

БИОАУГМЕНТАЦИЯ АКРИЛАМИД-ДЕГРАДИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ В МИКРОБИОТЕ РЕЧНОГО ИЛА

Максимова Ю. Г., Овечкина Г. В., Максимов А. Ю.

BIOAUGMENTATION OF ACRYLAMIDE-DEGRADING BACTERIA IN THE MICROBIOTA OF RIVER SLUDGE

Maksimova Yu. G., Ovechkina G. V., Maksimov A. Yu.

Аннотация

Введение. Биоаугментация — подход биоремедиации *in situ*, который заключается в интродукции популяции микроорганизмов с определенными биодеградационными способностями. Акриламид — токсичное вещество, которое может подвергаться биодеградации. Цель работы: оценка выживания аллохтонных бактериальных культур *Alcaligenes faecalis* 2 и *Acinetobacter guillouiae* 11h при внесении в речные илы и эффективности разложения акриламида илами с интродуцированными амидазосодержащими бактериями. **Методы.** Микробиота ила малых рек Пермского края была инокулирована биомассой штаммов *A. faecalis* 2 и *A. guillouiae* 11h, обладающих амидазной активностью, и в условиях лабораторного эксперимента изучено выживание этих бактерий, а также биодеградационная способность микробиоты по отношению к акриlamиду после 3 и 6 месяцев инкубации при 5 и 25 °С. Трансформация акриламида оценена методом ВЭЖХ, биоразнообразие речного ила — методом метагеномного секвенирования генов 16S рРНК. **Результаты.** Инкубация илов при 25 °С в течение 3–6 месяцев приводит к ухудшению биодеградационных возможностей микробиоты по отношению к акриlamиду, и трансформация этого загрязняющего вещества происходит только при аугментации биомассы амидазосодержащих бактерий, причем ацинетобактерии имеют преимущество перед бактериями рода *Alcaligenes*. После инкубации илов при 25 °С филогенетическое разнообразие увеличивается и возрастает доля представителей филумов *Actinobacteria*, *Chloroflexi*, *Ignavibacteriae*, *Candidatus Saccharibacteria*, *Acidobacteria*, при этом подавляющая часть бактериальной биоты во всех образцах относится к филуму *Proteobacteria*, а 10–30 % приходится на долю филума *Firmicutes*. Подтверждено присутствие представителей родов *Alcaligenes* и *Acinetobacter* в микробиоте биоаугментированных илов после 6 месяцев инкубации при 25 °С. После инкубации при 5 °С микробиота нативных илов способна разлагать акриламид, но со скоростью в несколько раз меньшей, чем при биоаугментации. После инкубации ила р. Данилихи с внесенной биомассой штаммов *A. guillouiae* 11h и *A. faecalis* 2 при 5 °С в течение 6 месяцев полная трансформация акриламида наблюдалась к 4 и 20 сут. соответственно, нативным илом — к 35 сут.

Ключевые слова: речной ил, микробиота, биоаугментация, акриламид, амидаза, биодеградация, метагеномика.

Abstract

Introduction. Bioaugmentation is an *in situ* bioremediation approach, which implies the introduction of a population of microorganisms with certain biodegrading abilities. Acrylamide is a biodegradable toxic substance. Our goal was to assess the survival of allochthonous bacterial cultures *Alcaligenes faecalis* 2 and *Acinetobacter guillouiae* 11h when introduced into river sludge and the efficiency of acrylamide decomposition by sludge with introduced amidase-containing bacteria. **Methods.** The microbiota of sludge from small rivers of Perm Territory was inoculated with the biomass of strains *A. faecalis* 2 and *A. guillouiae* 11h, which have amidase activity. In a laboratory experiment, we studied the survival of these bacteria as well as the biodegrading ability of the microbiota in relation to acrylamide after 3 and 6 months of incubation at 5 and 25°C. The transformation of acrylamide was assessed by HPLC, the biodiversity of river sludge was assessed by the method of metagenomic sequencing of 16S rRNA genes. **Results.** Incubation of sludge at 25°C for 3–6 months deteriorates the biodegrading abilities of the microbiota in relation to acrylamide, and the transformation of this pollutant occurs only during the augmentation of the biomass of amidase-containing bacteria, with acinetobacteria having an advantage over bacteria of *Alcaligenes* sp. Upon incubation of sludge at 25°C, the phylogenetic diversity increases, and the proportion of representatives of the phyla *Actinobacteria*, *Chloroflexi*, *Ignavibacteriae*, *Candidatus Saccharibacteria*, *Acidobacteria* increases as well, while the phylum *Proteobacteria* accounts for most of the bacterial biota in all samples, and the phylum *Firmicutes* accounts for 10–30%. The presence of representatives of *Alcaligenes* sp. and *Acinetobacter* sp. was confirmed in the microbiota of bioaugmented sludge after 6 months of incubation at 25°C. When incubated at 5°C, the microbiota of native sludge is capable of degrading acrylamide, but at a rate several times lower than during bioaugmentation. After incubation of Danilikh River sludge with the introduced biomass of strains *A. guillouiae* 11h and *A. faecalis* 2 at 5°C for 6 months, the complete transformation of acrylamide was observed in 4 and 20 days, respectively, with native sludge — in 35 days.

Keywords: river sludge, microbiota, bioaugmentation, acrylamide, amidase, biodegradation, metagenomics.

Введение

Биодеградация является экологически безопасным, эффективным и экономически выгодным подходом к ремедиации окружающей среды. Долговременный эффект биоремедиации зависит главным образом от сообщества микроорганизмов, поэтому его разнообразие и преобладание в нем определенных таксономических групп рассматривается как один из индикаторов качества воды [20]. Мероприятия по биоремедиации окружающей среды, в том числе загрязненных вод, подразделяются на биостимулирование и биоаугментацию. Биостимулирование заключается в добавлении питательных веществ для активизации роста природных микроорганизмов, разлагающих поллютанты. Биоремедиационная стратегия *in situ* — биоаугментация — усиливает биодеградационные способности загрязненных биотопов путем интродукции отдельных штаммов или консорциумов микроорганизмов с определенными каталитическими способностями [13].

Для очистки вод городских рек, содержащих избыточные концентрации органических веществ, предложен комбинированный процесс из биостимуляции и биоаугментации, который позволяет достигнуть баланса в снижении ХПК и потреблении соединений азота [20]. При этом наиболее предпочтительной технологией биоремедиации загрязненной речной воды является биоаугментация, которая заключается в интродукции микроорганизмов с определенными каталитическими способностями в загрязненную речную воду для ускорения процесса деградации [16]. При внесении биомассы чужеродных микроорганизмов в природные среды большой проблемой является ее приживаемость в микробиоме. Введенные штаммы или консорциумы могут не выдерживать конкуренции с автохтонной микробиотой, терять активность или быть неспособными к росту из-за недостаточной адаптации к условиям окружающей среды [7]. Причиной гибели интродуцированных микроорганизмов могут быть биотический и абиотический стрессы, которые обусловлены нехваткой питательных субстратов, изменениями pH и температуры, антагонизмом между внесенной и аборигенной микробиотой, инфицированием бактериофагами, избыточной нагрузкой токсичных веществ на клетки микроорганизмов, выеданием простей-

шими, а также факторами, связанными с системой кворум-сенсинга [14].

Успешность применения биоаугментации зависит от последующего выживания и активности в целевом биотопе штаммов микроорганизмов с требуемой каталитической активностью [17]. Эффективность биоаугментации сложно оценить традиционными методами культивирования, которые в данном случае теряют свою специфичность и чувствительность: во-первых, нет возможности отличить внесенный инокулюм от нативной микробиоты, во-вторых, внесенные штаммы после нахождения во внешней среде испытывают стресс и могут терять способность к культивированию на агаре [8]. Для контроля над внесенными штаммами могут быть использованы методы, основанные на внедрении генов-биомаркеров в клетки интродуцированных микроорганизмов, метод генных зондов, ПЦР-амплификации для обнаружения катаболитных генов, количественной ПЦР, мечения зеленым флуоресцентным белком в сочетании с флуоресцентной микроскопией, а также другие молекулярно-генетические методы [6, 8].

Биоаугментация может применяться для улучшения деградации фенола, пиридина, хинолина, карбазола, нафталина в сточных водах коксохимических предприятий [22], скатола в стоках животноводческих и птицеводческих предприятий [10], гербицида атразина в сконструированных водно-болотных микрокосмах [21] и многих других токсичных соединений в водных средах, а также для повышения эффективности нитрификации в традиционном процессе очистки сточных вод [1, 3, 4].

Акриламид — токсичное вещество, обладающее мутагенным и тератогенным действием в отношении человека и животных, производится в больших объемах и используется для синтеза полимеров и сополимеров различного назначения. Загрязнение акриламидом достигает 1 г/л в стоках предприятий по производству акриловых полимеров [9]. Биодеградация акриламида может осуществляться ферментом амидазой (ациламидамидогидролазы, КФ 3.5.1.4) микроорганизмов до акриловой кислоты, а акриловая кислота, в свою очередь — использоваться в метаболических путях и полностью минерализоваться до простых соединений [5, 18]. Нами ранее изуче-

на деградация акриламида и акриловой кислоты штаммом *Al. faecalis* 2 [12], а также температурная зависимость биодеградации акриламида при инокуляции речных илов амидазосодержащими штаммами *Al. faecalis* 2 и *Ac. guillouiae* 11h [11].

Целью данной работы является оценка выживания аллохтонных бактериальных культур *Al. faecalis* 2 и *Ac. guillouiae* 11h, обладающих способностью к биодеградации акриламида, при внесении в речные илы и изучение эффективности деградации акриламида речными илами: нативными и с интродуцированными бактериями амидазосодержащих штаммов. В данной работе нами изучена эффективность биодеградации акриламида микробиотой речных илов, инокулированных биомассой бактерий с амидазной активностью, после их инкубации в течение 3 и 6 месяцев при температуре 5 и 25 °С.

Методы и материалы

Образцы илов малых рек Данилихи (Пермский край, г. Пермь, 58,001° с. ш.; 56,126° в. д.) и левого притока реки Сюзьва (Пермский край, Нытвенский район, 58,079° с. ш.; 55,329° в. д.) были инокулированы биомассой штаммов протеобактерий *A. faecalis* 2 и *A. guillouiae* 11h в соотношении 100 мг и 14,3 мг клеток соответственно (в пересчете на сухой вес). Масса навески сырого ила составляла 5 г, что соответствовало 3,43 г сухого ила р. Данилихи и 1,74 г сухого ила притока р. Сюзьва. Штаммы протеобактерий, внесенные как инокулянт, были изолированы из активного ила коммунальных биологических очистных сооружений г. Перми (ООО «Новогор-Прикамье»), идентифицированы методом секвенирования гена 16S рНК и селекционированы путем направленного отбора в направлении увеличения амидазной активности. Штаммы поддерживаются в лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН — филиала Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН.

Готовили суспензию илов в 30 мл калий-фосфатного буфера (рН 7,2±0,2), вносили по 1 мл суспензии *A. faecalis* 2 и *A. guillouiae* 11h и инкубировали при 5 и 25 °С в течение 3 и 6 месяцев. В качестве контроля использовали суспензию илов без инокуляции бактериальными штаммами. После этого периода вносили раствор акри-

ламида до конечной концентрации 100 мМ и инкубировали при 30 °С с периодическим перемешиванием. Отбирали пробы по 0,5 мл ежедневно до 14 суток, затем еженедельно до 49–63 суток. Биодеградацию акриламида останавливали добавлением 25 мкл концентрированной HCl, пробы центрифугировали при 14500 g, надосадочную жидкость отбирали, замораживали при минус 18 °С. Концентрацию акриламида и акриловой кислоты в среде определяли методом ВЭЖХ (LC-10, “Shimadzu”, Япония) на колонке (250×4,6 мм) Synergi 4u Hydro–RP 80A, используя 25 мМ NaH₂PO₄ и 5 % ацетонитрила в качестве подвижной фазы; скорость потока составляла 0,500 мл/мин при 25 °С.

Препараты хромосомной ДНК бактерий получали фенольным методом, модифицированным для выделения ДНК из актиномицетов. Секвенирование проводили на приборе Applied Biosystem 3500XL. Полученные последовательности сравнивали с хранящимися в мировой базе данными сервера EzBioCloud (<https://www.ezbiocloud.net/>) [19]. Метагеномный анализ исследуемых образцов по генам 16S рНК проводили на платформе MiSeq (Illumina). Приготовление библиотеки для секвенирования проводили в соответствии с инструкциями и протоколами для секвенаторов MiSeq (Illumina 50 Rxn / Набор КАРА).

Критерием выживания стало обнаружение бактерий данного рода в биоаугментированных илах методом метагеномного секвенирования в сравнении с природными илами, а критерием эффективности — время, за которое происходит полная или частичная деградация внесенного акриламида и доля трансформированного акриламида в процентах, вычисленная от его внесенного количества.

Результаты исследования и обсуждение

Биохимический анализ биотрансформации акриламида микробиотой речных илов

Изучена биодеградация акриламида илами с внесенными амидосодержащими бактериями после трех и шести месяцев предварительной инкубации при 5 и 25 °С. Показано, что при выдерживании образцов в течение 3 мес. при 5 °С акриламид полностью трансформируется за 4 и 7 сут илом притока р. Сюзьва и р. Данилиха с внесенной биомассой *Al. faecalis* 2 в концентрации 20 мг/г, за 7–8 сут — илами с *Ac. guillouiae*

11h в концентрации 3 мг/г (рис. 1). Без внесенных бактерий с амидазной активностью микробиота ила притока р. Сюзьва и р. Данилиха полностью разлагает акриламид за 42 и 28 суток соответственно. Разница во времени деградации илами связана с тем, что р. Данилиха оценивается как экстремально загрязненная: в ее водах обнаружено устойчивое превышение ПДК по меди и марганцу. Вода в среднем и нижнем течении имеет V класс качества по аммонии, общему железу и содержанию кислорода [2]. Микробиота р. Данилихи адаптирована к высоким концентрациям загрязняющих веществ, что предполагает естественную селекцию микроорганизмов в отношении биодegradации органических поллютантов. В то же время при инкубации в течение 3 мес. при 25 °С в отсутствие интродуцированных бактерий амидазосодержащих штаммов не происходила деградация акриламида ни микробиотой ила р. Данилихи, ни таковой притока р. Сюзьва (рис. 2). Деградация акриламида при внесении биомассы *A. guillouiae* 11h в обоих образцах илов протекала гораздо интенсивнее, что говорит о хорошей выживаемости этого штамма. Значительное снижение концентрации акриламида происходило лишь к 50 суткам. Увеличение продолжительности времени инкубации при 5 °С до 6 мес. не привело к ингибированию биодegradации интродуцированными штаммами, и полная транс-

формация акриламида наблюдалась к 4 и 20 сут при внесении в ил р. Данилихи биомассы штамма *A. guillouiae* 11h и *A. faecalis* 2 соответственно (рис. 3). При этом микробиота ила утилизировала и акриловую кислоту, образующуюся при трансформации акриламида.

Однако при увеличении продолжительности инкубации ила при 25 °С до 6 мес. интродуцированный штамм *A. faecalis* 2 оказался неспособен к трансформации акриламида, концентрация которого к 60 суткам лишь незначительно снижалась (рис. 4). Возможно, после длительной инкубации снижается эффективность разложения акриламида в результате конкуренции при размножении представителей нативной микробиоты. Биомассе штамма *A. guillouiae* 11h потребовалось 50 суток для полной деградации внесенного акриламида. Полученные данные позволяют сделать вывод, что биомасса амидазосодержащих ацинетобактерий оказывается наиболее предпочтительной для усиления биодegradационного потенциала речного ила по отношению к акриламиду, особенно при 25 °С. При температуре, близкой к оптимальной для жизнедеятельности большинства микроорганизмов, вероятно, происходит усиление активности простейших, поедающих бактериальную биоту, а также размножаются конкурирующие за источники питания микроорганизмы, что сказывается на эффективности деградации

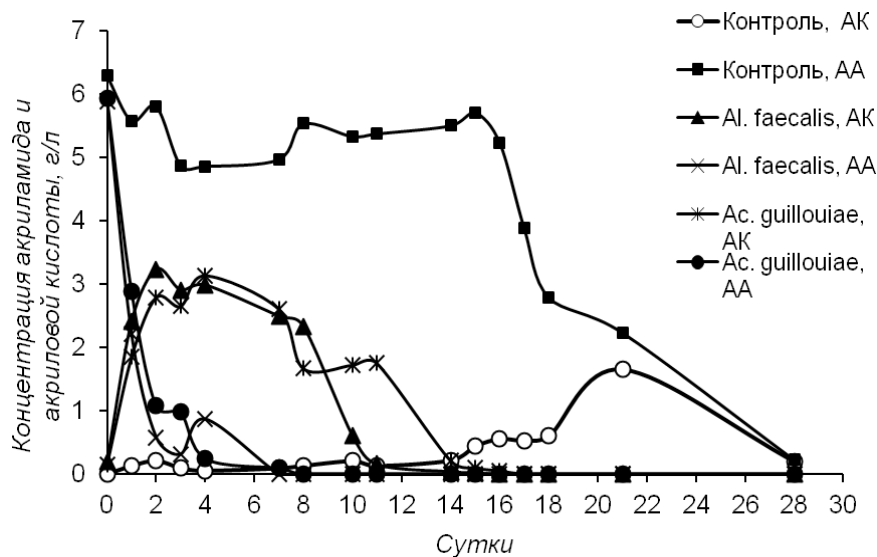


Рис. 1. Трансформация акриламида илом р. Данилихи после инкубации при 5 °С в течение 3 мес.: АА — акриламид; АК — акриловая кислота; контроль — суспензия ила без добавления амидазосодержащих бактерий

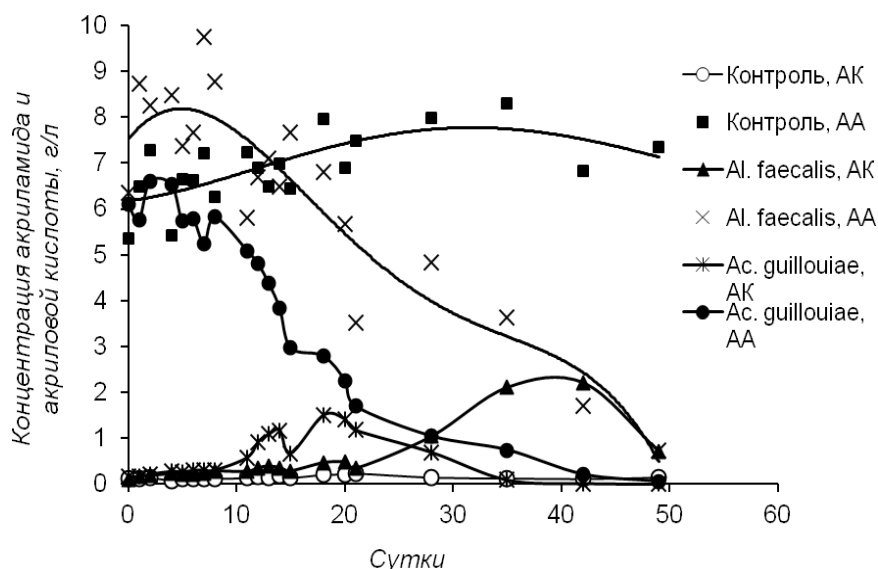


Рис. 2. Трансформация акриламида илом р. Данилихи после инкубации при 25 °С в течение 3 мес.: AA — акриламид; АК — акриловая кислота; контроль — суспензия ила без добавления амидазосодержащих бактерий

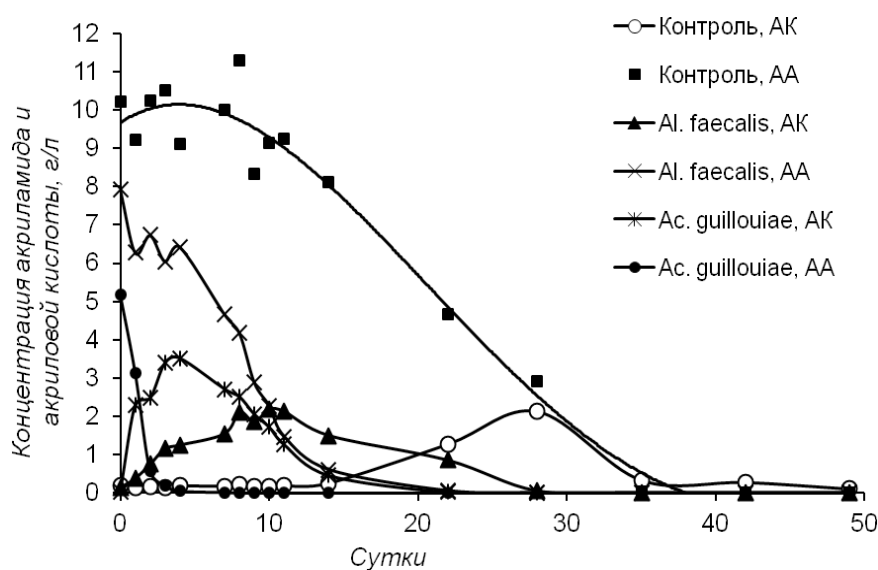


Рис. 3. Трансформация акриламида илом р. Данилихи после инкубации при 5 °С в течение 6 мес.: AA — акриламид; АК — акриловая кислота; контроль — суспензия ила без добавления амидазосодержащих бактерий

поллютанта. Ацинетобактерии являются распространенными обитателями водной среды, с чем, вероятно, связана их хорошая приживаемость в природном биотопе, особенно при низких температурах. Следовательно, стратегия биоаугментации амидазосодержащих штаммов в илах может быть применена в умеренной климатической зоне с преобладанием среднегодовых температур

ниже 25 °С, причем предпочтительнее вносить бактерии, естественные для водной среды.

Метагеномный анализ микробного разнообразия речных илов

Методом метагеномного секвенирования было изучено микробное разнообразие при интродукции биомассы штаммов в образцы ила р. Данилихи и притока р. Сюзьва (рис. 5). При инкубации образцов при 25 °С филогенетическое

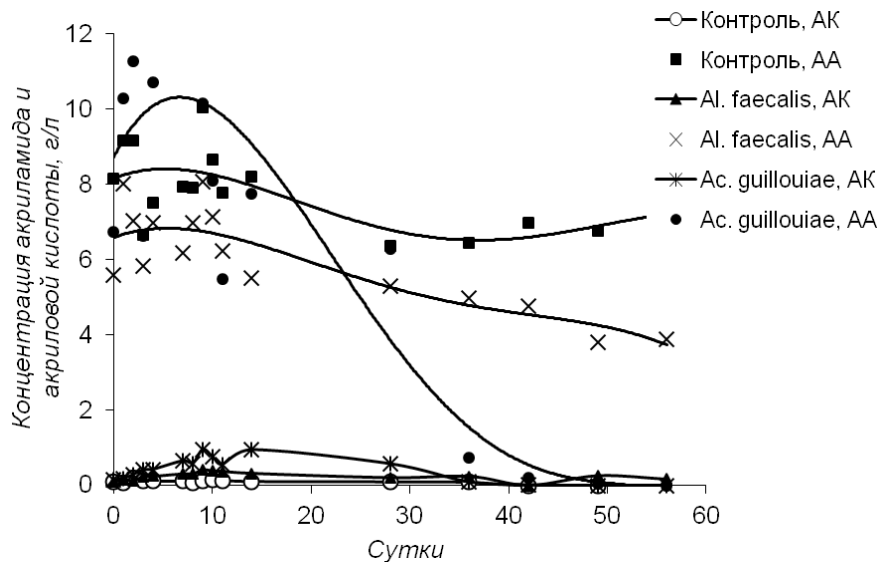


Рис. 4. Трансформация акриламида илом р. Данилихи после инкубации при 25 °С в течение 6 мес.: АА — акриламид; АК — акриловая кислота; контроль — суспензия ила без добавления амидазосодержащих бактерий

разнообразие увеличивается, вероятно, за счет размножения единичных представителей, содержание которых в исходных образцах настолько мало, что не может быть определено этим методом. Так, увеличивается доля *Actinobacteria*, *Chloroflexi*, *Ignavibacteriae*, *Candidatus Saccharibacteria*, *Acidobacteria*. Подавляющая часть бактериальной биоты во всех образцах относится к филуму *Proteobacteria*, а 10–30 % приходится на долю филума *Firmicutes*, причем доля представителей последнего филума больше в иле притока р. Сюзьва. *Alcaligenes* sp. и *Acinetobacter* sp. относятся к филуму *Proteobacteria*, поэтому для более детальной оценки выживания интродуцированных штаммов было изучено филогенетическое разнообразие на уровне родов.

Представители рода *Acinetobacter* в достаточном количестве обнаруживаются в илах при инкубации в течение 6 мес. при 5 °С: их доля составляет 86 и 22 % от общего состава микробиоты илов р. Данилихи и притока р. Сюзьва соответственно (рис. 6). Однако при инкубации при температуре 25 °С в течение 6 мес. их доля резко снижается и составляет 2–3 % в иле р. Данилихи независимо от биоаугментации и 8 % в иле притока р. Сюзьва при биоаугментации *A. guillouiae*. После инкубации илов с внесенной биомассой *A. faecalis* в течение 6 мес. при 25 °С доля представителей этого рода составляла 2,9

и 3,6 % в илах р. Данилихи и притока р. Сюзьва соответственно. В то же время в нативных илах представители рода *Alcaligenes* методом метагеномного секвенирования не были обнаружены (табл. 1).

Оценка эффективности биоразложения акриламида микробиотой аугментированных илов

Эффективность разложения акриламида микробиотой аугментированных и нативных илов оценивали по доле трансформированного акриламида от внесенного (выражали в %); и по количеству суток, за которое происходила биодеградация (табл. 2). Полная деградация акриламида наблюдалась после инкубации 3 и 6 мес. при 5 °С как микробиотой нативных илов, так и илами с аугментацией амидазосодержащих бактерий. Известно, что амидазы являются широко распространенными ферментами в живом мире [15], и за счет представителей собственной микробиоты илов, обладающих амидазной активностью, происходит биоразложение этого загрязняющего вещества, только с более низкой скоростью, чем при аугментации. Длительность биоразложения увеличивалась в ряду: илы биоаугментированные — нативные, после инкубации при 5 °С — при 25 °С, при биоаугментации *A. guillouiae* — при биоаугментации *A. faecalis* (после инкубации при 25 °С). Показано, что аугментация *A. guillouiae* была более эффективна

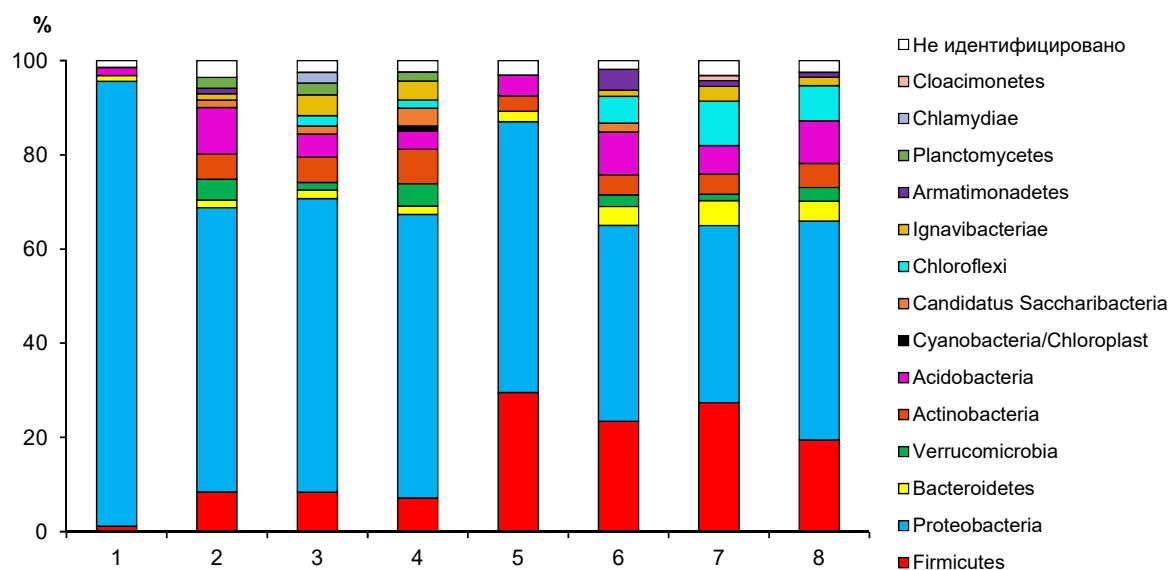


Рис. 5. Соотношение филумов домена *Bacteria* в образцах после инкубации в течение 6 мес. при 5 °С: 1 — ил р. Данилихи; 5 — ил притока р. Сюзьва; при хранении 6 мес. при 25 °С: 2 — ил р. Данилихи без аугментации; 3 — ил р. Данилихи с биоаугментацией *A. faecalis*; 4 — ил р. Данилихи с биоаугментацией *A. guillouiae*; 6 — ил притока р. Сюзьва без аугментации; 7 — ил притока р. Сюзьва с биоаугментацией *A. faecalis*; 8 — ил притока р. Сюзьва с биоаугментацией *A. guillouiae*

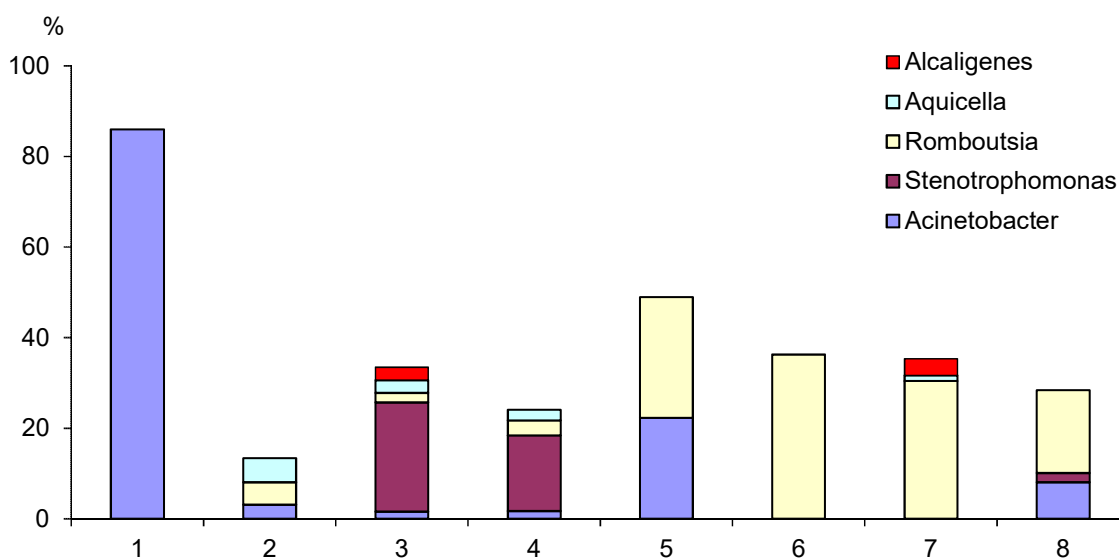


Рис. 6. Процентное соотношение некоторых родов домена *Bacteria* в образцах после инкубации в течение 6 мес. при 5 °С: 1 — ил р. Данилихи; 5 — ил притока р. Сюзьва; при хранении 6 мес. при 25 °С: 2 — ил р. Данилихи без аугментации; 3 — ил р. Данилихи с биоаугментацией *A. faecalis*; 4 — ил р. Данилихи с биоаугментацией *A. guillouiae*; 6 — ил притока р. Сюзьва, без аугментации; 7 — ил притока р. Сюзьва с биоаугментацией *A. faecalis*; 8 — ил притока р. Сюзьва с биоаугментацией *A. guillouiae*

для ила антропогенно загрязненной р. Данилихи, чем для притока р. Сюзьва.

Заключение

Инкубация илов при температуре 25 °С в течение 3–6 мес. приводит к ухудшению биодеградативных возможностей микробиоты по от-

ношению к акриlamиду, и трансформация этого загрязняющего вещества происходит только при аугментации биомассы амидазосодержащих бактерий, причем ацинетобактерии имеют преимущество перед бактериями рода *Alcaligenes*. Длительная инкубация как биоаугментированных,

Таблица 1

Присутствие представителей родов *Acinetobacter* и *Alcaligenes* в речных илах после инкубации при 25 °С в течение 6 мес.

Роды бактерий	Нативный ил		Ил, аугментированный <i>A. faecalis</i>		Ил, аугментированный <i>A. guillouiae</i>	
	Р. Данилиха	Приток р. Сюзьва	Р. Данилиха	Приток р. Сюзьва	Р. Данилиха	Приток р. Сюзьва
<i>Acinetobacter</i>	+	–	+	–	+	+
<i>Alcaligenes</i>	–	–	+	+	–	–

Таблица 2

Эффективность и продолжительность биодеградации акриламида при биоаугментации речных илов, %/сут

Условия эксперимента	Нативный ил		Ил, аугментированный <i>A. faecalis</i>		Ил, аугментированный <i>A. guillouiae</i>	
	Р. Данилиха	Приток р. Сюзьва	Р. Данилиха	Приток р. Сюзьва	Р. Данилиха	Приток р. Сюзьва
После 3 мес. при 5 °С	100 / 28	100 / 42	100 / 7	100 / 4	100 / 7	100 / 8
После 6 мес. при 5 °С	100 / 35	100 / 49	100 / 20	100 / 11	100 / 4	83 / 14
После 3 мес. при 25 °С	0	0	90 / 49	84 / 49	97 / 42	100 / 12
После 6 мес. при 25 °С	0	0	46 / 49	94 / 49	100 / 49	93 / 49

так и нативных илов при температуре 5 °С не снижает биодеградативные способности микробиоты. Методом метагеномного секвенирования было показано, что внесенная биомасса бактерий родов *Alcaligenes* и *Acinetobacter* сохраняется при инкубации илов при температуре 25 °С в течение 6 мес.

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что биоаугментация илов с целью повышения способности нативной микробиоты к разложению акриламида будет эффективна в умеренной климатической зоне с преобладанием среднегодовых температур воздуха и воды ниже 25 °С. При пониженных температурах более эффективно формирование самоподдерживающейся популяции на основе внесенных бактерий с амидазной активностью, кроме того, несмотря на способность нативной микробиоты к трансформации акриламида при 30 °С, этот процесс без аугментации не идет при 5 °С, как ранее было показано в работе [11]. Следовательно, в условиях реального загрязнения внесенная популяция амидазосодержащих бактерий будет эффективно сохраняться при пониженных температурах, обеспечивая как трансформацию акриламида в условиях температур, близких к 5 °С, так и в летний период.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания на тему «Изучение функционально-

го и видового разнообразия микроорганизмов, полезных для экосистем и практической деятельности человека», регистрационный номер НИОКТР АААА-А19-119112290008-4.

Литература

1. Вдовина, Т. В., Сироткин, А. С., Кобелева, Й. В. и Горшкова, Е. С. (2020). Биоаугментация нитрифицирующих микроорганизмов для повышения эффективности окисления соединений азота в процессе биофильтрации сточных вод. Биотехнология, Т. 36, № 2, сс. 99–107.
2. Двинских, С. А. и Китаев, А. Б. (2011). Экологическое состояние малых рек города Перми. Географический вестник, № 2 (17), сс. 32–43.
3. Михайлова, Ю. В., Кеврина, М. В., Грачев, В. А., Асеева, В. Г. и Николаев, Ю. А. (2015). Биоаугментация — приём повышения эффективности нитрификации при очистке сточных вод. Вода: химия и экология, № 9 (87), сс. 18–27.
4. Николаев, Ю. А., Грачев, В. А. и Михайлова, Ю. В. (2015). Использование технологии биоаугментации для улучшения качества очистки сточных вод. Водоочистка, № 5–6, сс. 13–22.
5. Bedade, D. K. and Singhal, R. S. (2018). Biodegradation of acrylamide by a novel isolate, *Cupriavidus oxalaticus* ICTDB921: Identification and characterization of the acrylamidase produced. *Bioresource Technology*, Vol. 261, pp. 122–132. DOI: 10.1016/j.biortech.2018.04.012.
6. Dueholm, M. S., Marques, I. G., Karst, S. M., D’Imperio, S., Tale, V. P., Lewis, D., Nielsen, P. H. and Nielsen, J. L. (2015). Survival and activity of individual bioaugmentation strains. *Bioresource Technology*, Vol. 186, pp. 192–199. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.02.111.
7. Herrero, M. and Stuckey, D. C. (2015). Bioaugmentation and its application in wastewater treatment: A review. *Chemosphere*, Vol. 140, pp. 119–128. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.10.033.

8. Jansson, J. K., Björklöf, K., Elvang, A. M. and Jørgensen, K. S. (2000). Biomarkers for monitoring efficacy of bioremediation by microbial inoculants. *Environmental Pollution*, Vol. 107, Issue 2, pp. 217–223. DOI: 10.1016/S0269-7491(99)00140-2.
9. Kusnin, N., Syed, M. A. and Ahmad, S. A. (2015). Toxicity, pollution and biodegradation of acrylamide – a mini review. *Journal of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology*, Vol. 3, No. 2, pp. 6–12.
10. Ma, Q., Qu, H., Meng, N., Li, S., Wang, J., Liu, S., Qu, Y. and Sun, Y. (2020). Biodegradation of skatole by *Burkholderia* sp. IDO3 and its successful bioaugmentation in activated sludge systems. *Environmental Research*, Vol. 182, 109123. DOI: 10.1016/j.envres.2020.109123.
11. Maksimova, Yu. G., Ovechkina, G. V., Selyaninov, A. A., Baranova, A. A. and Maksimov, A. Yu. (2020). Temperature dependence of the processes of acrylamide biodegradation in river silt suspensions at their inoculation by selected bacterial strains. *Water Resources*, Vol. 47, Issue 1, pp. 130–136. DOI: 10.1134/S0097807820010182.
12. Maksimova, Yu. G., Vasil'ev, D. M., Zorina, A. S., Ovechkina, G. V. and Maksimov, A. Yu. (2018). Acrylamide and acrylic acid biodegradation by *Alcaligenes faecalis* 2 planktonic cells and biofilms. *Applied Biochemistry and Microbiology*, Vol. 54, Issue 2, pp. 173–178. DOI: 10.1134/S0003683818020084.
13. Mroziak, A. and Piotrowska-Seget, Z. (2010). Bioaugmentation as a strategy for cleaning up of soils contaminated with aromatic compounds. *Microbiological Research*, Vol. 165, Issue 5, pp. 363–375. DOI: 10.1016/j.micres.2009.08.001.
14. Nzila, A., Razzak, S. A. and Zhu, J. (2016). Bioaugmentation: an emerging strategy of industrial wastewater treatment for reuse and discharge. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, Vol. 13, Issue 9, 846. DOI: 10.3390/ijerph13090846.
15. Sharma, M., Sharma, N. N. and Bhalla, T. C. (2009). Amidases: versatile enzymes in nature. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, Vol. 8, Issue 4, pp. 343–366. DOI: 10.1007/s11157-009-9175-x.
16. Shishir, T. A., Mahbub, N. and Kamal, N. E. (2019). Review on bioremediation: a tool to resurrect the polluted rivers. *Pollution*, Vol. 5, Issue 3, pp. 555–568. DOI: 10.22059/POLL.2019.272339.558.
17. Thompson, I. P., van der Gast, C. J., Ciric, L. and Singer, A. C. (2005). Bioaugmentation for bioremediation: the challenge of strain selection. *Environmental Microbiology*, Vol. 7, Issue 7, pp. 909–915. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2005.00804.x.
18. Wang, C. C., Lee, C. M. and Wu, A. S. (2009). Acrylic acid removal from synthetic wastewater and industrial wastewater using *Ralstonia solanacearum* and *Acidovorax avenae* isolated from a wastewater treatment system manufactured with polyacrylonitrile fiber. *Water Science and Technology*, Vol. 60, Issue 11, pp. 3011–3016. DOI: 10.2166/wst.2009.710.
19. Yoon, S.-H., Ha, S.-M., Kwon, S., Lim, J., Kim, Y., Seo, H. and Chun, J. (2017). Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequence and whole-genome assemblies. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Vol. 67, Issue 5, pp. 1613–1617. DOI: 10.1099/ijsem.0.001755.
20. Yuan, Q.-B., Shen, Y., Huang, Y.-M. and Hu, N. (2018). A comparative study of aeration, biostimulation and bioaugmentation in contaminated urban river purification. *Environmental Technology & Innovation*, Vol. 11, pp. 276–285. DOI: 10.1016/j.eti.2018.06.008.
21. Zhao, X., Bai, S., Li, C., Yang, J. and Ma, F. (2019). Bioaugmentation of atrazine removal in constructed wetland: Performance, microbial dynamics, and environmental impacts. *Bioresource Technology*, Vol. 289, 121618. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.121618.
22. Zhu, X., Liu, R., Liu, C. and Chen, L. (2015). Bioaugmentation with isolated strains for the removal of toxic and refractory organics from coking wastewater in a membrane bioreactor. *Biodegradation*, Vol. 26, Issue 6, pp. 465–474. DOI: 10.1007/s10532-015-9748-z.

References

1. Vdovina, T. V., Sirotkin, A. S., Kobeleva, J. V. and Gorshkova, E. S. (2020). Bio-augmentation of nitrifying microorganisms to increase the efficiency of oxidation of nitrogen compounds during wastewater biofiltration. *Biotechnology*, Vol. 36, No. 2, pp. 99–107.
2. Dvinskikh, S. A. and Kitaev, A. B. (2011). Ecological condition of the small rivers of Perm city. *Geographical Bulletin*, No. 2 (17), pp. 32–43.
3. Mikhailova, Y. V., Kevbrina, M. V., Grachev, V. A., Aseeva, V. G. and Nikolaev, Y. A. (2015) Bio-augmentation - way of increasing efficiency of a nitrification during wastewater treatment. *Water: Chemistry and Ecology*, No. 9 (87), pp. 18–27.
4. Nikolaev, Y. A., Grachev, V. A. and Mikhailova, Y. V. (2015). Use of bioaugmentation technology for improvement of sewage water quality. *Vodoochistka*, No. 5–6, pp. 13–22.
5. Bedade, D. K. and Singhal, R. S. (2018). Biodegradation of acrylamide by a novel isolate, *Cupriavidus oxalaticus* ICTDB921: Identification and characterization of the acrylamidase produced. *Bioresource Technology*, Vol. 261, pp. 122–132. DOI: 10.1016/j.biortech.2018.04.012.
6. Dueholm, M. S., Marques, I. G., Karst, S. M., D'Imperio, S., Tale, V. P., Lewis, D., Nielsen, P. H. and Nielsen, J. L. (2015). Survival and activity of individual bioaugmentation strains. *Bioresource Technology*, Vol. 186, pp. 192–199. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.02.111.
7. Herrero, M. and Stuckey, D. C. (2015). Bioaugmentation and its application in wastewater treatment: A review. *Chemosphere*, Vol. 140, pp. 119–128. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.10.033.
8. Jansson, J. K., Björklöf, K., Elvang, A. M. and Jørgensen, K. S. (2000). Biomarkers for monitoring efficacy of bioremediation by microbial inoculants. *Environmental Pollution*, Vol. 107, Issue 2, pp. 217–223. DOI: 10.1016/S0269-7491(99)00140-2.
9. Kusnin, N., Syed, M.A. and Ahmad, S.A. (2015). Toxicity, pollution and biodegradation of acrylamide – a mini review. *Journal of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology*, Vol. 3, No. 2, pp. 6–12.
10. Ma, Q., Qu, H., Meng, N., Li, S., Wang, J., Liu, S., Qu, Y. and Sun, Y. (2020). Biodegradation of skatole by *Burkholderia* sp. IDO3 and its successful bioaugmentation in activated sludge systems. *Environmental Research*, Vol. 182, 109123. DOI: 10.1016/j.envres.2020.109123.
11. Maksimova, Yu. G., Ovechkina, G. V., Selyaninov, A. A., Baranova, A. A. and Maksimov, A. Yu. (2020). Temperature dependence of the processes of acrylamide biodegradation in river silt suspensions at their inoculation by selected bacterial strains. *Water Resources*, Vol. 47, Issue 1, pp. 130–136. DOI: 10.1134/S0097807820010182.
12. Maksimova, Yu. G., Vasil'ev, D. M., Zorina, A. S., Ovechkina, G. V. and Maksimov, A. Yu. (2018). Acrylamide and acrylic acid biodegradation by *Alcaligenes faecalis* 2 planktonic cells and biofilms. *Applied Biochemistry and*

Microbiology, Vol. 54, Issue 2, pp. 173–178. DOI: 10.1134/S0003683818020084.

13. Mrozik, A. and Piotrowska-Seget, Z. (2010). Bioaugmentation as a strategy for cleaning up of soils contaminated with aromatic compounds. *Microbiological Research*, Vol. 165, Issue 5, pp. 363–375. DOI: 10.1016/j.micres.2009.08.001.

14. Nzila, A., Razzak, S. A. and Zhu, J. (2016). Bioaugmentation: an emerging strategy of industrial wastewater treatment for reuse and discharge. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, Vol. 13, Issue 9, 846. DOI: 10.3390/ijerph13090846.

15. Sharma, M., Sharma, N. N. and Bhalla, T. C. (2009). Amidases: versatile enzymes in nature. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, Vol. 8, Issue 4, pp. 343–366. DOI: 10.1007/s11157-009-9175-x.

16. Shishir, T. A., Mahbub, N. and Kamal, N. E. (2019). Review on bioremediation: a tool to resurrect the polluted rivers. *Pollution*, Vol. 5, Issue 3, pp. 555–568. DOI: 10.22059/POLL.2019.272339.558.

17. Thompson, I. P., van der Gast, C. J., Ciric, L. and Singer, A. C. (2005). Bioaugmentation for bioremediation: the challenge of strain selection. *Environmental Microbiology*, Vol. 7, Issue 7, pp. 909–915. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2005.00804.x.

18. Wang, C. C., Lee, C. M. and Wu, A. S. (2009). Acrylic acid removal from synthetic wastewater and industrial wastewater using *Ralstonia solanacearum* and *Acidovorax avenae* isolated from a wastewater treatment system manufactured with polyacrylonitrile fiber. *Water Science and Technology*, Vol. 60, Issue 11, pp. 3011–3016. DOI: 10.2166/wst.2009.710.

19. Yoon, S.-H., Ha, S.-M., Kwon, S., Lim, J., Kim, Y., Seo, H. and Chun, J. (2017). Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequence and whole-genome assemblies. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Vol. 67, Issue 5, pp. 1613–1617. DOI: 10.1099/ijsem.0.001755.

20. Yuan, Q.-B., Shen, Y., Huang, Y.-M. and Hu, N. (2018). A comparative study of aeration, biostimulation and bioaugmentation in contaminated urban river purification. *Environmental Technology & Innovation*, Vol. 11, pp. 276–285. DOI: 10.1016/j.eti.2018.06.008.

21. Zhao, X., Bai, S., Li, C., Yang, J. and Ma, F. (2019). Bioaugmentation of atrazine removal in constructed wetland: Performance, microbial dynamics, and environmental impacts. *Bioresource Technology*, Vol. 289, 121618. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.121618.

22. Zhu, X., Liu, R., Liu, C. and Chen, L. (2015). Bioaugmentation with isolated strains for the removal of toxic and refractory organics from coking wastewater in a membrane bioreactor. *Biodegradation*, Vol. 26, Issue 6, pp. 465–474. DOI: 10.1007/s10532-015-9748-z.

Авторы

Максимова Юлия Геннадьевна, д-р биол. наук, доцент
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО
РАН — филиал ФГБУН Пермского федерального исследова-
тельского центра УрО РАН, Пермь, Россия

Пермский государственный национальный исследова-
тельский университет, Пермь, Россия
E-mail: yul_max@mail.ru

Овечкина Галина Вячеславовна, ведущий инженер
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО
РАН — филиал ФГБУН Пермского федерального исследова-
тельского центра УрО РАН, Пермь, Россия

Максимов Александр Юрьевич, канд. биол. наук, до-
цент

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО
РАН – филиал ФГБУН Пермского федерального исследова-
тельского центра УрО РАН, Пермь, Россия

Пермский государственный национальный исследова-
тельский университет, Пермь, Россия
E-mail: almaks1@mail.ru

Authors

Yuliya Gennadyevna Maksimova, DSc in Biology,
Associate Professor

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural
Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russia
Perm State University, Perm, Russia
E-mail: yul_max@mail.ru

Galina Vyacheslavovna Ovechkina, Lead Engineer
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural
Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

Aleksandr Yuryevich Maksimov, PhD in Biology,
Associate Professor

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural
Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russia
Perm State University, Perm, Russia
E-mail: almaks1@mail.ru