

Микробная сульфатредукция в отходах свинокомплекса.

¹Карначук О.В., ¹Панова И.А., ¹Зюсман В., ¹Кадырбаев М., ²Груздев Е.В.,
²Кадников В.В., ³Пименов Н.В., ²Равин Н.В.

¹Кафедра физиологии растений и биотехнологии, Томский государственный университет, г. Томск,
olga.karnachuk@green.tsu.ru

² Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, г. Москва

³ Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, г. Москва

Высокотоксичный сероводород является одним из основных компонентов неприятного запаха в местах складирования сельскохозяйственных отходов. В природных биотопах большая часть H_2S образуется за счет восстановления сульфата (SO_4^{2-}) сульфатредуцирующими бактериями (СРБ) и лишь небольшая доля сульфидов поступает из серосодержащих аминокислот, входящих в состав белков. Разница в масштабах образования сероводорода связана с энергетическим метаболизмом. Для образования достаточного количества энергии СРБ должны восстанавливать большие количества сульфата – конечного акцептора электронов при окислении органических веществ или водорода.

В литературе имеются единичные данные о присутствии СРБ в свином навозе и их активности. Цель исследования состояла в определении разнообразия и активности СРБ в кумулятивных отходах крупного свинокомплекса «Томский» (Сибирская аграрная группа), с численностью животных 176 тыс. голов. Сильный запах от мест складирования отходов достигает города Томска и является причиной активных дискуссий населения.

Параллельно с отбором проб для микробиологического анализа, измеряли концентрацию H_2S в воздухе газоанализатором в непосредственной близости от пруду-накопителя отходов. Измерения проводили в период после схода снегового покрова, начиная с мая до ноября 2019 года. В мае отсутствовали следы сероводорода, его присутствие обнаруживали, начиная с июня. Измеренная нами концентрация H_2S в воздухе в окрестностях прудов-накопителей колебалась от 0.08 до 0.69 mgH_2S/m^3 , превышая предельно допустимую концентрацию (ПДК) для воздуха населенных мест, 0.008 mgH_2S/m^3 , почти в сто раз.

Скорость диссимиляционной сульфатредукции, определенная с радиоактивно-меченым сульфатом в жидких отходах, поступающих в пруды-накопители, составляла 0.06 ммоль/л/сутки. Большинство метки накапливалось в кислоторастворимой фракции сульфидов и моносulfидов.

С помощью высокопроизводительного секвенирования ПЦР фрагментов гена 16S рРНК был определен состав микробного сообщества отходов. Единственной группой, для которой известна способность к диссимиляционной сульфатредукции, обнаруженной в метагеноме, являлись представители рода *Desulfovibrio*. Однако их доля в сообществе не превышала 0.1%. Эксперименты с моделированием влияния различных соединений, проведенные в изолированных микрокосмах, показали, что фактором, лимитирующим численность *Desulfovibrio*, является отсутствие доступных низкомолекулярных органических субстратов. Внесение дополнительно лактата с сульфатом увеличивало долю *Desulfovibrio* до 2% в сообществе, в то время, как внесение сульфата без лактата не изменяло численности. При этом, эксперименты с добавлением сульфата показали увеличение скорости СР до 0.32 ммоль/л/сутки при одновременном внесении сульфата и лактата скорость увеличивалась до 0.51 ммоль/л/сутки.

Информация о составе сообщества, полученная молекулярными методами, была использована для разработки стратегии выделения чистых культур *Desulfovibrio* из проб отходов. Была использована среда Видделя-Бака с добавлением формиата в качестве донора электронов. Большинство *Desulfovibrio* могут расти автотрофно с формиатом,

одновременно такая среда снижает вероятность конкуренции СРБ с другими гетеротрофами, использующими лактат или другие низкомолекулярные органические кислоты. Для получения первоначальных накопительных культур использовали твердую среду, что позволило быстро отобрать сульфидогенные организмы по черному цвету колоний, связанному с образованием осадка сульфида железа. В результате были выделены две чистых культуры СРБ, обозначенные L1 и L2. Анализ последовательности гена 16S рРНК показал, что штаммы, представляли виды *Desulfovibrio vulgaris* и *Desulfovibrio desulfuricans*. Ближайшим родственником *D. vulgaris* L1 является модельный штамм СРБ *D. vulgaris* Hildenborough со сходством последовательностей 99.78%. Последовательность гена 16S рРНК штамма *D. desulfuricans* L2 совпадала с другим классическим сульфатредуктором, *D. desulfuricans* Essex 6, на 100%.

Эксперименты с микрокосмами показали, что присутствующие в отходах *Desulfovibrio* не были лимитированы сульфатом, но, вероятно, конкурировали с другими гетеротрофами за низкомолекулярные органические кислоты, являющихся донорами электронов для сульфатредукции. Измеренная концентрация сульфата в отходах, отобранных непосредственно в месте стока отходов свиного комплекса в пруды-накопители, составляла 192 мг/л, что представляет значительную величину, сравнимую, например, с отходами угольной промышленности. Концентрация сульфата в пруду-накопителе была ниже – 42 мг/л, что может свидетельствовать о частичном расходе на сульфатредукцию. Источником сульфата в свином навозе могут быть различные добавки, применяемые в животноводстве. Например, известны случаи добавления в навоз сульфата аммония в качестве источника азота на стадии переработки. Снижение концентрации сульфата в сельскохозяйственном производстве может рассматриваться как превентивная мера для снижения концентрации образующегося сероводорода и борьбы с неприятным запахом отходов.

Исследование поддержано грантом РФФИ 18-29-25041.