

ЛАБОРАТОРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ТРАНСФОРМАЦИИ ОРГАНИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ АКТИВНЫМ ИЛОМ РАЗНЫХ ТИПОВ ОЧИСТНЫХ СООРУЖЕНИЙ

LABORATORY SIMULATION OF THE TRANSFORMATION OF ORGANIC CONTAMINANTS BY ACTIVATED SLUDGE OF VARIOUS WASTE-WATER TREATMENT PLANTS

Проведен модельный эксперимент по разложению трех ксенобиотиков, относящихся к различным классам органических веществ — дибутилфталата, бенз[а]пирена, гексахлорциклогексана — в активных илах, взятых из разных по технологической схеме очистных сооружений.

Определен состав и содержание фракции экстрагируемых органических веществ в активном иле двух очистных сооружений с различной производственной мощностью и различным качеством поступающей воды. Определена степень деградации дибутилфталата, бенз[а]пирена и гексахлорциклогексана под воздействием микробного комплекса активного ила. Проведено исследование таксономической структуры активного ила в динамике (от начального состояния до завершения опыта через 4 сут) методом секвенирования генов 16S рРНК. Выявлены структурные изменения в бактериоценозе при разложении ксенобиотиков.

Ключевые слова: очистка сточных вод, ксенобиотики, активный ил, 16S рРНК

Model experiments on the decomposition of three xenobiotics belonging to different classes of organic compounds — dibutyl phthalate, benzo[a]pyrene, hexachlorocyclohexane — in activated sludges taken from different by technological scheme water treatment facilities were made.

The composition and content of fraction of extractable organic matters in the activated sludge of two treatment facilities with different production capacity and quality of incoming water were determined. The degree of degradation of dibutyl phthalate, benzo[a]pyrene and hexachlorocyclohexane under the impact of microbial complex of the activated sludge was determined. A study of taxonomic structure of the activated sludge over time (from initial state to the experiment completion after 4 days) was made by sequencing of 16S rRNA genes. The structural changes in bacteriocenosis after xenobiotics' decomposition were found.

Key words: wastewater treatment, xenobiotics, activated sludge, 16S rRNA

Н.М. Щеголькова*, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, ФГБУН Институт водных проблем Российской академии наук

Г.С. Краснов, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук

Ю.А. Завгородняя, кандидат биологических наук, доцент кафедры химии почв, ФГОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

В.В. Демин, кандидат биологических наук, МГУ имени М.В. Ломоносова, Факультет почвоведения, ведущий научный сотрудник лаборатории экологического почвоведения, ФГОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Д.А. Орешников, магистр факультет почвоведения, ФГОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Н.В. Орешникова, кандидат биологических наук, старший преподаватель факультета почвоведения, ФГОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

К.Ю. Рыбка, аспирант, ФГБУН Институт водных проблем Российской академии наук

А.В. Кудрявцева, заведующая лабораторией, ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук

С.Г. Харитонов, магистрант биологического факультета, ФГОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

А.К. Скрипчинский, аспирант, ФГБУН Институт водных проблем Российской академии наук

Р.А. Стрелецкий, аспирант кафедры биологии почв, ФГОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

N.M. Shchegol'kova, G.S. Krasnov, Iu.A. Zavgorodniaia, V.V. Demin, D.A. Oreshnikov, N.V. Oreshnikova, K.Iu. Rybka, A.V. Kudriavtseva, S.G. Kharitonov, A.K. Skripchinskii, R.A. Streletskii

*Адрес для корреспонденции: nshegolkova@mail.ru

Введение

В настоящее время серьезную опасность для водных ресурсов всего мира представляют токсичные для гидробионтов искусственно созданные органические соединения (ксенобиотики), количество которых в окружающей среде постоянно растет. Наиболее распространенные в гидросфере ксенобиотики — это различные пестициды, синтетические поверхностно-активные вещества, пластификаторы, растворители, а также вещества, входящие в состав фармацевтических и косметических средств и красителей [1-3]. Большинство из них проявляют мутагенную, канцерогенную, аллергенную и тератогенную активность [4].

Удаление органических поллютантов из природных и сточных вод является актуальной проблемой современности. Состав поступающих загрязненных сточных вод в черте города значительно варьирует, и их свойства оцениваются по результатам санитарно-химического анализа, включающего совместно со стандартными химическими тестами ряд физических, физико-химических и санитарно-бактериологических определений. В настоящее время идет масштабная реконструкция многих очистных сооружений, однако, все еще остается необходимость строительства новых систем, удовлетворяющих жестким современным требованиям, предъявляемым к качеству воды в водоемах культурно-бытового назначения и в рыбохозяйственных водоемах 1-й и 2-й категории.

Показано, что адаптированные бактериоценозы способны утилизировать до безопасных соединений нефть и нефтепродукты [5, 6], ПАУ — нафталин, фенантрен, бифенил [7], фенол и его производные [6, 8], цианиды [9]. Эффективность использования традиционных очистных сооружений для удаления органических поллютантов напрямую связана с возможностью адаптации сообщества активного ила (**АИ**). На сооружениях биологической очистки происходит автоселекция бактериоценоза под влиянием поступающих стоков [10]. Адаптация микробных ценозов к органическим поллютантам может происходить в течение длительного времени. Так, время адаптации к разным концентрациям фенола бактериоценоза

АИ очистных сооружений, на которые поступали фенолсодержащие промышленные отходы, составило не менее 40 сут [8]. Вопрос изменения структуры бактериального сообщества в процессе разложения ксенобиотиков становится важной научной проблемой, так как позволяет оценить функционирование сообщества как единой системы.

Методы идентификации организмов АИ непрерывно развиваются [11]. Технологии высокопроизводительного секвенирования позволяют за короткое время получить данные как о полном метагеноме сообщества, так и об отдельных маркерных последовательностях, в частности, генов 16S рРНК. Этот метод хорошо зарекомендовал себя при анализе почв, донных (морских и речных) илов, содержимого желудочно-кишечного тракта человека и животных, а также активных илов [12-14]. Под термином метагеном принято понимать «совокупный» геном микробного сообщества того или иного местообитания. Изучение генетического состава метагенома происходит на основе анализа молекул ДНК, выделенных непосредственно из биоценоза. Дальнейший анализ ДНК подразумевает решение двух задач: исследование 1) таксономической и 2) функциональной структуры микробного сообщества. В первом случае используются ген-специфичные праймеры для изучения филогенетических маркеров биоразнообразия (прежде всего, это гены 16S рРНК). Во втором случае проводят изучение функциональных генов (например, гены, продукты которых участвуют в процессах нитрификации, азотфиксации и др.).

Развитие биохимических методов исследования привело к появлению новых направлений в изучении процессов разложения ксенобиотиков в системах биологической очистки. В частности, появились работы по лабораторному моделированию процессов разложения ксенобиотиков системами АИ [14-20].

Цель исследования — оценить эффективность трансформации органических поллютантов активным илом из очистных сооружений разных типов и исследовать изменения структуры бактериоценозов в динамике при разложении модельных ксенобиотиков.

Объектами исследования являлись две пробы АИ, отобранные в июле 2015 г. из центральной части аэротенков очистных сооружений при помощи пробоотборного стакана:

- АИ очистного сооружения г. Москвы производительностью более $2 \cdot 10^6$ м³/сут. Из поступающих сточных вод 2/3 составляют хозяйственно-бытовые и 1/3 — промышленные, биологическая очистка происходит с удалением азота;

- АИ очистного сооружения, расположенного в Московской обл., производительностью $0.15 \cdot 10^6$ м³/сут, биологическая очистка хозяйственно-бытовых сточных вод идет без удаления биогенных элементов.

В качестве токсикантов были выбраны соединения, относящиеся к разным классам органических загрязняющих веществ:

- ♦ дибутиловый эфир фталевой кислоты (дибутилфталат). Фталаты используются в качестве пластифицирующих агентов в низкотемпературных пластмассах, обладают канцерогенным и иммунотоксическим действием и, вследствие повсеместного использования изделий из пластмассы, являются постоянными загрязнителями продуктов питания и объектов окружающей среды;

- ♦ γ -изомер гексахлорциклогексана (линдан). Относится к классу хлорорганических пестицидов; как и большинство органических соединений, имеющих в составе молекулы хлорзамещенные циклические структуры, высокотоксичен и имеет относительно невысокую скорость разложения в окружающей среде (период полураспада в воде — до 300 сут);

- ♦ бенз(а)пирен. Относится к классу полициклических ароматических углеводородов — стойких органических загрязнителей, основным антропогенным источником которых являются продукты сгорания топлив, в первую очередь автомобильных. Из-за высокой канцерогенной активности и низкой скорости биodeградации бенз(а)пирен является соединением, содержание которого строго нормируется в продуктах питания, воздухе, водах и почвах.

Все выбранные ксенобиотики входят в группу так называемых «приоритетных загрязнителей», экологический мониторинг которых должен осуществляться на национальном и мировом уровне, в связи с их высокой токсичностью по отношению к живым организмам, высокой устойчивостью в пределах окружающей среды и глобальной распространенностью загрязнения в результате активной антропогенной деятельности.

Схема проведения лабораторного эксперимента

Пробы АИ сразу после доставки в лабораторию (через 1,5-2 ч после отбора) помещали в емкость объемом 10 л, оборудованную лопастной мешалкой. Из емкости при интенсивном перемешивании отбирали сифоном пробы АИ объемом 2 л в стеклянные конические колбы. Колбы помещали на

магнитные мешалки и приливали в них 50 мл раствора токсикантов. Для приготовления растворов токсикантов во флакон с 50 мл дистиллированной воды вносили 100-200 мкл раствора, содержащего рассчитанное количество органического вещества в метаноле. Такой способ внесения в водные культуры соединений, имеющих ограниченную растворимость, обеспечивает их равномерное распределение в тестируемой системе. Концентрации органических токсикантов подбирали из расчета 10-кратного превышения их ПДК: в водах — для дибутилфталата (0,2 мг/л), в донных осадках — для линдана (0,1 мкг/г) и бенз(а)пирена (0,02 мкг/г) [21]. В колбу с контрольной пробой АИ приливали 50 мл дистиллированной воды.

После внесения токсикантов колбы с АИ закрывали марлевыми тампонами и инкубировали при постоянном перемешивании в условиях естественного освещения в течение 4 сут при температуре 22-25° С. В начале эксперимента, а также через 2 и через 4 сут из колб с АИ производили отбор проб для проведения аналитических определений и метагеномного анализа.

Аналитические определения

рН проб определяли рН-метром HI 9025 (Hanna Instruments, Германия), электропроводность — кондуктометром HI 933100 (Hanna Instruments, Германия). Содержание сухого остатка определяли гравиметрически после высушивания аликвотной части пробы при 105 °С до постоянного веса.

Для определения состава органических соединений пробы АИ экстрагировали дихлорметаном, затем смесь разливали в центрифужные флаконы объемом 50 мл и центрифугировали в течение 5 мин при 5000 об./мин. на центрифуге 5810R (Eppendorf, Германия). Фазу дихлорметана отбирали пипеткой Пастера и фильтровали через фильтр «красная лента», объем собранного экстракта измеряли. 1 мл экстракта переносили в хроматографический флакон для проведения аналитических определений. Аликвоту оставшегося экстракта переносили в стакан и определяли общее содержание экстрагируемых органических соединений гравиметрически после полной отгонки растворителя.

Качественную идентификацию и количественное определение органических соединений в пробах проводили методом капиллярной газожидкостной хроматографии на газовом хроматографе Agilent 6890N (Agilent Technologies, США) с квадрупольным масс-селективным детектором MSD5973N (Agilent Technologies, США) и колонкой DB1-ms 30 м x 0,25 мм x 0,25 мкм (Agilent Technologies, США). Параметры масс-спектрометра: тип ионизации — электронный удар, ионизирующее напряжение — 70 эВ, режимы сканирования — полный ионный ток (10-700 а.е.м.), мониторинг заданных ионов.

Идентификацию соединений проводили по временам удерживания на хроматограммах и масс-спектрам (библиотека NIST/EPA/NIH 08 Mass Spectral Library, программа поиска NIST Mass Spectral Search Program ver.2.0f). Количественное определение проводили по доминирующим фраг-

мент-ионам (базовым пикам): m/z 57 — углеводороды, m/z 149 — фталевые эфиры, m/z 129 — алифатические эфиры, m/z 181 — линдан соединения, m/z 252 — бенз(а)пирен. В качестве градуировочных стандартов использовали вещества гарантированной чистоты.

Хроматографический анализ выполнялся в Центре Коллективного Пользования ф-та Почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова.

Метагеномный анализ

Для определения структуры АИ 2 мл суспензии ила вносили в пробирки Eppendorf и центрифугировали в течение 5 мин при 10000 об./мин на центрифуге MiniSpin (Eppendorf, Германия). Супернатант удаляли, полученный плотный осадок ила помещали в морозильную камеру (-20 °С) до проведения метагеномного анализа.

Для выделения тотальной ДНК использовали набор PowerSoil® DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, CA USA) в соответствии с протоколом производителя. Для приготовления библиотек использованы фьюжн-праймеры, одна часть которых комплементарна гену 16S рРНК, а другая часть представляет собой адаптеры для секвенирования на приборе GS Junior (Roche 454, Switzerland). Очистку библиотек от димеров праймеров проводили вырезанием из геля (очистка с использованием набора MiniElute Gel extraction kit, Qiagen, Germany) и затем при помощи магнитных шариков Agencourt AMPure Beads (Beckman Coulter, CA USA). Эмульсионную ПЦР проводили с применением набора GS Junior Titanum emPCR Kit (Lib-L, Roche, Switzerland) по протоколу производителя.

Секвенирование проводили на приборе GS Junior (Roche 454) в Центре Коллективного Пользования при Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН (http://www.eimb.ru/RUSSIAN_NEW/INSTITUTE/ccu_genome_c.php).

Результаты и их обсуждение

Состав органической части проб АИ приведен в табл. 1. Основная часть органических соединений, экстрагируемых дихлорметаном (липид-

ная фракция) из АИ по данным газового хромато-масс-спектрометрического анализа представлена компонентами липидных мембран клеток микроорганизмов: алифатическими углеводородами и их производными (спиртами, альдегидами и сложными эфирами), полициклическими углеводородами (стеранами) и их производными (стеролами).

Для пробы из аэротенка московских очистных сооружений характерна более высокая плотность культуры АИ и более высокое содержание липидной фракции (табл. 1, рис. 1). Последний факт может быть связан не только с большей величиной биомассы, но и с более высоким уровнем загрязнения очищаемых сточных вод жирами и нефтепродуктами.

Выявлено, что исходное содержание использованных в модельном опыте токсикантов было различно в илах двух сооружений. В АИ московской станции выше содержание таких групп стойких органических загрязнителей, как фталаты и полициклические ароматические углеводороды (табл. 1).

В АИ московских очистных сооружений обнаружено высокое содержание хлорорганических соединений, представленных три-, тетра-, пента- и гексахлорированными конгенерами полихлорированных бифенилов (рис. 2). Присутствие этой группы органических поллютантов может быть связано с поступлением в составе промышленных стоков трансформаторных диэлектриков и смазок в очищаемые воды. Данный факт подтверждается также присутствием в пробе заметных количеств дитретбутилфенола, используемого в качестве антиоксиданта в трансформаторном масле [22]. В пробе ила подмосковного очистного сооружения хлорированные соединения отсутствуют.

Очищающая способность активного ила очистных сооружений по отношению к различным классам органических ксенобиотиков

В ходе модельных лабораторных экспериментов по изучению очищающей способности АИ по отношению к стойким органическим загрязнителям не было зафиксировано значительных изменений в интегральных контролируемых показателях для обеих протестированных проб ила (табл. 2). Это

Таблица 1

Содержание органических соединений в пробах АИ из аэротенков очистных сооружений

	Очистные сооружения	
	г. Москва	Московская обл.
Сухой остаток, г/л	4,3±0,1*	3,9±0,1
Липидная фракция, мг/л	82±1	52±1
Эфиры фталевой кислоты, мг/л	3,28±0,16	1,21±0,16
Бенз(а)пирен, мкг/л	0,77±0,02	0,20±0,04
Хлорорганические соединения, мкг/л	0,54±0,06	не обнаружено

Примечание: * — доверительный интервал при α=0,05.

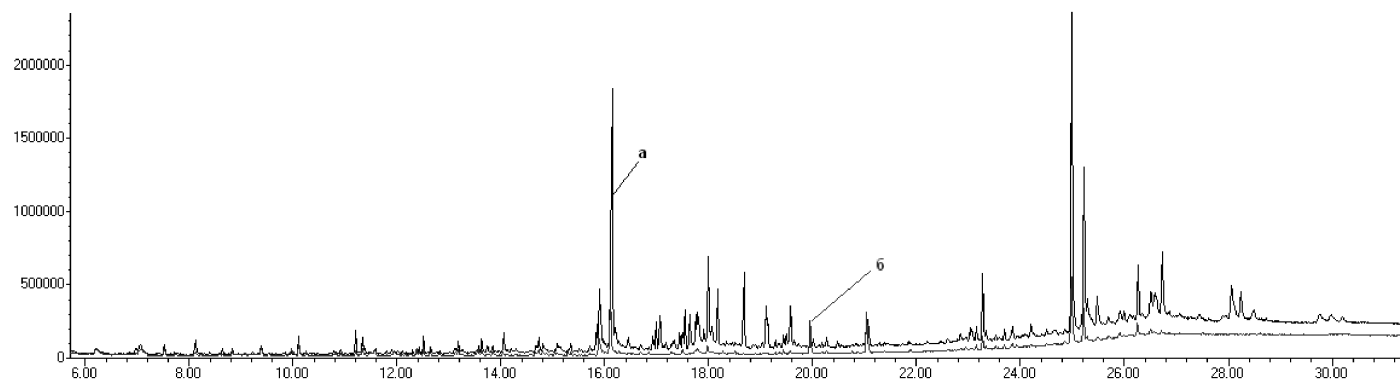


Рис. 1. Хроматограммы липидной фракции АИ московского очистного сооружения (а) и подмосковного очистного сооружения (б).

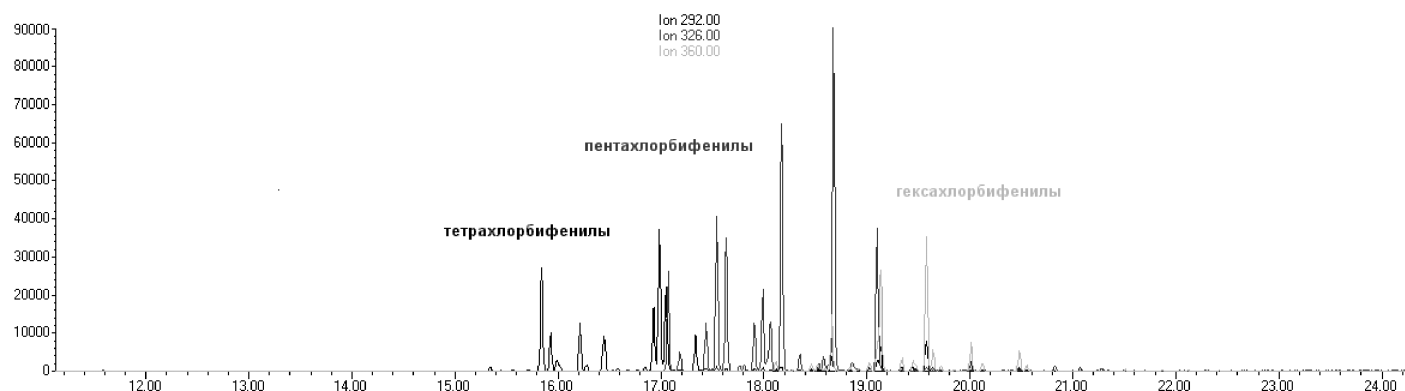


Рис. 2. Состав полихлорированных бифенилов в пробе АИ московского очистного сооружения.

означает, что условия среды для биоценоза не менялись в течение опыта.

Изменение содержания сухого остатка наблюдалось в пределах точности определения. Небольшое (до 20 %) снижение содержания фракции экстрагируемых органических соединений и сухого остатка

(до 15 %) во всех вариантах опыта связано с биохимическим окислением органического вещества.

По результатам модельного эксперимента для обеих проб ила была получена высокая скорость разложения дибутилфталата (табл. 3, рис. 3). В пробе ила московских очистных сооружений

Таблица 2

Изменение интегральных показателей активного ила из аэротенков очистных сооружений в ходе модельного эксперимента (длительностью 4 сут)

Источник АИ	Вариант опыта	Время опыта, сут	рН	Электропроводность, мкСм/см	Сухой остаток, г/л	Экстрагируемые органические соединения, мг/л
Очистное сооружение г. Москва	АИ (контроль)	0	7,4	1130	4,3±0,1*	82±1
		2	7,6	1190	4,0±0,1	74±4
		4	7,8	1260	4,2±0,4	64±4
	АИ+дибутилфталат	0	7,4	1130	4,1±0,2	84±2
		2	7,6	1250	4,0±0,4	81±5
		4	7,7	1300	4,4±0,1	73±6
	АИ+линдан	0	7,4	1130	4,2±0,1	86±1
		2	7,6	1220	4,2±0,1	83±1
		4	7,7	1300	4,0±0,5	70±3
	АИ+бенз(а)пирен	0	7,4	1130	4,5±0,4	80±3
		2	7,6	1230	4,3±0,2	76±2
		4	7,8	1300	4,0±0,4	63±1

Источник АИ	Вариант опыта	Время опыта, сут	рН	Электропроводность, мкСм/см	Сухой остаток, г/л	Экстрагируемые органические соединения, мг/л
Очистное сооружение (Подмосковье)	АИ (контроль)	0	7,3	1230	3,9±0,1	52±1
		2	7,6	1210	3,9±0,1	49±1
		4	7,6	1200	3,5±0,3	46±1
	АИ+дибутилфталат	0	7,3	1230	3,8±0,4	55±2
		2	7,3	1300	3,9±0,1	54±1
		4	7,6	1200	3,6±0,1	46±4
	АИ+линдан	0	7,3	1230	4,0±0,1	50±3
		2	7,3	1290	3,6±0,3	48±1
		4	7,6	1180	3,7±0,5	46±5
	АИ+бенз(а)пирен	0	7,3	1230	3,8±0,1	53±1
		2	7,3	1300	3,6±0,2	49±3
		4	7,6	1240	3,6±0,2	46±2

Примечание: * — доверительный интервал при α=0,05.

содержание дибутилфталата уже на вторые сутки было соизмеримо с контролем. Соединения, относящиеся к этой группе загрязнителей, постоянно присутствуют в объектах окружающей среды (в том числе и в сточных водах) в значительных количествах. В связи с этим можно предположить, что микробное сообщество АИ хорошо адаптировано к их регулярному поступлению и легко перестраивается для утилизации избыточных количеств фталевых эфиров.

Хлорсодержащие пестициды обладают высокой биотоксичностью и достаточно устойчивы в условиях окружающей среды. Скорость деградации линдана АИ была значительно ниже по сравнению с дибутилфталатом. При этом было установлено, что микроорганизмы ила московской станции разрушают линдан в 2 раза быстрее (табл. 3, рис. 3). Более высокую адаптивность микробного комплекса этой пробы к хлорсодержащей органике можно объяснить присутствием в очищае-

мых сточных водах Московской станции значительных количеств полихлорированных бифенилов.

В ходе эксперимента значительной деструкции бенз(а)пирена в обеих протестированных пробах АИ не наблюдали (табл. 3, рис. 3). Бенз(а)пирен, как и другие высококольчатые полиарены, имеет низкую острую токсичность и высокую устойчивость к микробной деградации. Зафиксированное при данной длительности эксперимента снижение содержания бенз(а)пирена в пробах на 10-12 % не позволяет сделать однозначный вывод о возможности эффективной утилизации полиароматических углеводородов АИ изученных очистных сооружений.

Изменение структуры бактериального сообщества илов в процессе эксперимента

На рис. 4-6 представлены результаты метагеномного исследования АИ в динамике. Оценка

Таблица 3
Изменение содержания органических загрязняющих веществ (мкг/л) в АИ из аэротенков очистных сооружений в ходе модельного эксперимента

Тип ОЗВ	Источник АИ	Вариант опыта	Время опыта, сут		
			0	2	4
Фталаты	Московское очистное сооружение	АИ (контроль)	372±7*	358±6	325±8
		АИ+дибутилфталат	1373±5	422±7	337±6
	Подмосковное очистное сооружение	АИ (контроль)	236±5	198±5	197±7
		АИ+дибутилфталат	1151±10	374±7	279±10
Хлор-органические соединения	Московское очистное сооружение	АИ (контроль)	не обн.	не обн.	не обн.
		АИ+линдан	10,2±0,6	8,4±0,9	5,3±0,6
	Подмосковное очистное сооружение	АИ (контроль)	не обн.	не обн.	не обн.
		АИ+линдан	9,8±0,6	9,1±0,5	7,5±0,8
Полиароматические углеводороды	Московское очистное сооружение	АИ (контроль)	0,77±0,02	0,74±0,06	0,73±0,03
		АИ+бенз(а)пирен	1,52±0,08	1,40±0,06	1,38±0,02
	Подмосковное очистное сооружение	АИ (контроль)	0,20±0,04	0,20±0,05	0,18±0,02
		АИ+бенз(а)пирен	1,29±0,06	1,17±0,04	1,13±0,08

Примечание: * — доверительный интервал при α=0,05.

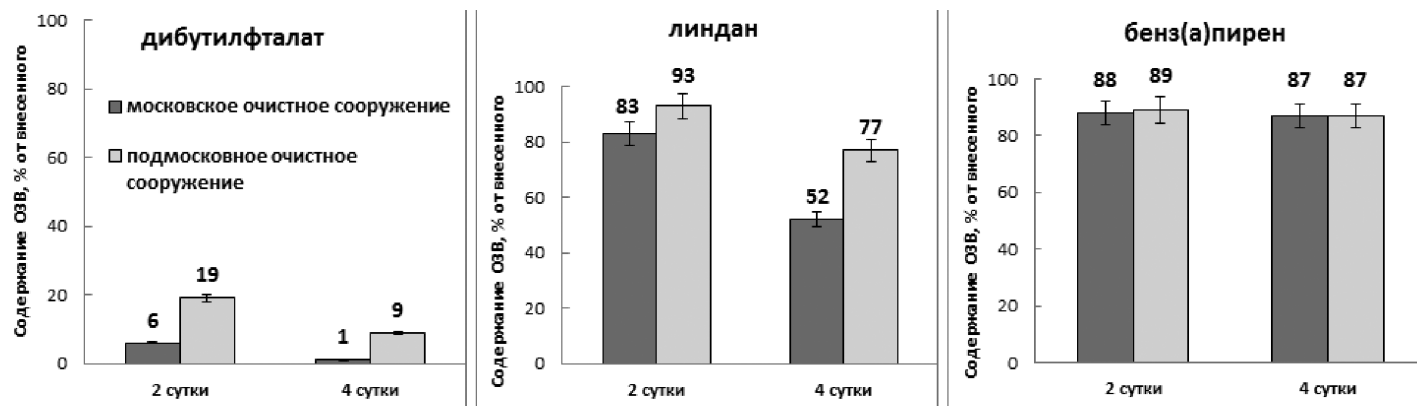


Рис. 3. Снижение содержания органических загрязнителей (в % от внесенного) в пробах АИ в ходе модельного эксперимента.

различия структуры бактериоценозов на уровне семейств экспериментального АИ, отобранного в начале эксперимента (Мо — понедельник) и в течение 4 сут после этого (We — среда, Fr — пятница), показала, что наблюдаемое объединение проб в наиболее тесно связанные кластеры происходит не по внесенным загрязняющим веществам, а по исходной структуре АИ. Выделяются два больших статистически достоверно обозначенных кластера — АИ первого и АИ второго очистного сооружения (рис. 4, 5).

Набор преобладающих семейств и родов для АИ разных очистных сооружений различается. В АИ московского очистного сооружения преобладали по встречаемости над остальными следующие роды бактерий: *Haliscomenobacter*, *Diaphorobacter*, *Thiothrix*, *Acinetobacter*, *Cloacibacterium*, *Luteimonas*, *Aquabacterium*, *Bdellovibrio*, *Zavarzinella*, *Methanosarcina*, *Veillonella*, *Runella*, *Ferruginibacter*, *Sphaerotilus*, *Zoogloea*; в АИ подмосковного очистного сооружения: *Propionivibrio*, *Collinnsella*, *Litorilinea*, *Arcobacter*, *Blastocatella*, *Alkanindiges*, *Ignavibacterium*, *Flavobacterium*, *Terrimonas*, *Rhodoferrax*.

В течение периода наблюдения не произошло таких структурных изменений в бактериоценозах, которые стали бы характерными для того или иного модельного токсиканта. По структуре бактериальных сообществ пробы объединяются достаточно «беспорядочно» (рис. 4). Это означает, что в таких сложных системах как АИ не существует единой структурной организации, «отвечающей» за разложение того или иного ксенобиотика. В разложении участвует вся система бактериального сообщества, и перестройка зависит больше от начальной структуры, чем от внесенного токсиканта.

Однако были выделены некоторые тенденции по уменьшению/увеличению численности отдельных родов в опытах с токсикантами по сравнению с опытом без внесения ксенобиотиков (0 — вариант).

Некоторые виды уменьшили свою численность до почти нулевых значений, а некоторые, наоборот, значительно ее увеличили в процессе эксперимента.

Haliscomenobacter (семейство *Saprospiraceae*) присутствовал в исходном иле очистного сооружения 1 в значимых количествах и сохранил свою

представленность за время опыта в реакторе без добавления ксенобиотиков. В то же время в реакторах с добавлением ксенобиотиков этот род заметно (в десятки раз) снизил свою численность. *Haliscomenobacter* относится к аэробным хемоорганотрофам, который весьма распространен в сточных водах. Изменение численности может быть связано с чувствительностью данного вида к этим ксенобиотикам или продуктам их распада.

Prostheco bacter — род, относящийся к не так давно описанной филогенетической группе *Verrucomicrobia* [23, 24] во много раз увеличил численность во всех реакторах с ксенобиотиками сооружения 1 и в реакторе с бенз(а)пиреном сооружения 2. При этом в исходных АИ его численность была очень незначительна. Ранее представители этого рода выделялись из почвы, пресной воды и человеческих экскрементов. Это грамотрицательные, облигатные аэробные бактерии. Отличительной чертой *Prostheco bacter* является наличие генов, кодирующих тубулин-подобные белки. Есть предположение, что эти гены могли быть переданы им из эукариотических клеток путем горизонтального переноса.

Подобная же закономерность по изменению количественных характеристик наблюдается и для родов, относящихся к филогенетической группе *Acidobacteria* — условное название родов *Gp7* и *Gp17*. Филум *Acidobacteria* является одним из самых распространенных и в изобилии встречается в почвах, илах, воде, в т.ч. на очистных сооружениях. Наши знания о роли организмов этой группы в функционировании наземных экосистем остаются удивительно рудиментарными. Это связано с тем, что большая часть этих бактерий относится к некультивируемым. Однако, уже известно [25], что представители этой группы были выделены при совместном культивировании с метанотрофными бактериями. Предполагается, что существует метаболическая связь между *Acidobacteria* и протеобактериями, поскольку они часто наблюдаются вместе в окружающей среде. Была выдвинута гипотеза о том, что *Acidobacteria* функционируют как хемоорганотрофы совместно с автотрофами, последние предоставляют им углеводы. Все культивируемые виды *Acidobacteria* являются гетеротрофами. Геномные и метагеном-

ные данные предсказывают ряд метаболических возможностей для некоторых из *Acidobacteria*, в том числе: 1) возможность использования нитрита в качестве источника азота, 2) способность деградировать геллановую камедь (высокомолекулярный углевод, пищевая добавка E418), 3) способность производить экзополисахарид, 4) устойчивость к антибиотикам.

В АИ разных сооружений происходило увеличение численности разных бактерий. Так, при добавлении гексахлорциклогексана наблюдалось значительное увеличения численности рода *Litorilinea* в реакторе с АИ первого очистного сооружения. Данный род относится к термофильным аэробным хемоорганотрофам.

В АИ второго очистного сооружения увеличивали численность после добавления ксенобиотиков роды *Crocinitomix* и *Caldilinea*. Первый род представлен единственным ныне описанным видом *Crocinitomix catalasitica*, главная особенность метаболизма которого — возможность продуцировать каталазу. Второй род представлен нитчатыми термофильными бактериями.

Увеличение численности каталазо-производящих представителей может быть частью неспецифического ответа на стресс. На молекулярном уровне клеточный стресс часто приводит к гиперпродукции токсичного пероксида водорода, который каталазой нейтрализуется.

Рис. 6 наглядно демонстрирует увеличение численности отдельных семейств для двух разных АИ. Заметно, что картины эти существенно различаются для АИ-1 и АИ-2. В АИ-1 увеличилась, главным образом, численность семейств *Caldilineaceae*, *Rhodocyclaceae*, *Opitutaceae*, *Verrucomicrobiaceae*, а также менее часто и значимо — *Comamonadaceae*, *Xanthomonadaceae*, *Chitinophagaceae*. При этом к завершению эксперимента в контрольном реакторе наблюдалось наименьшее увеличение численности названных семейств.

В АИ-2 произошло увеличение численности, главным образом, для семейств: *Caldilineaceae*, *Opitutaceae*, *Rhodocyclaceae*, а также менее значимо — *Xanthomonadaceae*, *Burkholderiales* i.s., *Nitrospiraceae*, *Gemmatimonadaceae*, *Ignavibacteriaceae*, *Sphingomonadaceae*. Число семейств, заметно увеличивших численность, в контрольном реакторе было ниже (5 по сравнению с 7-9 в реакторах с ксенобиотиками), и также наблюдалась тенденция по менее выраженному увеличению численности, как и в контроле АИ-1.

Семейство *Methylophilaceae* увеличивало численность в обоих илах при добавлении дибутилфталата.

К семействам, численность которых снижалась в обоих илах, относятся *Chitinophagaceae* и *Saprospiraceae*. Особенно это было выражено для второго семейства.

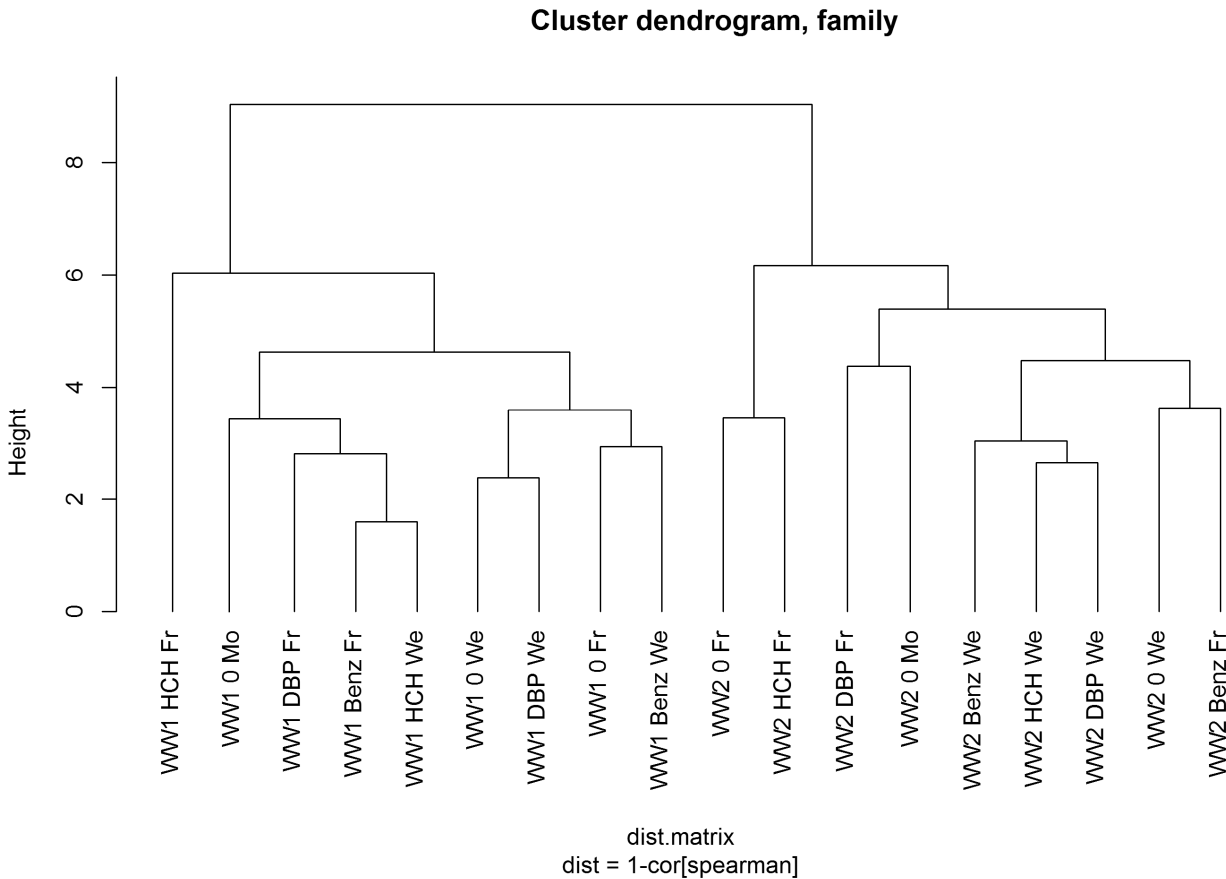


Рис. 4. Оценка различия структуры бактериоценозов на уровне семейств экспериментального АИ, отобранного в начале эксперимента (Мо — понедельник) и в течение 4 сут после этого (We — среда, Fr — пятница). Первое сооружение — WW1, второе сооружение — WW2. DBF — дибутилфталат, Benz — бенз[а]пирен, HCH — гексахлорциклогексан.

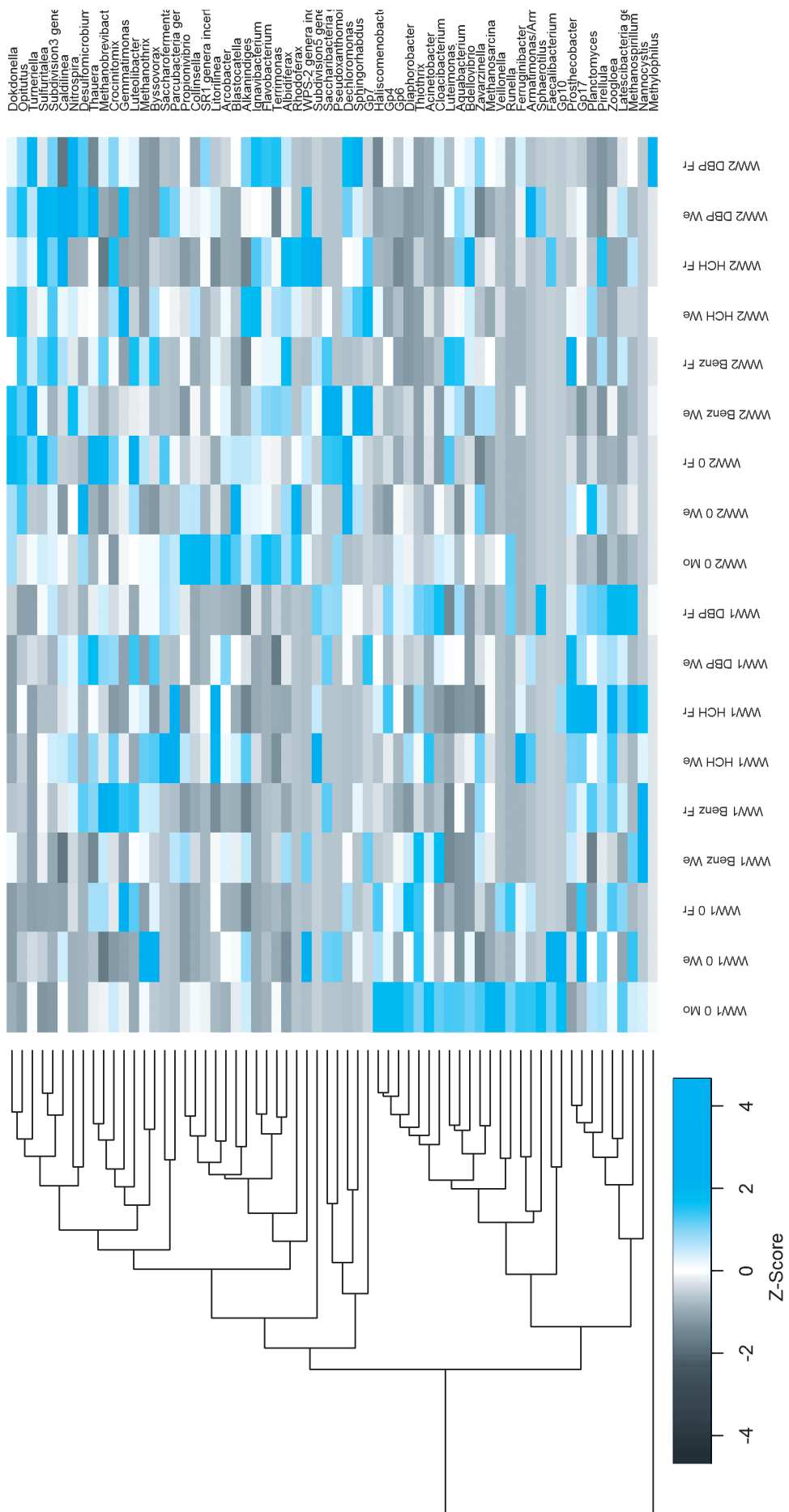
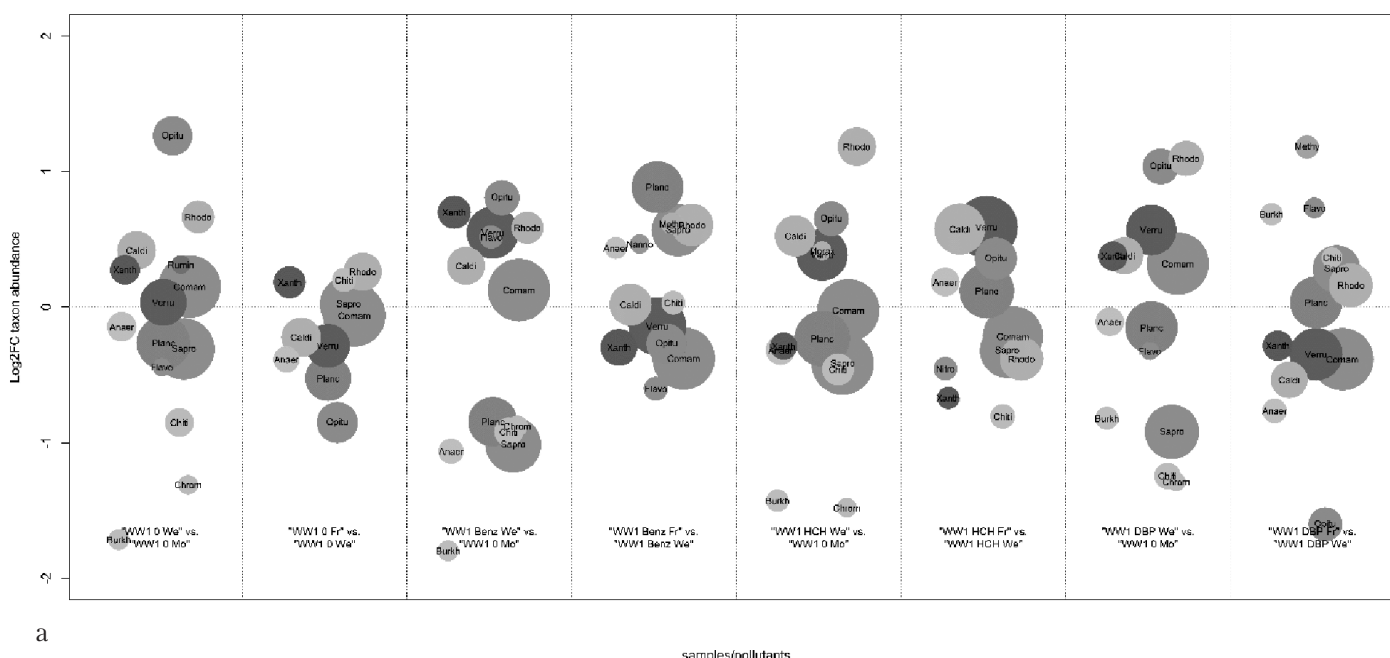


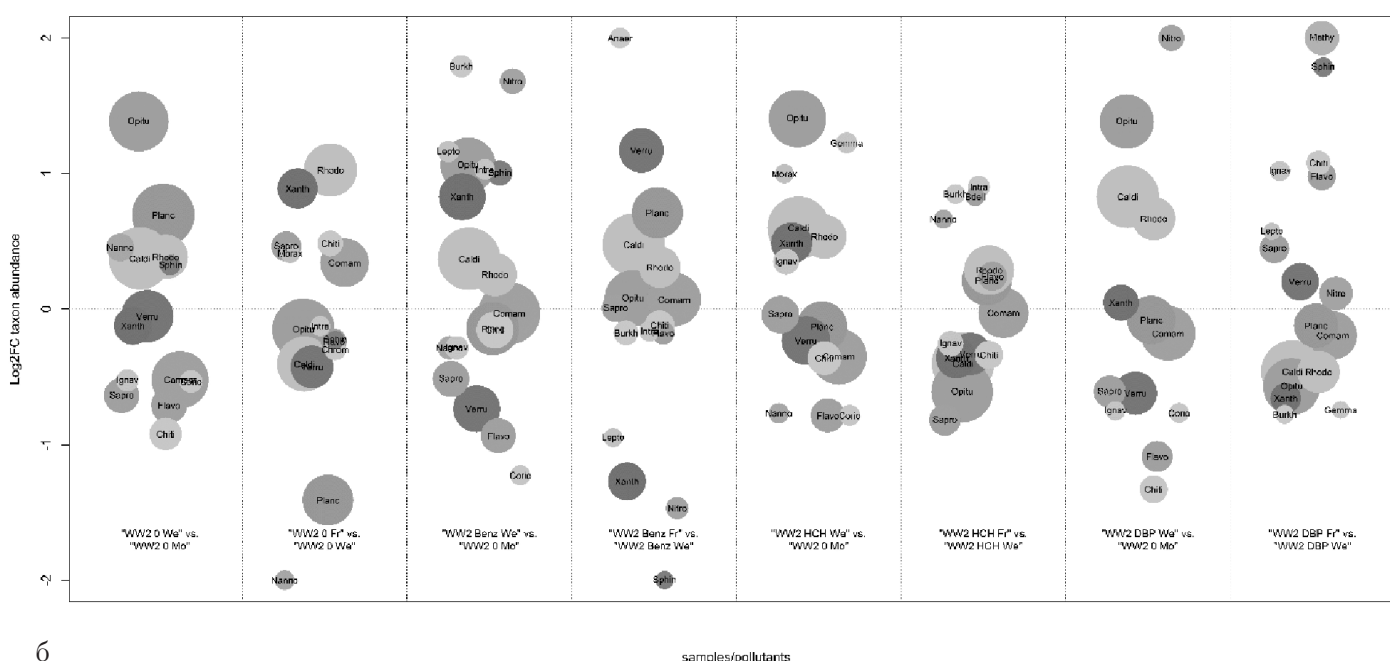
Рис. 5. Анализ таксономической структуры исследуемого АИ двух сооружений за три пробоотбора (понедельник – исходная структура – 0, среда – We, пятница – Fg). Дендрограмма, иллюстрирующая результаты иерархической кластеризации образцов (на уровне родов). Два основных кластера – две группы образцов, соответствующих АИ двух очистных сооружений. Цвет ячейки отражает оценочное содержание бактерий различных семейств в образцах (от синего к насыщенному желто-оранжевому – увеличение). DBF – дибутилфталат, Benz – бенз[а]пирен, HCH – гексахлорциклогексан.

WW1 bacterial family dynamics



a

WW2 bacterial family dynamics



б

Рис. 6. Трансформация структуры бактериальных сообществ двух сооружений во времени от исходного (Мо — понедельник) до среды (We) и до пятницы (Fr) для АИ первого очистного сооружения (а) и АИ второго очистного сооружения (б). Каждый круг соответствует одному бактериальному семейству. Вертикальное положение круга показывает оценочное изменение абсолютного содержания бактерий данного семейства в АИ во времени по сравнению с исходным: сокращение (ниже 0) или увеличение (выше 0). Площадь круга пропорциональна общему содержанию бактерий этого семейства в единице объема. DBF — дибутилфталат, Benz — бенз[а]пирен, HCH — гексахлорциклогексан.

Обозначения таксонов: *Anaer* — *Anaerolineaceae*; *Burkh* — *Burkholderiales incertae sedis*; *Caldi* — *Caldilineaceae*; *Chiti* — *Chitinophagaceae*; *Comam* — *Comamonadaceae*; *Corio* — *Coriobacteriaceae*; *Flavo* — *Flavobacteriaceae*; *Gemma* — *Gemmatimonadaceae*; *Ignav* — *Ignavibacteriaceae*; *Intra* — *Intrasporangiaceae*; *Lepto* — *Leptospiraceae*; *Metha* — *Methanobacteriaceae*; *Methy* — *Methylophilaceae*; *Morax* — *Moraxellaceae*; *Nanno* — *Nannocystaceae*; *Nitro* — *Nitrospiraceae*; *Nocar* — *Nocardioideaceae*; *Opitu* — *Opitutaceae*; *Planc* — *Planctomycetaceae*; *Rhodo* — *Rhodocyclaceae*; *Sapro* — *Saprospiraceae*; *Sphn* — *Sphingomonadaceae*; *Verru* — *Verrucomicrobiaceae*; *Xanth* — *Xanthomonadaceae*.

Таким образом, выявленные закономерности показывают, что увеличение численности того или иного рода бактерий происходило, в основном, по разным сценариям для двух разных АИ — для сооружения с «привычной нагрузкой по ксенобиотикам» (первое) и для сооружения, куда ксенобиотики такого типа попадают гораздо реже (второе). Общие же закономерности (например, снижение численности *Saprospiraceae*) были характерны как для опытов с внесением ксенобиотиков, так и для контрольных образцов без их внесения.

Заключение

В ходе модельного лабораторного эксперимента была апробирована и отработана процедура, позволяющая оценивать очищающую способность живого АИ из водоочистных сооружений. Данная процедура позволяет проводить сравнительный анализ проб АИ по интенсивности деградации в них органических ксенобиотиков, относящихся к разным классам химических соединений и различающихся по степени токсичности.

По результатам проведенных серий модельных опытов установлено, что очищающая способность илов различна по отношению к стойким органическим загрязнителям различных классов. Наибольшая скорость разложения наблюдалась для фталатов, наименьшая — для полиароматических соединений. Обнаружилась прямая зависимость между скоростью разрушения в АИ токсиканта определенного класса и уровнем начального загрязнения соединениями этого класса пробы ила. Этим обусловлена разница очищающей спо-

собности АИ очистных станций по отношению к разным загрязнителям. Полученный результат объясняется повышением устойчивости сапротрофного комплекса АИ к действию токсикантов в условиях высокого хронического загрязнения ими сточных вод и, как следствие, сокращением периода адаптации микробного ценоза при резком повышении концентрации загрязнителей в среде.

Таксономическая структура АИ, определенная методом секвенирования генов 16S рРНК, выявила увеличение содержания некоторых специфичных групп организмов при разложении одного какого-либо токсиканта. Выделены роды и семейства, которые значимо увеличивали свою численность при внесении ксенобиотиков в разных АИ — для илов с постоянной нагрузкой и высоким фоновым содержанием ксенобиотиков (первое сооружение) и для илов с низкой фоновой нагрузкой (второе сооружение).

Показано, что наибольшее структурное различие наблюдалось между илами двух разных очистных сооружений, что позволяет говорить об индивидуальности бактериальной структуры каждого из илов.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда в рамках проекта «Новые факторы загрязнения водных объектов и меры по снижению его негативного воздействия на качество вод» (соглашение №14-17-00672).

Авторы выражают благодарность Центру Коллективного Пользования при Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН (http://www.eimb.ru/RUSSIAN_NEW/INSTITUTE/csu_genome_c.php).

Литература

1. Баренбойм Г.М. Берегись ксенобиотиков / Г.М. Баренбойм, М.А. Чиганова, А.В. Аксенов // Методы оценки соответствия. 2011 №7. С. 28-33.
2. Данилов-Данильян В.И. Оценка биологической опасности органических ксенобиотиков в источниках водоснабжения / В.И. Данилов-Данильян, В.В. Пороиков, М.А. Чиганова, М.Н. Козлов, Д.А. Филимонов, Г.М. Баренбойм // Водоснабжение и санитарная техника. 2013. №10. С. 17-25.
3. Баренбойм Г.М. Загрязнение природных вод лекарствами / Г.М. Баренбойм, М.А. Чиганова. Наука, 2015. 283 с.
4. Ricco G. Toxicity assessment of common xenobiotic compounds on municipal activated sludge: comparison between respirometry and Microtox / G. Ricco, M.C. Tomei, R. Ramadori, G. Laera // Water Resources. 2004. V. 38 (8). P. 2103-2110.
5. Андреева И.С. Изучение способности микробных сообществ озерных экосистем к деградации компонентов нефтепродуктов / И.С. Андреева, Е.К. Емельянова, В.Е. Репин, С.Н. Загребельный // Тезисы доклада Международного симпозиума «Микроорганизмы в экосистемах озер, рек и водохранилищ». Иркутск: Изд-во Института географии СО РАН. 2003. С. 5.

References

1. Barenboim G.M., Chiganova M.A., Aksenov A.V. Beregis' ksenobiotikov [Be aware of xenobiotics]. *Metody otsenki sootvetstviia — Methods of conformity assessment*, 2011, no. 7, pp. 28-33.
2. Danilov-Danil'ian V.I., Poroikov V.V., Chiganova M.A., Kozlov M.N., Filimonov D.A., Barenboim G.M. Otsenka biologicheskoi opasnosti organicheskikh ksenobiotikov v istochnikakh vodosnabzheniia [Evaluation of biological hazard of organic xenobiotics in sources of water supply]. *Vodosnabzhenie i sanitarnaia tekhnika — Water supply and sanitary technics*, 2013, no. 10, pp. 17-25.
3. Barenboim G.M., Chiganova M.A. *Zagrizazhenie prirodnykh vod lekarstvami* [Contamination of natural waters by drugs]. Nauka Publ., 2015, 283 p.
4. Ricco G., Tomei M.C., Ramadori R., Laera G. Toxicity assessment of common xenobiotic compounds on municipal activated sludge: comparison between respirometry and Microtox. *Water Resources*, 2004, vol. 38 (8), pp. 2103-2110.
5. Andreeva I.S., Emel'ianova E.K., Repin V.E., Zagrebel'nyi S.N. Izuchenie sposobnosti mikrobnnykh soobshchestv ozernykh ekosistem k degradatsii komponentov nefteproduktov [The study of the ability of microbial communities of lake ecosystems to degradate oil components]. *Tezisy*

6. Кутлиев Дж. Фенолразрушающие бактерии, как показатель естественного самоочищения водоемов от загрязнителя / Дж. Кутлиев, М.И. Мавлянова, А.М. Мавжудова // Тезисы доклада Международного симпозиума «Микроорганизмы в экосистемах озер, рек и водохранилищ». Иркутск: Изд-во Института географии СО РАН. 2003. С. 73.
7. Плотникова Е.Г. Бактерии-деструкторы полициклических ароматических углеводородов и хлорированных бифенилов, выделенные из донных отложений, загрязненных отходами химических производств / Е.Г. Плотникова, О.В. Алтынцева, Д.О. Рыбкина // Тезисы доклада Международного симпозиума «Микроорганизмы в экосистемах озер, рек и водохранилищ». Иркутск: Изд-во Института географии СО РАН. 2003. С. 125.
8. Пулатова О.М. Очистка сточных вод горно-металлургических предприятий / О.М. Пулатова, С.И. Куканова, Л.И. Зайнитдинова, Д.К. Кутлиев // Тезисы доклада Международного симпозиума «Микроорганизмы в экосистемах озер, рек и водохранилищ». Иркутск: Изд-во Института географии СО РАН. 2003. С. 135.
9. Mulugeta K. Characterization of a phenol degrading mixed population by enzyme assay / K. Mulugeta, S. Walter, R. Karl-Heinz // *Water Resources*. 2000. V. 34 (4). P. 1127-1134.
10. Shchegolkova N. Microbial community structure of activated sludge in treatment plants with different wastewater compositions / N. Shchegolkova, G. Krasnov, A. Belova, A. Dmitriev, S. Kharitonov, K. Klimina, N. Melnikova, A. Kudryavtseva // *Frontiers in Microbiology*. 2016. V. 7 (90). doi: 10.3389/fmicb.2016.00090.
11. Щеголькова Н. Новые методы молекулярно-биологической диагностики биоценоза очистных сооружений и перспективы экомониторинга / Н. Щеголькова, Г. Краснов, А. Кудрявцева // *Вода Magazine*. 2016. №7 (107). С. 22-27.
12. Yatsunenko T. Human gut microbiome viewed across age and geography / T. Yatsunenko, F.E. Rey, M.J. Manary, I. Trehan // *Nature*. 2012. №14. P. 222-227.
13. Matsuda M. Comparative analysis of DNA-based microbial community composition and substrate utilisation patterns of activated sludge microorganisms from wastewater treatment plants operated under different conditions. / M. Matsuda, D. Inoue, Y. Anami, H. Tsutsui, K. Sei, S. Soda, M. Ike // *Water Science & Technology*. 2010. V. 61 (11). P. 2843-2851.
14. Ye L. Pathogenic bacteria in sewage treatment plants as revealed by 454 pyrosequencing / L. Ye, T. Zhang // *Environmental Science & Technology*. 2011. V. 45 (17). P. 7173-7179.
15. Plósz B.G. An activated sludge modeling framework for xenobiotic trace chemicals (ASM-X): assessment of diclofenac and carbamazepine. / B.G. Plósz, K.H. Langford, K.V. Thomas // *Biotechnology and Bioengineering*. 2012. V. 109 (11). P. 2757-69.
16. Nyuk-Min Chong. Modeling the acclimation of activated sludge to a xenobiotic / *Bioresource Technology*. 2009. V. 100, Iss.23. P. 5750-5756.
17. Chong N.M. Activated sludge treatment of a xenobiotic with or without a biogenic substrate during start-up and shocks / N.M. Chong, Y.S. Chen // *Bioresource Technology*. 2007. V. 98 (18). P. 3611-3616.
6. Kutliev Dzh., Mavlianova M.I., Mavzhudova A.M. Fenolrazrushaiushchie bakterii, kak pokazatel' estestvennogo samoochishcheniia vodoemov ot zagriaznitelia [Phenol destructing bacteria, as an indicator of the natural self-purification of water bodies from pollutants]. *Tezisy doklada Mezhdunarodnogo simpoziuma «Mikroorganizmy v ekosistemakh ozer, rek i vodokhranilishch» — Abstract of the report of International Symposium on «Microorganisms in lake ecosystems, rivers and reservoirs»*. Irkutsk, Institute of geography of Siberian Branch of RAS, 2003, 5 p.
6. Kutliev Dzh., Mavlianova M.I., Mavzhudova A.M. Fenolrazrushaiushchie bakterii, kak pokazatel' estestvennogo samoochishcheniia vodoemov ot zagriaznitelia [Phenol destructing bacteria, as an indicator of the natural self-purification of water bodies from pollutants]. *Tezisy doklada Mezhdunarodnogo simpoziuma «Mikroorganizmy v ekosistemakh ozer, rek i vodokhranilishch» — Abstract of the report of International Symposium on «Microorganisms in lake ecosystems, rivers and reservoirs»*. Irkutsk, Institute of geography of Siberian Branch of RAS, 2003, 73 p.
7. Plotnikova E.G., Altyntseva O.V., Rybkina D.O. Bakterii-destruktory politsiklicheskikh aromaticeskikh uglevodorodov i khlorirovannykh bifenilov, vydelennye iz donnykh otlozhenii, zagriaznennykh otkhodami khimicheskikh proizvodstv [Bacteria-destructors of polycyclic aromatic hydrocarbons and chlorinated biphenyls, isolated from sediments contaminated with chemical production waste]. *Tezisy doklada Mezhdunarodnogo simpoziuma «Mikroorganizmy v ekosistemakh ozer, rek i vodokhranilishch» — Abstract of the report of International Symposium on «Microorganisms in lake ecosystems, rivers and reservoirs»*. Irkutsk, Institute of geography of Siberian Branch of RAS, 2003, 125 p.
8. Pulatova O.M., Kukanova S.I., Zainitdinova L.I., Kutliev D.K. Ochistka stochnykh vod gorno-metallurgicheskikh predpriatii [Treatment of wastewater of mining and metallurgical enterprises]. *Tezisy doklada Mezhdunarodnogo simpoziuma «Mikroorganizmy v ekosistemakh ozer, rek i vodokhranilishch» — Abstract of the report of International Symposium on «Microorganisms in lake ecosystems, rivers and reservoirs»*. Irkutsk, Institute of geography of Siberian Branch of RAS, 2003, 135 p.
9. Mulugeta K., Walter S., Karl-Heinz R. Characterization of a phenol degrading mixed population by enzyme assay. *Water Resources*, 2000, vol. 34 (4), pp. 1127-1134.
10. Shchegolkova N., Krasnov G., Belova A., Dmitriev A., Kharitonov S., Klimina K., Melnikova N., Kudryavtseva A. Microbial community structure of activated sludge in treatment plants with different wastewater compositions. *Frontiers in Microbiology*, 2016, vol. 7 (90). DOI: 10.3389/fmicb.2016.00090.
11. Shchegol'kova N., Krasnov G., Kudryavtseva A. Novye metody molekuliarno-biologicheskoi diagnostiki biotenoza ochistnykh sooruzhenii i perspektivy ekomonitoringa [Modern methods of molecular biological diagnostics of biocenosis of sewage treatment plants and the prospects for environmental monitoring]. *Voda Magazine — Water Magazine*, 2016, no. 7 (107), pp. 22-27.
12. Yatsunenko T., Rey F.E., Manary M.J., Trehan I. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, 2012, no. 14, pp. 222-227.
13. Matsuda M., Inoue D., Anami Y., Tsutsui H., Sei K., Soda S., Ike M. Comparative analysis of DNA-based microbial community composition and substrate utilisation patterns of activated sludge microorganisms from wastewater treatment plants operated under different conditions. *Water Science & Technology*, 2010, vol. 61 (11), pp. 2843-2851.

18. Dionisi D. Removal of organic xenobiotics in activated sludges under aerobic conditions and anaerobic digestion of the adsorbed species / D. Dionisi, L. Bertin, L. Bornoroni, S. Capodicasa, M.P. Papini, F. Fava // *Journal of Chemical Technology and Biotechnology. Special Issue: Bioremediation*. 2006. V 81 (9). P. 1496-1505.
19. Xenobiotics in the Urban Water Cycle. Mass flows, environmental processes, mitigation and treatment strategies / Ed. Fatta-Kassinos D., Bester K., Kemmerer K. 2010. Library of Congress Control Number: 2009942784. ISBN 978-90-481-3508-0. e-ISBN 978-90-481-3509-7. DOI 10.1007/978-90-481-3509-7. © Springer Science+Business Media B.V. 505 p.
20. Nguyen L.H. Conditions for supplemental biogenic substrates to enhance activated sludge degradation of xenobiotic / L.H. Nguyen, N.M. Chong // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2015. V. 99 (19). P. 8247-8257.
21. Батян А. Основы общей и экологической токсикологии. / А. Батян, Г. Фрумин, В. Базылев. СПб.: СпецЛит, 2009. 352 с.
22. Липштейн Р.А. Трансформаторное масло. Издание второе, переработанное и дополненное. / Р.А. Липштейн, М.И. Шахнович. М.: Энергия, 1968. 351 с.
23. Hedlund B.P. Phylogeny of Prosthecobacter, the Fusiform Caulobacters: Members of a Recently Discovered Division of the Bacteria / B.P. Hedlund, J.J. Gosink, J.T. Staley // *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1996. V. 46 (4). P. 960-966.
24. Cardman Z. Verrucomicrobia Are Candidates for Polysaccharide-Degrading Bacterioplankton in an Arctic Fjord of Svalbard / Z. Cardman, C. Arnosti, A. Durbin, K. Ziervogel, C. Cox, A.D. Steen, A. Teske // *Applied and Environmental Microbiology*. 2014. V. 80 (12). P. 3749–3756.
25. Kielak A.M. The Ecology of Acidobacteria: Moving beyond Genes and Genomes / A.M. Kielak, C.C Barreto, G.A. Kowalchuk, J.A. van Veen, E.E. Kuramae // *Frontiers in Microbiology*. 2016. V. 7 (744). DOI: 10.3389/fmicb.2016.00744.
14. Ye L., Zhang T. Pathogenic bacteria in sewage treatment plants as revealed by 454 pyrosequencing. *Environmental Science & Technology*, 2011, vol. 45 (17), pp. 7173-7179.
15. Plósz B.G., Langford K.H., Thomas K.V. An activated sludge modeling framework for xenobiotic trace chemicals (ASM-X): assessment of diclofenac and carbamazepine. *Biotechnology and Bioengineering*, 2012, vol. 109 (11), pp. 2757-69.
16. Nyuk-Min Chong. Modeling the acclimation of activated sludge to a xenobiotic. *Bioresource Technology*, 2009, vol. 100, iss. 23, pp. 5750-5756.
17. Chong N.M., Chen Y.S. Activated sludge treatment of a xenobiotic with or without a biogenic substrate during start-up and shocks. *Bioresource Technology*, 2007, vol. 98 (18), pp. 3611-3616.
18. Dionisi D., Bertin L., Bornoroni L., Capodicasa S., Papini M.P., Fava F. Removal of organic xenobiotics in activated sludges under aerobic conditions and anaerobic digestion of the adsorbed species. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology. Special Issue: Bioremediation*, 2006, vol. 81 (9), pp. 1496-1505.
19. Fatta-Kassinos D. (ed.), Bester K., Kemmerer K. Xenobiotics in the Urban Water Cycle. Mass flows, environmental processes, mitigation and treatment strategies. 2010. Library of Congress Control Number: 2009942784. ISBN 978-90-481-3508-0. e-ISBN 978-90-481-3509-7. DOI 10.1007/978-90-481-3509-7. © Springer Science+Business Media B.V. 505 p.
20. Nguyen L.H., Chong N.M. Conditions for supplemental biogenic substrates to enhance activated sludge degradation of xenobiotic. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, vol. 99 (19), pp. 8247-8257.
21. Batian A., Frumin G., Bazylev V. *Osnovy obshchei i ekologicheskoi toksikologii* [Fundamentals of general and environmental toxicology]. St. Petersburg, SpetsLit Publ., 2009, 352 p.
22. Lipshtein R.A., Shakhnovich M.I. *Transformatornoe maslo. Izdanie vtoroe, pererabotannoe i dopolnennoe* [Transformer oil. Second edition, revised and enlarged]. Moscow, Energiia Publ., 1968, 351 p.
23. Hedlund B.P., Gosink J.J., Staley J.T. Phylogeny of Prosthecobacter, the Fusiform Caulobacters: Members of a Recently Discovered Division of the Bacteria. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1996, vol. 46 (4), pp. 960-966.
24. Cardman Z., Arnosti C., Durbin A., Ziervogel K., Cox C., Steen A.D., Teske A. Verrucomicrobia Are Candidates for Polysaccharide-Degrading Bacterioplankton in an Arctic Fjord of Svalbard. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, vol. 80 (12), pp. 3749–3756.
25. Kielak A.M., Barreto C.C, Kowalchuk G.A., van Veen J.A., Kuramae E.E. The Ecology of Acidobacteria: Moving beyond Genes and Genomes. *Frontiers in Microbiology*, 2016, vol. 7 (744). DOI: 10.3389/fmicb.2016.00744.