009.06.002
28. Deswal S. Biosensors and Their Application in Environmental Monitoring // *Journal of Technology*. 2024. Vol. 12(08). P. 875–888.
29. Кудряшов А.П. Биосенсорные устройства: Курс лекций. Мн.: БГУ, 2003. 113 с.

30. Тимошенко В.В. Новые РНК-аптамеры и аптасенсоры для детекции аутоантител, характерных для рассеянного склероза : диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук: 02.00.10, 2020. 146 с.

31. Сазонова И.А., Щербаков А.А. Экологическая биотехнология: краткий курс лекций для бакалавров IV курса направления подготовки 19.03.01 «Биотехнология». Саратов: ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ, 2013. 62 с.

32. Волова Т.Г. Введение в биотехнологию. Версия 1.0 [Электронный ресурс]: электрон. учеб. пособие. Красноярск: ИПК СФУ, 2008. 183 с. ISBN 978-5-7638-1432-3

33. Shareefdeen Z. Chapter 6 - High-performance biofilters for air treatment applications/ Editor(s): Gabriela Soreanu, Éric Dumont, From Biofiltration to Promising Options in Gaseous Fluxes Biotreatment. Elsevier, 2020. P. 111–127. ISBN 9780128190647. DOI:10.1016/B978-0-12-819064-7.00006-6

34. Василяк Л.М., Собур Д.А. О возможности применения скрубберов «Салфокс» на объектах водоотведения // Наилучшие доступные технологии водоснабжения и водоотведения. 2024. № 5. С. 11–17.

35. Ручай Н.С., Маркевич Р.М. Экологическая биотехнология: учеб. пособие для студентов специальности «Биоэкология». Минск : БГТУ, 2006. 312 с. ISBN 985-434-657-9.

36. Biological wastewater treatment: Principles, modelling and design / Henze M., van Loosdrecht M.C.M., Ekama G.A., Brdjanovic D. // London, UK: IWA Publishing, 2008. 511 p.

37. Барабаш Н.В. Биохимические методы очистки сточных вод: учебное пособие. Ставрополь : Северо-Кавказский федеральный университет, 2015. 98 с.

38. Case study of the in-situ restoration of black-odorous water by combined process of forced aeration and biological contact oxidation / Y. Shaobo [et al.] // Water Science and Technology. 2022. Vol. 85 (3). P. 827–838. DOI:10.2166/wst.2022.008

39. Oakley S., von Sperling M. Media Filters: Trickling Filters and Anaerobic Filters. In: J.B. Rose and B. Jiménez-Cisneros (eds), Water and Sanitation for the 21st Century: Health and Microbiological Aspects of Excreta and Wastewater Management (Global Water Pathogen Project). (J.R. Mihelcic and M.E. Verbyla (eds), Part 4: Management Of Risk from Excreta and Wastewater - Section: Sanitation System Technologies, Pathogen Reduction in Sewered System Technologies), Michigan State University, E. Lansing, MI, UNESCO. 2017. DOI:10.14321/waterpathogens.64
40. Bacterial community structure in rotating biological contactor treating coke wastewater in relation to medium composition / A. Ziemińska-Buczyńska [et al.] // Environmental Science and Pollution Research. 2019. Vol. 26. P. 19171–19179. DOI:10.1007/s11356-019-05087-0
41. Aerobic Tofu Industrial Wastewater Treatment Installation Planning Using Rotating Biological Contractors (RBC) (Case Study at «Sari Murni» Tofu Factory, Krajan Village, Mojosongo Village, Surakarta City) / Y.S. Pambudi [et al.] // East Asian Journal of Multidisciplinary Research. 2022. Vol. 1(10). P. 2127–2140. DOI:10.55927/eajmr.v1i10.1875
42. Кузнецов А.Е., Градова Н.Б. Научные основы экобиотехнологии / Учебное пособие для студентов. М.: Мир, 2006. 504 с.
43. Прикладная экобиотехнология [Электронный ресурс]: учебное пособие : в 2 т. Т.1 / А.Е. Кузнецов [и др.]. 2-е изд. (эл.). М.: Бином. Лаборатория знаний, 2012. 629 с.
44. Жмур Н.С. Технологические и биохимические процессы очистки сточных вод на сооружениях с аэротенками. М.: АКВАРОС, 2003. 512 с. ISBN 5-901652-05-3
45. Sillankorva S., Neubauer P., Azeredo J. *Pseudomonas fluorescens* biofilms subjected to phage phiIBB-PF7A // BMC Biotechnology. 2008. Vol. 8. Article number: 79. DOI:10.1186/1472-6750-8-79
46. Optimization of the medium for the growth of *Nitrobacter winogradskyi* by statistical method / Y. Zhang [et al.] // Letters in Applied Microbiology. 2018. Vol. 67, Iss. 3. Pages 306–313. DOI:10.1111/lam.13036

47. Chawley P., Yadav K., Jagadevan S. Nitrogenous Wastes and Its Efficient Treatment in Wastewater. In: Water Pollution and Management Practices/ Ed. A. Singh, M. Agrawal, S.B. Agrawal. Springer, Singapore. 2021. DOI:10.1007/978-981-15-8358-2_7

48. Сидорова Л.П., Снигирева А.Н. Очистка сточных и промышленных вод. Часть II. Биологическая очистка. Активный ил. Оборудование / Учебное электронное текстовое издание. Екатеринбург, 2017. 127 с.

49. Thomsen T.R., Kong Y., Nielsen P.H. Ecophysiology of abundant denitrifying bacteria in activated sludge // FEMS Microbiology Ecology. 2007. Vol. 60(3). P. 370–382. DOI:10.1111/j.1574-6941.2007.00309.x.

50. Characterization of halobenzoate-degrading, denitrifying *Azoarcus* and *Thauera* isolates and description of *Thauera chlorobenzoica* sp. nov. / B. Song, N. J. Palleroni, L. J. Kerkhof, M. M. Häggblom // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2001. Vol. 51, Iss. 2. P. 589–602. DOI:10.1099/00207713-51-2-589

51. Блинова Е.Г., Чеснокова М.Г. Биотехнологические аспекты анализа донных осадков и гидрохимический режим водотока // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2019. № 10. С. 75–80.

52. Sattley W.M., Madigan M.T. Isolation, Characterization, and Ecology of Cold-Active, Chemolithotrophic, Sulfur-Oxidizing Bacteria from Perennially Ice-Covered Lake Fryxell, Antarctica // Applied and Environmental Microbiology. 2006. Vol. 72. No. 8. P. 5562–5568. DOI:10.1128/AEM.00702-06

53. Complete genome sequence of *Desulfotomaculum acetoxidans* type strain (5575T) / S. Spring [et al.] // Standards in Genomic Sciences. 2009. Vol. 1. P. 242–252. DOI:10.4056/sigs.39508

54. Sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio desulfuricans* ND132 as a model for understanding bacterial mercury methylation / C.C. Gilmour [et al.] // Applied and Environmental Microbiology. 2011. Vol. 77(12). P. 3938–3951.

55. Iron-binding characterization and polysaccharide production by *Klebsiella oxytoca* strain isolated from mine acid drainage / F. Baldi [et al.] // Journal of Applied Microbiology. 2009. Vol. 107, Iss. 4, P. 1241–1250. DOI:10.1111/j.1365-2672.2009.04302.x
56. In-vitro antibacterial, antifungal, antioxidant and functional properties of *Bacillus amyloliquefaciens* / S. Kadaikunnan [et al.] // Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials. 2015. Vol. 14. Article number: 9. DOI: 10.1186/s12941-015-0069-1
57. Phenotypic and Genotypic Investigation of Two Representative Strains of Microbacterium Species Isolated From Micro-Filtered Milk: Growth Capacity and Spoilage-Potential Assessment / P. Bellassi, F. Cappa, A. Fontana, L. Morelli // Frontiers in Microbiology. 2020. Vol. 11. Article number: 554178. DOI:10.3389/fmicb.2020.554178.
58. Exploitation of Agricultural Waste as Sole Substrate for Production of Bacterial l-Glutaminase Under Submerged Fermentation and the Proficient Application of Fermented Hydrolysate as Growth Promoting Agent for Probiotic Organisms / J.P. Soren [et al.] // Waste and Biomass Valorization. 2020. Vol. 11. P. 4245–4257. DOI:10.1007/s12649-019-00761-3
59. Biodegradation of 4-hydroxybenzoic acid by *Acinetobacter johnsonii* FZ-5 and *Klebsiella oxytoca* FZ-8 under anaerobic conditions / P. Lu [et al.] // Biodegradation. 2022. Vol. 33. P. 17–31. DOI:10.1007/s10532-021-09963-w
60. Specialized cell surface structures in cellulolytic bacteria / R. Lamed, J. Naimark, E. Morgenstern, E.A. Bayer // Journal of Bacteriology. 1987. Vol. 169(8). P. 3792–800. DOI:10.1128/jb.169.8.3792-3800.1987
61. Chaidir A. Preliminary Exploration of Cyanobacteria in Peat Waters, Palangka Raya, Central Kalimantan, Indonesia // Journal of Peat Science and Innovation. 2022. Vol. 1(1). P. 45–52. DOI: 10.59032/jpsi.v1i1.7559
62. Olanya M., Lakshman D. Potential of predatory bacteria as biocontrol agents for foodborne and plant pathogens // Journal of Plant Pathology. 2015. Vol. 97. P. 405–417.

63. Spore-forming *Serratia marcescens* subsp. *sakuensis* subsp. nov., isolated from a domestic wastewater treatment tank / B. Ajithkumar [et al.] // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2003. Vol. 53, Iss. 1. P. 253–258. DOI:10.1099/ijs.0.02158-0
64. Awad M.F, Kraume M. Mycological survey of activated sludge in MBRs // Mycoses. 2011.Vol. 54(5). P. 493–498. DOI:10.1111/j.1439-0507.2010.01959.x.
65. Heavy metal tolerance of filamentous fungi isolated from polluted sites in Tangier, Morocco / L. Ezzouhri [et al.] // African Journal of Microbiology Research. 2009. Vol. 3(2). P. 35–48.
66. Arregui L., Liébana R., Calvo P., Pérez-Uz B., Salvadó H., Serrano. Bioindication in activated sludge wastewater treatment plants. In book: Handbook of Wastewater Treatment: Biological Methods, Technology and Environmental Impact Publisher: Nova Science Publishers / Editors: J.C. Valdez, E.M. Maradona. 2013. P. 277–291.
67. Pérez-Legaspi I.A., Rico-Martínez R. Acute toxicity tests on three species of the genus *Lecane* (Rotifera: Monogononta). Hydrobiologia. 2001. Vol. 446. P. 375–381. DOI:10.1023/A:1017531712808
68. Świąteczak P., Cydzik-Kwiatkowska A. Performance and microbial characteristics of biomass in a full-scale aerobic granular sludge wastewater treatment plant // Environmental Science and Pollution Research. 2018. Vol. 25. P. 1655–1669. DOI:10.1007/s11356-017-0615-9
69. Hassan S., Zwain H., Dahlan I. Development of Anaerobic Reactor for Industrial Wastewater Treatment: An Overview, Present Stage and Future Prospects // Journal of Advanced Scientific Research. 2013. Vol. 4(1). P. 7–12.
70. Towards Circular Economy: Evaluation of Sewage Sludge Biogas Solutions / A. Kiselev [et al.] // Resources. 2019. Vol. 8. Article number: 91. DOI:10.3390/resources8020091
71. Spinosad in the native stingless bee *Melipona quadrifasciata*: Regrettable non-target toxicity of a bioinsecticide / H.V.V. Tomé, W.F. Barbosa, G.F. Martins, R.N.C. Guedes // Chemosphere. 2015. Vol. 124. P. 103–109. DOI:10.1016/j.chemosphere.2014.11.038

72. Викторов, А. Г. ГМ-растения со встроенной системой защиты от вредителей // Защита и карантин растений. 2018. № 5. С. 11–13.
73. *Bacillus thuringiensis* Toxins: An Overview of Their Biocidal Activity / L. Palma [et al.] // *Toxins*. 2014. Vol. 6(12). P. 3296–3325. DOI:10.3390/toxins6123296
74. Fiesler E. Gene-Silencing Pesticides – Risks and Concerns. 2021. 33 P.
75. Advances and prospects in biogenic substances against plant virus: A review / L. Zhao [et al.] // *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2017. Vol. 315. P. 15–26. DOI:10.1016/j.pestbp.2016.07.003
76. Перспективы повышения биологической активности биопрепаратов на основе бактерий рода *Bacillus* и нанокompозитов хитозана (Обзор) / Л.Г. Яруллина, Ж.Н. Калацкая, Е.А. Черепанова [и др.] // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2023. Т. 59, № 5. С. 427–439. DOI:10.31857/S0555109923050185.
77. Щербань А.Б. Хитозан и его производные как перспективные средства защиты растений // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023. Т. 27. №8. С. 1010–1021. DOI 10.18699/VJGB-23-116
78. Molecular characterization and antifungal activity of lipopeptides produced from *Bacillus subtilis* against plant fungal pathogen *Alternaria alternata* / B.N. Harish [et al.] // *BMC Microbiology*. 2023. Vol. 23. Article number: 179. DOI:10.1186/s12866-023-02922-w
79. Lipopeptides from *Bacillus velezensis* ZLP-101 and their mode of action against bean aphids *Acyrtosiphon pisum* Harris / Q. Li [et al.] // *BMC Microbiology*. 2024. Vol. 24. Article number: 231. DOI:10.1186/s12866-024-03378-2
80. Genetic engineering of *Pseudomonas chlororaphis* GP72 for the enhanced production of 2-Hydroxyphenazine / K. Liu [et al.] // *Microbial Cell Factories*. 2016. Vol. 15. Article number: 131. DOI:10.1186/s12934-016-0529-0
81. Жемчужин С.Г., Спиридонов Ю.Я., Босак Г.С. Биопестициды: современное состояние проблемы (дайджест публикаций за

2012–2017 гг.) // Агрохимия. 2019. № 11. С. 77–85. DOI:10.1134/S0002188119110140.

82. Павлюшин В.А., Новикова И.И., Бойкова И.В. Микробиологическая защита растений в технологиях фитосанитарной оптимизации агроэкосистем: теория и практика (обзор) // Сельскохозяйственная биология. 2020. Т. 55, № 3. С. 421–438. DOI:10.15389/agrobiology.2020.3.421rus.

83. Goettel M., Eilenberg J., Glare T. Entomopathogenic fungi and their role in regulation of insect populations // Comprehensive Molecular Insect Science. 2005. Vol. 6. P. 361–406.

84. Prospective of mycorrhiza and *Beauveria bassiana* silica nanoparticles on *Gossypium hirsutum* L. plants as biocontrol agent against cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* / R.A. Metwally [et al.] // BMC Plant Biology. 2022. Vol. 22. Article number: 409. DOI:10.1186/s12870-022-03763-x

85. Zimmermann G. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent // Pesticide Science. 1993. Vol. 37. P. 375–379. DOI: 10.1002/ps.2780370410

86. Шухалова А.Г., Тимофеев С.А., Долгих В.В. Высоковирulentные и специфичные биопестициды на основе генетически модифицированных энтомопатогенных грибов // Международный сельскохозяйственный журнал. 2024. Том 67, № 2 (398), С. 188–191. DOI:10.55186/25876740_2024_67_2_188

87. Ultra Deep Sequencing of a Baculovirus Population Reveals Widespread Genomic Variations / A. Chateigner [et al.] // Viruses. 2015. Vol. 7. P. 3625–3646. DOI:10.3390/v7072788

88. Genetically Modified Baculoviruses for Pest Insect Control / S.G. Kamita, K.D. Kang, B.D. Hammock, A.B. Inceoglu // Comprehensive Molecular Insect Science. 2005. Vol. 6. P. 271–322

89. Covert Infection of Insects by Baculoviruses / T. Williams, C. Virto, R. Murillo, P. Caballero // Frontiers in Microbiology. 2017. Vol. 8. Article number: 1337. DOI:10.3389/fmicb.2017.01337

90. Баранов В.Ф., Махонин В.Л. О биологической защите агрофитоценозов сои от вредных организмов // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. 2014. № 1. С. 152–164.
91. Голубев А.С., Берестецкий А.О. Перспективные направления использования биологических и биорациональных гербицидов в растениеводстве России (обзор) // Сельскохозяйственная биология. 2021. Т. 56, № 5. С. 868–884. DOI:10.15389/agrobiology.2021.5.868rus.
92. Полуэктова Е.В., Берестецкий А.О. Грибы рода *Colletotrichum* как продуценты биологически активных соединений и биогербицидов // Микология и фитопатология. 2018. Т. 52, № 6. С. 367–381. DOI:10.1134/S0026364818060053
93. Черняева Е.В., Викторов В.П. Аллелопатические взаимодействия: перспективы прикладных исследований // Социально-экологические технологии. 2022. Т. 12, № 2. С. 220–247. DOI:10.31862/2500-2961-2022-12-2-220-247
94. Есипенко Л. П. Формирование консортных связей в системе фитофаг - хозяин на примере адвентивных организмов *Zygogramma suturalis* (F.) (Coleoptera, Chrysomelidae), *Tarachidia candefacta* Hübner (Lepidoptera, Noctuidae) и *Ambrosia artemisiifolia* L. (Ambrosieae, Asteraceae) в условиях Юга России и российского Дальнего Востока: диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук : 03.02.08, 2015. 334 с.
95. Infection of the malaria vector *Anopheles coluzzii* with the entomopathogenic bacteria *Chromobacterium anophelis* sp. nov. IRSSSOUMB001 reduces larval survival and adult reproductive potential / E.J. Gnambani [et al.] // Malaria Journal. 2023. Vol. 22, Article number: 122. DOI:10.1186/s12936-023-04551-0
96. Evaluating the lethal and pre-lethal effects of a range of fungi against adult *Anopheles stephensi* mosquitoes / S. Blanford [et al.] // Malaria Journal. 2012. Vol.11. Article number: 365. DOI:10.1186/1475-2875-11-365

97. Accoti A., Engdahl C.S., Dimopoulos G. Discovery of Novel Entomopathogenic Fungi for Mosquito-Borne Disease Control // *Frontiers in Fungal Biology*. 2021. Vol. 2. Article number: 637234. DOI:10.3389/ffunb.2021.637234
98. Chemical composition and larvicidal activities of *Azolla pinna-ta* extracts against *Aedes* (Diptera:Culicidae) /R. Ravi [et al.] // *PLoS ONE*. 2018. Vol. 13(11). Article number: e0206982. DOI:10.1371/journal.pone.0206982
99. Kamaraj C., Rahuman A.A., Bagavan A. Antifeedant and larvicidal effects of plant extracts against *Spodoptera litura* (F.), *Aedes ae-gypti* L. and *Culex quinquefasciatus* Say // *Parasitology Research*. 2008. Vol. 103. P. 325–331. DOI: 10.1007/s00436-008-0974-8.
100. The Potential of Biologically Active Brazilian Plant Species as a Strategy to Search for Molecular Models for Mosquito Control / M. Valli [et al.] // *Planta Med*. 2021. Vol. 87. P. 6–23. DOI:10.1055/a-1320-4610
101. Кривонос К.С., Олифер В.В. Перспективы применения эн-томопатогенных грибов для сокращения численности иксодовых клещей (Ixodida: Ixodidae) // *Дезинфекционное дело*. 2023. № 2(124). С. 44–53. DOI:10.35411/2076-457X-2023-2-44-53.
102. The Role of Biofertilizers in Enhancing Soil and Productivity - A Review / S.K. Singh [et al.] // *International Journal of Plant & Soil Sci-ence*. 2025. Vol. 37 (3). P. 141–161. DOI:10.9734/ijpss/2025/v37i35355
103. Nitrogen Fixing Bacteria: Sustainable Growth of Non-legumes / Editors D.K. Maheshwari, R. Dobhal, S. Dheeman. Springer, 2022. 390 P. DOI:10.1007/978-981-19-4906-7
104. Маградзе Е.И., Кузнецова В.А. Влияние биоудобрения, по-лученного на основе молочной сыворотки, и содержащего *Streptomy-ces coelicolor*, на развитие рассады петунии // *Проблемы агрохимии и экологии*. 2023. № 4. С. 17–21. DOI 10.26178/AE.2023.77.19.004.
105. Algae as Bio-fertilizers: Between Current situation and Future prospective / E.E. Ammar [et al.] // *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2022. Vol. 29. P. 3083–3096. DOI:10.1016/j.sjbs.2022.03.020.

106. Encyclopedia of soils in the environment / Editor D. Hillel. Oxford, U.K., Oxford, Elsevier, 2005. 2200 p.

107. Differential symbiotic compatibilities between rhizobium strains and cultivated and wild soybeans revealed by anatomical and transcriptome analyses / S.B. Zadegan [et al.] // Frontiers in Plant Science. 2024. Vol. 15. Article number: 1435632. DOI: 10.3389/fpls.2024.1435632

108. Microbial biofertilizers: Bioresources and eco-friendly technologies for agricultural and environmental sustainability / D. Kour [et al.] // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2020. Vol. 23. Article number: 101487. DOI:10.1016/j.bcab.2019.101487.

109. Камельчук Я.С. Микоризные грибы: современные представления значимости их в минеральном питании растений и как натуральных биоудобрений // Вестник Полесского государственного университета. Серия природоведческих наук. 2020. № 1. С. 24–40.

110. Stokłosa N., Krasicka-Korczyńska E., Kieliszewska-Rokicka B. Mycorrhizal status of selected herbaceous plants in Molinia meadows of Folusz, near Szubin (Poland) // Ecological Questions. 2016. Vol. 23. P.71–78. DOI:10.12775/EQ.2016.007

111. Tapping Genomics to Unravel Ectomycorrhizal Symbiosis / J. Plett [et al.] // Methods in molecular biology. 2011. Vol. 722. P. 249–281. DOI: 10.1007/978-1-61779-040-9_19.

112. Ramaraj R., Unpaprom Y., Dussadee N. Cultivation of Green Microalga, *Chlorella vulgaris* for Biogas Purification // International Journal of New Technology and Research. 2016. Vol. 2, Is. 3. P. 117–122.

113. Zylstra G.J., Kukor J.J. What is environmental biotechnology? // Current Opinion in Biotechnology. 2005. Vol. 16. P. 243–245.

114. Sharma, S., Pathania, S., Bhagta, S. et al. Microbial remediation of polluted environment by using recombinant E. coli: a review // Biotechnology for the Environment. 2024. Vol. 1. Article number: 8 DOI:10.1186/s44314-024-00008-z

115. Crude Oil Degradation by a Novel Strain *Pseudomonas aeruginosa* AQNU-1 Isolated from an Oil-Contaminated Lake Wetland / H.

Liu, G. Yang, H. Jia, B. Sun // Processes. 2022. Vol. 10. Article number: 307. DOI:10.3390/pr10020307

116. Deshmukh R., Khardenavis A.A., Purohit H.J. Diverse Metabolic Capacities of Fungi for Bioremediation // Indian Journal of Microbiology. 2016. Vol. 56. P. 247–264. DOI:10.1007/s12088-016-0584-6

117. Wilson A. D. Delta Mushrooms in All Seasons: Winter Bloomers. (Part 1) // Delta Wildlife. Vol. 28(4). P. 36–37.

118. Использование базидиальных грибов с целью повышения эффективности рекультивации нефтезагрязненных почв / А. В. Коканина, М. Ю. Марченко, А. В. Барков [и др.] // Башкирский химический журнал. 2010. Т. 17, № 3. С. 123–129.

119. Широких А.А., Попыванов Д.В., Широких И.Г. Биосорбция Pb(II), Zn(II) и Cu(II) из водных растворов мицелием *Trametes versicolor* // Теоретическая и прикладная экология. 2017. № 2. С. 98–105.

120. Ali H., Khan E., Sajad M.A. Phytoremediation of heavy metals – Concepts and applications // Chemosphere. 2013. Vol. 91, Issue 7. P. 869–881. DOI:10.1016/j.chemosphere.2013.01.075.

121. Akpokodje O.I., Uguru H. Phytoremediation of Petroleum Products Contaminated Soil // Archives of Current Research International. 2019. Vol. 18 (1). P. 1–8. DOI:10.9734/acri/2019/v18i130127.

122. The Use of Tree Crops in the Phytoremediation of Soils Contaminated with Pesticides / C.H. Unaeze [et al.] // Research Journal of Pure Science and Technology. 2024. Vol 7. No. 1. P. 49–54. DOI:10.56201/rjpst.v7.no1.2024.pg49.54.

123. Kamika I., Momba M.N. Assessing the resistance and bioremediation ability of selected bacterial and protozoan species to heavy metals in metal-rich industrial wastewater // BMC Microbiology. 2013. Vol. 13. Article number: 28. DOI:10.1186/1471-2180-13-28.

124. Ekperusi O.A., Aigbodion I.F. Bioremediation of heavy metals and petroleum hydrocarbons in diesel contaminated soil with the earthworm: *Eudrilus eugeniae* // SpringerPlus. 2015. Vol. 4. Article number: 540. DOI: 10.1186/s40064-015-1328-5

125. Milićević D., Trajković S., Gocić M. Application of Macrobiological Methods in the Settlement Wastewater Treatment // *Biological Wastewater Treatment and Resource Recovery*. P. 17–36. DOI: 10.5772/65369
126. Mizik T., Igbege C.B., Deák Z. Production Efficiency of Advanced Liquid Biofuels: Prospects and Challenges // *Energies*. 2025. Vol. 18. Article number: 1008. DOI:10.3390/en18041008
127. Судакова И.Г., Руденко Н.Б. Получение твердых биотоплив из растительных отходов (обзор) // *Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Химия*. 2015. Т. 8, № 4. С. 499–513. DOI:10.17516/1998-2836-2015-8-4-499-513.
128. Experimental Study of the Combustion of and Emissions from Olive and Citrus Pellets in a Small Boiler / A. Palma [et al.] // *Fire*. 2023. Vol. 6. Article number: 288. DOI:10.3390/fire6080288.
129. Recent advances in biodegradable polymers for sustainable applications / A. Samir [et al.] // *npj Materials Degradation*. 2022. Vol. 6. Article number: 68. DOI:10.1038/s41529-022-00277-7.
130. Biofilm and Diatom Succession on Polyethylene (PE) and Biodegradable Plastic Bags in Two Marine Habitats: Early Signs of Degradation in the Pelagic and Benthic Zone? / A. Eich, T. Mildemberger, C. Laforsch, M. Weber // *PLoS ONE*. 2015. Vol. 10(9): Article number: e0137201. DOI:10.1371/journal.pone.0137201
131. Oxy-biodegradable plastics in freshwater environments: degradation and biofouling / G.P. Olivatto, A.L.A. Lourenço, A.J. de Souza, V.L. Tornisiello // *Water Emerging Contaminants & Nanoplastics*. 2024. Vol. 3. Article number: 9. DOI:10.20517/wecn.2023.62
132. Рудакова М.А., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю. Биосурфактанты: современные тенденции применения // *Ученые записки казанского университета. Серия естественные науки*. 2021. Т. 163. С. 177–208. DOI:10.26907/2542-064X.2021.2.177-208.

Учебное электронное издание

КОСМАЧЕВА Анастасия Геворговна
МАРЦЕВ Антон Андреевич

ЭКОБИОТЕХНОЛОГИЯ

Учебное пособие

Издается в авторской редакции

Системные требования: Intel от 1,3 ГГц; Windows XP/7/8/10;
Adobe Reader; дисковод CD-ROM.

Тираж 10 экз.

Издательство Владимирского государственного университета
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых.
600000, Владимир, ул. Горького, 87.