

УДК 579.64

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БАКТЕРИЙ РОДА *AZOSPIRILLUM* НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ БИОДЕГРАДАЦИИ СИНТЕТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ

Суркина А.К., мл.научный сотрудник, тел. 8(8452)97-04-44, surkina-ak@mail.ru
ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов
Российской академии наук (ИБФРМ РАН), Саратов, Россия

Ключевые слова: биодegradация, антрахиноновые и трифенилметановые красители, *Azospirillum*.

Работа посвящена изучению влияния условий культивирования на эффективность биодegradации антрахиноновых и трифенилметановых красителей почвенными ассоциативными бактериями рода *Azospirillum*.

Введение. Современными темпами индустриализации обусловлены ежегодно растущие объемы производства синтетических красителей, которые находят свое применение в текстильной, косметической, полиграфической, фармацевтической и пищевой промышленности. При этом значительное количество от общего числа используемых красителей попадают в сточные воды в неизменном виде [1]. В результате сброса в акваторию недоочищенных сточных вод, в последние годы идет активная контаминация данными соединениями окружающей среды. Ремазол бриллиантовый-синий R (краситель антрахинонового ряда) и малахитовый зеленый (трифенилметановый краситель) – органополютанты, обладающие высокой степенью канцерогенности, характеризующиеся способностью к биоаккумуляции в тканях растений и животных [2, 3]. В последнее десятилетие появились факты и доказательства участия ферментов фенолоксидазного комплекса в дegradации синтетических красителей [4]. Учитывая обнаруженную ранее способность почвенных ассоциативных микроорганизмов рода *Azospirillum* к продукции фенолоксиляющих ферментов, была предпринята данная работа.

Цель работы – провести исследование эффективности деструкции красителей ремазола бриллиантового-синего и малахитового зеленого бактериями рода *Azospirillum*.

Материал и методика исследований. В эксперимент был взят ряд штаммов бактерий рода *Azospirillum* из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН: *A. brasilense* Sp245, Sp107, Sp7, SR 80, *A. lipoferum* Sp59b и *A. tiophilum* Bv-S. Культивирование бактерий проводили в колбах Эрленмейера (250 мл) на жидкой малатно-солевой среде. Посевным материалом служила 24-часовая культура, выращенная на среде того же состава. В условиях эксперимента культивирование проводилось при внесении ремазола бриллиантовый-синий R («Sigma-Aldrich», США) и малахитового зеленого («Вектон», Россия)

в конечной концентрации 1мМ; 0,1мМ; 0,05мМ и 0,01мМ, в температурном диапазоне от 25 до 45°C с шагом в 5° и степень обесцвечивания анализировали с течением времени, при культивировании в течение 2–10 суток. Эффективность биодegradации анализировали спектрофотометрически. Для этого бактериальную культуру осаждали центрифугированием, а супернатант использовали для анализа. Степень разрушения красителя выражали в процентах и рассчитывали

по формуле: $\% \text{обесцвечивания} = 100 \times \frac{A_{\text{нач}} - A_{\text{кон}}}{A_{\text{нач}}}$, где $A_{\text{нач}}$ – начальное поглоще-

ние; $A_{\text{кон}}$ – конечное поглощение. Параллельно на всех этапах исследования согласно стандартным методикам проводили анализ уровня лакказной, лигнин- и Mn-пероксидазной активности [5–7].

Результаты исследований. Проведенные исследования позволили установить степень деградации красителей взятыми в эксперимент штаммами в зависимости от концентрации вносимого вещества, температуры и времени культивирования. Наиболее эффективное обесцвечивание как ремазола, так и малахитового зеленого бактериями осуществлялось в концентрациях – 0,1мМ и 0,05мМ. Вероятнее всего данный факт можно объяснить адаптивным потенциалом азоспирилл – низкие концентрации красителей не вызывали токсического эффекта, вследствие чего не запускались ферментативные реакции, приводящие к их деструкции. Отмечена общая корреляция снижения эффективности обесцвечивания красителей с увеличением концентрации вносимого вещества. На данном этапе работы были выявлены штаммы – *A. brasilense* Sp107, *A. brasilense* SR80, обладающие наибольшим потенциалом к деградации взятых в эксперимент органополютантов.

Исследование влияния времени культивирования на эффективность биоредукции, показало, что максимум обесцвечивания для всех взятых в эксперимент штаммов отмечался на 6 сутки культивирования в присутствии ремазола, однако с увеличением времени выращивания процент биодegradации не изменялся, что вероятнее всего связано с токсичностью конденсированной ароматической структуры ремазола, которая вызывает ингибирование метаболической активности бактерий. В то же время, биодegradация малахитового зеленого началась уже через 18 часов культивирования бактерий, и на 6 сутки выращивания штаммы *A. brasilense* Sp107 и *A. brasilense* SR 80 обесцвечивали среду уже на 90%.

Также установлено, что температурный оптимум биодеструкции азоспириллами как малахитового зеленого, так и ремазола, лежит в диапазоне 30–40°C, что объясняется термической инактивацией ферментов, участвующих в обесцвечивании красителей при более высоких температурах, и снижением метаболической активности азоспирилл при температурах ниже оптимальных для активного наращивания биомассы.

В ходе исследования, выявлена положительная корреляция между спо-

способностью к деструкции синтетических красителей и уровнем активности внеклеточных ферментов фенолоксидазного комплекса.

Заключение. В результате проведенного исследования получены приоритетные данные о способности бактерий рода *Azospirillum* к деградации токсичных красителей-поллютантов малахитового зеленого и ремазола бриллиантового-синего, имеющие не только фундаментальное, но и существенное практическое значение. Изучено влияние концентрации вносимого красителя и условий культивирования бактерий на биодеградацию. Выявлены штаммы проявляющие наибольший деструктивный потенциал.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-316-00008 мол_а.

Библиографический список:

1. Jadhav J.P. Evaluation of the efficacy of a bacterial consortium for the removal of color, reduction of heavy metals, and toxicity from textile dye effluent / J.P. Jadhav, D.C. Kalyani, A.A. Telke, S.S. Phugare, S.P. Govindwar // Bioresour. Technol. – 2010. – № 101. – P. 165 – 173.
2. Gopinathan R. Effect of malachite green toxicity on non target soil organisms / R. Gopinathan, J. Kanhere, J. Banerjee // Chemosphere. – 2015. – V. 120. – P. 637 – 644.
3. Bhatt M. Biological decolorization of the synthetic dye RBBR in contaminated soil / M. Bhatt, M. Patel, B. Rawal, C. Novotny, H. Molitoris, V. Sasek // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2000. – V. 16. – P. 195–198.
4. Forgacs E. Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review / E. Forgacs, T. Cserhati, G. Oros // Environment International. – 2004. – V. 30. – P. 953–971.
5. Paszczynski A. Manganese peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*: purification / A. Paszczynski, R. Crawford, V.B. Huynh // Methods Enzymol. – 1988. – V. 161. – P. 264 – 270.
6. Orth A.B. Ubiquity of lignin-degrading peroxidases among various wood-degrading fungi / A.B. Orth, D.J. Royse, M. Tien // Appl. Envir. Microb. – 1993. – V. 59. – P. 4017 – 4023.
7. Bourbonnais R. Electrochemical analysis of the interactions of laccase mediators with lignin model compounds / R. Bourbonnais, D. Leech, M.G. Paice // Biochim. Biophys. Acta. – 1998. – V. 1379. – P. 381 – 390.

**THE INFLUENCE OF THE AZOSPIRILLUM GROWTH
CONDITIONS ON THE BIODEGRADATION EFFICIENCY OF THE
OF SYNTHETIC DYES**

Surkina A.K.

Key words: *biodegradation, anthraquinone and triphenylmethane dyes, Azospirillum*

Herein we investigated the influence of the growth conditions on the biodegradation efficiency of the of anthraquinone and triphenylmethane dyes by soil associative bacteria of the genus Azospirillum