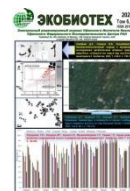




ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>


ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОНВЕРСИИ МАЛАТИОНА БАКТЕРИАЛЬНЫМ КОНСОРЦИУМОМ В ПЕРИОДИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЕ И С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОСИТЕЛЯ

Анисимова Л.Г.

Научно-исследовательский технологический институт гербицидов и регуляторов роста растений с опытно-экспериментальным производством АН РБ, Уфа, Россия
E-mail: biotechexpert22@gmail.com

Исследована способность бактериальных штаммов индустриальной зоны г.Уфы использовать малатион в качестве единственного источника углерода и энергии. Шесть штаммов были использованы для создания микробной композиции, которая была испытана на высоких концентрациях малатиона (2.85 и 6 г/л), как единственного источника углерода и энергии. В одном из вариантов эксперимента в качестве носителя использовался торф. В опыте с малатионом в концентрации 2.85 г/л эффективность разложения консорциумом как без, так и с использованием торфяного носителя существенно не различалась и составляла около 93%. При использовании малатиона в более высокой концентрации (6 г/л) эффективность деструкции составила 85%, что свидетельствует об угнетающем воздействии на бактерии высоких концентраций малатиона.

Ключевые слова: биодegradация ♦ малатион ♦ бактерии-деструкторы ♦ фосфорорганические пестициды ♦ ФОС

EFFICIENCY OF CONVERSION OF MALATHION BY A BACTERIAL CONSORTIUM IN BATCH CULTURE AND USING A CARRIER

Anisimova L.G.

Research Technological Institute of Herbicides and Plant Growth Regulators with Pilot Production, Academy of Sciences of Republic of Bashkortostan, Ufa, Russia
E-mail: biotechexpert22@gmail.com

The ability of bacterial strains of the industrial zone of Ufa to use malathion as a sole source of carbon and energy was studied. Six the strains were used to create a microbial composition that was tested at high concentrations of malathion (2.85 and 6 g/L) as the sole source of carbon and energy. In one version of the experiment, peat was used as a carrier. In the experiment with malathion at a concentration of 2.85 g/l, the degradation efficiency by the consortium both without and with the use of a peat carrier did not differ significantly and was about 93%. When using malathion at a higher concentration (6 g/l), the degradation efficiency was 85%, which indicates the inhibitory effect of high concentrations of malathion on bacteria.

Keywords: bioderradation ♦ malathion ♦ degrader strain ♦ organophosphorus pesticides ♦ OP

Поступила в редакцию: 23.10.2023

[Цитировать | Cite as](#)

[DOI: 10.31163/2618-964X-2023-6-3-185-189](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2023-6-3-185-189)

[EDN: GOLLFR](#)



ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время среди разнообразных групп пестицидов фосфорорганические (ФОС) составляют основной и наиболее широко используемый класс сельскохозяйственных пестицидов, на долю которого приходится более 38% общего мирового рынка [Theriot and Grunden, 2011].

Малатион [О,О-диметил-S-(1,2-дикарбэтоксиптил)дитиофосфат], также известный как малатон, карбофос и фуфанон, был признан первым фосфоорганическим инсектицидом с высокоселективной токсичностью. Его обычно используют в качестве инсектицида общего назначения для борьбы с сельскохозяйственными и бытовыми вредителями. Малатион обладает нейротоксическим действием вследствие своей способности ингибировать ацетилхолинэстеразу, ключевой фермент нормальной передачи нервных сигналов. Токсическое действие малатиона хорошо известно для широкого круга животных, включая рыб, кольчатых червей, ракообразных, иглокожих, насекомых, моллюсков, нематод, плоских

червей и зоопланктона. Его воздействие на человека может вызывать лейкемию, повреждение почек, головного мозга, легких, известны также его канцерогенные эффекты, а именно: различные повреждение ДНК и хромосомные aberrации в клетках крови человека. Несмотря на высокую токсичность, малатион до сих пор широко используется во всем мире [Kanade et al., 2012].

Технический малатион, который обычно применяется в сельскохозяйственных целях, может содержать до 11 примесей, образующихся при его производстве и/или хранении. Было обнаружено, что некоторые из этих примесей, такие как изомалатион, значительно более токсичны, чем сам малатион. или потенциально усиливают его токсичность. Наиболее опасным метаболитом малатиона является продукт его окисления малаоксон, образующийся на воздухе и ответственный за инсектицидную активность исходного соединения [Uygun et al. 2007].

Микробиологическая деградация считается самой безопасной, экологичной и наиболее экономически эффективной технологией, так как микроорганизмы являются основными факторами, определяющими судьбу ксенобиотиков, включая малатион, в природной среде.

Было выделено и охарактеризовано несколько бактериальных видов способных к разложению малатиона [Kamal et al., 2008; Mohamed et al., 2010; Goda et al., 2010; Kanade et al., 2012; Singh et al., 2012; Khan et al., 2016]. Однако новые изоляты из этой работы могут лучше подходить к климату и условиям окружающей среды в России.

Целью настоящего исследования было изолировать из почвы и охарактеризовать новые бактерии, способные разлагать малатион как единственный источник углерода и энергии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследований служили восемь бактериальных штаммов, выделенных из почвы, подвергавшейся воздействию факторов химического производства промзоны г. Уфы.

Штаммы были получены методом накопительной культуры на минимальной солевой среде М9 с использованием малатиона (500 мг/л) в качестве единственного источника углерода и энергии. Состав среды М9 (г/л): Na_2HPO_4 – 6.0; KH_2PO_4 – 3.0; NaCl – 0.5; NH_4Cl – 1.0 Выделение чистых культур было проведено по методу Р. Коха на мясопептонном агаре (МПА). Чистоту культур оценивали визуально микроскопическим методом при высевах на агаризованные среды (М9 с малатионом и МПА).

Способность изучаемых штаммов к конверсии малатиона оценивалась по наличию/отсутствию роста в минимальной солевой среде М9, содержащей данное соединение в качестве единственного источника углерода и энергии. Посевной материал бактерий выращивали в пробирках с 3 мл мясопептонного бульона (МПБ), разбавленного в соотношении 1:5, в продолжение 18 часов при температуре 28°C. Затем культуры пересеивали в среду М9 в аликвотах, составляющих 0.5% от объема данной среды (3 мл М9 и 90 мкл культуры). В качестве источника углерода и энергии в среду вносили малатион в концентрации 100 мг/л. Культуры инкубировали в термостате при температуре 28°C в течение 7-ми дней. Эксперименты проводили в пяти повторностях.

Способность микробной композиции к конверсии малатиона изучалась в 100мл среды М9, где в качестве единственного источника углерода и энергии использовался малатион (чистое действующее вещество) в концентрации 2.85 и 6 г/л. Растворителем малатиона служил ксилол. Культивирование проводили в конических колбах (250 мл) при температуре 28°C в термостатируемой установке ES-20/60 (Biosan, Латвия) при 120 об/мин. Титр бактерий в конце опыта определяли по методу Коха подсчетом КОЕ на плотной среде в чашках Петри.

Варианты параллельных опытов для малатиона: 1) опыт: малатион + консорциум бактерий + минеральная среда (М9); контроль: малатион + минеральная среда (М9); 2) опыт: малатион + консорциум бактерий на торфе (3г.) + минеральная среда (М9); контроль: малатион + торф (3г.) + вода. Стерильный торф в варианте опыта был взят в качестве носителя.

Остаточное количество малатиона определяли с помощью хроматомасс-спектрометра «Хроматэк-Кристалл 5000» (СКБ "Хроматэк", Россия) на базе квадрупольного масс-спектрометрического детектора Finnigan DSQ II ("ThermoFinnigan", США). Условия анализа описаны в статье [Goda et al., 2010].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из образцов почв промзоны г. Уфы, подвергавшейся воздействию факторов химического производства, было выделено восемь бактериальных штаммов. В дальнейшем исследовалась их активность по отношению к малатиону. Эксперименты проводились на минимальной жидкой солевой среде М9, содержащей вышеуказанное соединение в качестве единственного источника углерода и энергии.

Таблица 1. Рост бактериальных изолятов промышленных экотопов г. Уфы на малатионе как единственном источнике углерода и энергии

Обозначение штаммов	Субстрат малатион, 100 мг/л
Рр	+
Имп-1	+/-
ДФ-1	+
СМ-1	+
ДФ-2	+
5F	+
Р-1	+
22S	+/-

Примечание: «+» – наличие роста; «+/-» – рост слабый

Как видно из таблицы 1, на малатионе в той или иной степени выросли все проверенные изоляты. Два штамма имп-1 и 22S показали слабый рост и были исключены из дальнейшей работы.

На следующем этапе работы из шести активно растущих на малатионе бактериальных штаммов была составлена микробная композиция и исследовалась эффективность ее конверсии при различных концентрациях малатиона с/без использования в качестве носителя торфа (таблица 2).

Таблица 2. Эффективность микробной композиции для утилизации малатиона как единственного источника углерода и энергии через 21 день

№ п/п	Вариант опыта	Остаточное содержание вещества (малатиона), г/л	Титр штамма к концу культивирования, КОЕ
1.	опыт: малатион (2.85 г/л) + консорциум бактерий + минеральная среда (М9)	0.23	8×10^7
	контроль: малатион (2,85 г/л) + минеральная среда (М9)	2.7	–
2	опыт: малатион (2,85 г/л) + консорциум бактерий на торфе + минеральная среда (М9)	0.20	19×10^7
	контроль: малатион (2.85 г/л) + торф + вода	2.6	–
3	опыт: малатион (6 г/л) + консорциум бактерий + минеральная среда (М9)	0.91	8×10^5
	контроль: малатион (6 г/л) + минеральная среда (М9)	5.5	–

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате работы была проанализирована способность природных изолятов промзоны г.Уфы использовать малатион в концентрации 100мг/л в качестве единственного источника углерода и энергии. В данных условиях шесть из восьми бактериальных штаммов проявили хороший потенциал роста.

Шесть этих штаммов были использованы для создания микробной композиции, которая была испытана на гораздо более высоких концентрациях малатиона (2.85 и 6 г/л), как единственного источника углерода и энергии.

Как видно из таблицы 2 в опыте с малатионом в концентрации 2.85 г/л эффективность деструкции биологическими агентами в жидкой среде и с использованием носителя торфа существенно не различалась и составляла около 93%. Титры штаммов и в том и другом случае оказались сопоставимо высокими.

При использовании малатиона в более высокой концентрации (6 г/л) эффективность деструкции составила 85%, а титр – 8×10^5 КОЕ, что свидетельствует об угнетающем воздействии на бактериальные клетки таких высоких концентраций малатиона.

Следует отметить, что ранее различными авторами изучалась активность бактериальных штаммов по отношению к малатиону, но в гораздо меньших концентрациях. Так, бактериальные изоляты, обозначенные авторами как IS1, IS2, IS3, IS4 и IS5, утилизировали малатион в концентрации 50мг/л [Goda et al., 2010]. Штаммы *Brevibacillus* sp. KB2 и *Bacillus cereus* PU, хорошо росли на среде с малатионом концентрацией до 0.15% [Singh et al., 2012]. *Bacillus licheniformis* ML-1 эффективно потребляла малатион (25 мг/л) как

единственный источник углерода, при этом около 78% малатиона разлагалось в течение 5 дней [Khan et al., 2016].

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод, что микробная композиция из шести бактериальных изолятов показала высокую эффективность конверсии значительных концентраций малатиона. Кроме того штаммы, исследованные в данной работе, являются аборигенными изолятами и лучше адаптированы к климату и условиям окружающей среды нашей страны. Следовательно, микробная композиция может быть перспективной для применения в качестве агента ремедиации российских территорий, загрязненных ФОС

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Goda S.K., Elsayed I.E., Khodair T.A., et al. Screening for and isolation and identification of malathion-degrading bacteria: cloning and sequencing a gene that potentially encodes the malathion-degrading enzyme, carboxylestrase in soil bacteria // *Biodegradation*. 2010. V. 21. № 6. P. 903-913. DOI: [10.1007/s10532-010-9350-3](https://doi.org/10.1007/s10532-010-9350-3)
2. Kamal Z.M., NAHA F., Ibrahim M.A., et al. Biodegradation and detoxification of malathion by of *Bacillus thuringiensis* MOS-5. *Austral. J. Basic. Appl. Sci.* 2008. V. 2. № 3. P. 724–732
3. Kanade S.N., Ade A.B., Khilare V.C. Malathion degradation by *Azospirillum lipoferum* // *Beijerinck. Sci. Res. Rept.* 2012. V. 2. P. 94–103.
4. Khan S., Zaffar H., Irshad U., et al. Biodegradation of malathion by *Bacillus licheniformis* strain ML-1 // *Archives of Biological Sciences*. 2016. DOI: [10.2298/ABS141218007K](https://doi.org/10.2298/ABS141218007K)
5. Mohamed K.Z., Ahmed M.A., Fetyan N.A., et al. Isolation and molecular characterisation of malathion-degrading bacterial strains from waste water in Egypt // *J. Adv. Res.* 2010. V. 1. № 2. P. 145–149. DOI: [10.1016/j.jare.2010.03.007](https://doi.org/10.1016/j.jare.2010.03.007)
6. Singh B., Kaur J., Singh K. Biodegradation of malathion by *Brevibacillus* sp. strain KB2 and *Bacillus cereus* strain PU // *World J Microbiol Biotechnol.* 2012. V. 28. № 3. P. 1133–41. DOI: [10.1007/s11274-011-0916-y](https://doi.org/10.1007/s11274-011-0916-y)
7. Theriot C.M., Grunden A.M.. Hydrolysis of organophosphorus compounds by microbial enzymes // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2011. V. 89. P. 35–43. DOI: [10.1007/s00253-010-2807-9](https://doi.org/10.1007/s00253-010-2807-9)
8. Uygun U., O'zkarar R., O'zbey A., et al. Residue levels of malathion and fenitrothion and their metabolites in post harvest treated barley during storage and malting // *Food Chem.* 2007. V. 100. P. 1165–1169. DOI: [10.1016/j.foodchem.2005.10.063](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.063)

Цитировать как

Анисимова Л.Г. Эффективность конверсии малатиона бактериальным консорциумом в периодической культуре и с использованием носителя // *Экобиотех*, 2023, Т. 6 № 3. С. 185-189. DOI: [10.31163/2618-964X-2023-6-3-185-189](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2023-6-3-185-189). EDN: GQLLFR

Cited as

Anisimova L.G. Efficiency of conversion of malathion by a bacterial consortium in batch culture and using a carrier. *Ekobiotech.* 2023, V. 6 (3). P. 185-189. DOI: [10.31163/2618-964X-2023-6-3-185-189](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2023-6-3-185-189). EDN: GQLLFR (In Rus.)