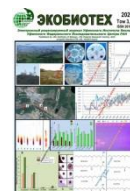




ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



БИОРАЗНООБРАЗИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ДЕСТРУКТОРОВ 2,5-ДИХЛОРФЕНОЛА И 2,4,6-ТРИХЛОРФЕНОЛА ПОЧВ ПРОМЗОНЫ Г. УФЫ

**Жарикова Н.В.* , Ясаков Т.Р., Коробов В.В.,
Журенко Е.Ю.**

Уфимский Институт биологии Уфимского федерального
исследовательского центра РАН, Уфа (Россия)
*E-mail: puzzle111@yandex.ru

Исследована способность бактериальных штаммов индустриальной зоны г.Уфы использовать 2,5-ДХФ и 2,4,6-ТХФ в качестве единственного источника углерода и энергии. Из 7 штаммов экотопа I только один был способен утилизировать 2,5-ДХФ, в то время как 2,4,6-ТХФ использовали 3 штамма. В другом экотопе из 13 штаммов 7 культур использовали 2,4,6-ТХФ, и только три – 2,5-ДХФ. Таким образом, токсичность субстрата для бактериальных деструкторов больше зависела от положения хлор заместителей, чем от их числа.

Ключевые слова: биodeградация, 2,5-дихлорфенол (2,5-ДХФ), 2,4,6-трихлорфенол (2,4,6-ТХФ)

BIODIVERSITY OF BACTERIAL DESTRUCTORS OF 2,5-DICHLOROPHENOL AND 2,4,6-TRICHLOROPHENOL FROM SOILS OF INDUSTRIAL ZONE OF UFA CITY

**Zharikova N.V.* , Iasakov T.R., Korobov V.V.,
Zhurenko E.I.**

Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Centre of
the Russian Academy of Sciences, Ufa (Russia)
*E-mail: puzzle111@yandex.ru

The ability of bacterial strains of the industrial zone of Ufa city to use 2,5-DCP and 2,4,6-TCP as the only source of carbon and energy was studied. Of the 7 strains of ecotope I, only one was able to utilize 2,5-DCP, while 3 strains used 2,4,6-TCP. In another ecotope, out of 13 strains, 7 cultures used 2,4,6-TCP, and only three - 2,5-DCP. Thus, the toxicity of the substrate for bacterial destructors depended more on the position of chlorine substituents than on their number.

Keywords: biodegradation, 2,5-dichlorophenol (2,5-DCP), 2,4,6-trichlorophenol (2,4,6-TCP)

Поступила в редакцию: 11.11.2020

DOI: 10.31163/2618-964X-2020-3-4-712-715

ВВЕДЕНИЕ

Полихлорфенолы относятся к группе производных фенола, содержащих в бензольном кольце два и более атома хлора. Эти соединения не встречаются в природе, а имеют исключительно техногенное происхождение. Хлорированные фенолы очень широко используются практически во всех областях промышленности: в производстве лаков и красок, синтетических смол, пластификаторов, поверхностно-активных и дубильных веществ, ядохимикатов, стабилизаторов, антисептиков и др., что является причиной их высокого содержания в окружающей среде по сравнению с другими распространёнными классами приоритетных органических загрязнителей.

Хлорпроизводные фенола получили широкое применение благодаря своим биоцидным свойствам, а именно: 2,4- и 2,5-дихлорфенолы (2,4- и 2,5-ДХФ) – это промежуточные продукты в производстве более сложных химических соединений, таких как гербициды и фунгициды; пентахлорфенол используется в составе препаратов для

консервации древесины; 2,4,5-трихлорфенол является фунгицидом, а 2,4,6-трихлорфенол (2,4,6-ТХФ) – антисептиком.

Группа этих синтетических соединений в результате своей стойкости, токсичности и возможности образования опасных промежуточных продуктов вызывает загрязнения природных экосистем и несет опасность для здоровья человека. Поэтому, крайне важно снизить уровень загрязнения хлорфенолами промышленных стоках до приемлемых уровней до их поступления в окружающую среду. В этом случае биodeградация, которая использует способность микроорганизмов (как правило, бактерий) конвертировать фенольные поллютанты в воду, углекислый газ и биомассу, является наиболее экологически безопасным методом их элиминации, позволяя избежать нежелательных побочных продуктов или вторичных загрязнителей [Czaplicka, 2004, Olaniran and Igbinosa, 2011, Igbinosa et al., 2013, Arora and Bae, 2014].

Цель работы – исследование способности природных штаммов использовать 2,5-ДХФ и 2,4,6-ТХФ в качестве единственного источника углерода и энергии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В данной работе были использованы природные штаммы, изолированные нами ранее из образцов почв, отобранных на территории производства хлорсодержащих соединений г. Уфы [Жарикова и др., 2019а] и обозначенной как экотоп VI. Кроме того в работу были также привлечены штаммы, выделенные из почвенных образцов территории завода «Дубитель» (экотоп I).

Способность изучаемых штаммов к конверсии 2,5-ДХФ и 2,4,6-ТХФ оценивалась по наличию/отсутствию роста в минимальной солевой среде М9, содержащей в качестве единственного источника углерода вышеуказанные хлорфенолы. Состав среды М9 (г/л): Na_2HPO_4 – 6.0; KH_2PO_4 – 3.0; NaCl – 0.5; NH_4Cl – 1.0 [Маниатис и др., 1984]. Посевной материал бактерий получали выращиванием в пробирках с 3 мл мясопептонного бульона (МПБ), разбавленного в соотношении 1:7, в продолжение 18 часов при температуре 28°C. Затем выросшую культуру засеивали в среду М9 в аликвотах, составляющих 0.01% от объема данной среды (3 мл М9 и 30 мкл культуры). В качестве источника углерода и энергии в среду раздельно вносили 2,5-ДХФ и 2,4,6-ТХФ в концентрации 100 мг/л. Инкубацию исследуемых штаммов проводили при температуре 28°C в течении 7-ми дней.

Эксперименты проводили в пяти повторностях. Статистическую обработку полученных результатов выполняли по методу Фишера-Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе работы исследовали способность изолированных из двух экотопов бактериальных штаммов использовать в качестве единственных источников углерода и энергии 2,5-ДХФ и 2,4,6-ТХФ. Эксперименты проводились на минимальной среде М9, раздельно содержащей вышеуказанные соединения. Результаты проведенного анализа представлены в таблице.

Таблица 1. Рост бактериальных штаммов на 2,5-ДХФ и 2,4,6-ТХФ как единственных источников углерода и энергии

Экотоп	№	Штамм	Рост на 2,5-ДХФ	Рост на 2,4,6-ТХФ
I	1.	22S	–	–
	2.	36D	–	–
	3.	36Г	–	–
	4.	36DCP	+	+
	5.	36-4CPA	–	–
	6.	36P	–	+/-
	7.	38D	–	+/-
VI	1.	C3-1a	–	–
	2.	C3-1b	–	–
	3.	C3-3c	–	–
	4.	C3-13	–	–
	5.	C4-6	–	–
	6.	C5-1	–	+
	7.	C5-2	–	+
	8.	C5-3	+	+
	9.	C5-5 a	–	+
	10.	C5-5 b	+	+
	11.	C5-6	–	+
	12.	C5-9	+	+
	13.	C7-1	–	–

Условные обозначения: «+» - наличие роста; «-» - отсутствие роста; «+/-» - рост умеренный.

Из 7-ми штаммов, отнесенных к экотопу I, только один изолят (36DCP) оказался способным использовать 2,5-ДХФ в качестве единственного источника углерода. Необходимо отметить, что эта бактериальная культура ранее показала себя как эффективный деструктор хлорфеноксисукусных кислот [Жарикова и др., 2019b]. Кроме того, штамм 36DCP показал рост и на среде с 2,4,6-ТХФ. Умеренный рост на этом субстрате также был выявлен еще у 2-х культур, обозначенных 36P и 38D.

Анализ 13-ти изолятов, входящих в экотоп VI, идентифицировал ряд штаммов, способных к конверсии 2,5-ДХФ, и на 2,4,6-ТХФ. Так три изолята (C5-3, C5-5 b, C5-9) показали рост на обоих вышеуказанных хлорфенолах. Помимо этих культур, еще четыре штамма, а именно: C5-1, C5-2, C5-5 и C5-6, оказались способными использовать 2,4,6-ТХФ как источник углерода.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате работы было выполнено исследование способности природных штаммов экотопа I и экотопа VI отдельно использовать 2,5-ДХФ и 2,4,6-ТХФ в качестве единственного источника углерода и энергии.

Из семи штаммов экотопа I только один был способен утилизировать 2,5-ДХФ, в то время как 2,4,6-ТХФ в большей или меньшей степени использовали три штамма. Для

эктопа VI также была замечена тенденция к более охотному использованию 2,4,6-ТХФ: из 13 штаммов этот субстрат метаболизировали 7 штаммов, а 2,5-ДХФ – только три.

Известно, что токсичность хлорпроизводного фенола, а следовательно и сложность использования его бактериальным деструктором, имеет прямое отношение к количеству атомов хлора в его молекуле. Однако помимо степени хлорирования молекулы субстрата его токсичность зависит и от положения атомов хлора относительно гидроксильной группы. Она увеличивается при наличии хлор-заместителя в 3-, 4- и 5-позиции [Czaplicka, 2004]. Данное обстоятельство, скорее всего, и является причиной, по которой наблюдалось меньшее количество изолятов, способных использовать 2,5-ДХФ по сравнению с 2,4,6-ТХФ. Таким образом, в нашем случае в плане токсичности субстрата более важное значение имело положение хлор-заместителей, а не их количество.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России № 075-00326-19-00 по теме № АААА-А18-118022190098-9 с использованием оборудования центра коллективного пользования УФИЦ РАН «Агидель».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Жарикова Н.В., Ясаков Т.Р., Коробов В.В., Журенко Е.Ю. Биоразнообразие бактерий-деструкторов фенола и его хлорированных производных почв промзоны г. Уфы, загрязненных отходами химического производства // Экобиотех. 2019а. Т. 2. № 4. С. 416–419. DOI: [10.31163/2618-964X-2019-2-4-416-419](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-4-416-419)
2. Жарикова Н.В., Журенко Е.Ю., Ясаков Т.Р., Коробов В.В., Ерастов А.С., Маркушева Т.В. Особенности конверсии 4-хлорфеноксисукусной кислоты у штамма *Pseudomonas* sp. 36DCP // Прикладная биохимия и микробиология. 2019b. Т. 55. № 2. С. 144–150. DOI: [10.1134/S0555109919020168](https://doi.org/10.1134/S0555109919020168)
3. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. Пер. с англ. М.: Мир. 1984. 480 с.
4. Arora P.K., Bae H. Bacterial degradation of chlorophenols and their derivatives // Microb. Cell. Fact. 2014. V. 13. Article 31. DOI: [10.1186/1475-2859-13-31](https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-31)
5. Czaplicka M. Sources and transformations of chlorophenols in the natural environment // Sci. Total. Environ. 2004 V. 322. № 1–3. P. 21–39. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2003.09.015](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2003.09.015)
6. Igbinosa E.O., Odjadjare E.E., Chigor V.N., Igbinosa I.H., Emoghene A.O., Ekhaise F.O., Igiehon N.O., Idemudia O.G: Toxicological profile of chlorophenols and their derivatives in the environment: the public health perspective // The Scientific World Journal. 2013. V. 2013. Article 460215. DOI: [10.1155/2013/460215](https://doi.org/10.1155/2013/460215)
7. Olaniran A.O., Igbinosa E.O. Chlorophenols and other related derivatives of environmental concern: properties, distribution and microbial degradation processes // Chemosphere. 2011. V. 83. № 10. P. 1297–1306. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2011.04.009](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.04.009)