

УДК 631.46: 579.222.2

## ЭКОЛОГО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ГРУНТОВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫМИ БИФЕНИЛАМИ

© 2016 г. А. В. Назаров, Д. О. Егорова, \*А. А. Макаренко, В. А. Демаков, Е. Г. Плотникова

Пермский государственный национальный исследовательский университет,  
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь  
\*ООО «Эмульсионные технологии», г. Самара

Полихлорированные бифенилы (ПХБ) являются одними из наиболее широко распространенных токсичных ксенобиотиков, устойчивых к разрушению в окружающей среде. Восстановление природных экосистем от загрязнения ПХБ связано прежде всего с деятельностью микроорганизмов, способных к деградации данных соединений. С целью изучения бактериальных сообществ деструкторов ПХБ загрязненных грунтов предприятия ОАО «Средне-Волжский завод химикатов» (г. Чапаевск, Самарская область) была оценена численность бактерий-деструкторов в грунтах, определен таксономический состав сообществ деструкторов, отобраны наиболее эффективные бактериальные ассоциации, разлагающие ПХБ. В пробах грунтов, отобранных на территории предприятия, концентрация ПХБ варьировала в интервале от 0,21 до 1,07 мг/кг. Численность бактерий-деструкторов бифенила/ПХБ в исследованных загрязненных грунтах составляла  $4,0 \times 10^6 - 1,5 \times 10^7$ . При этом с увеличением концентрации ПХБ в грунтах отмечено повышение численности бактерий-деструкторов. Установлено, что бактериальные сообщества деструкторов состоят из представителей родов *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Microbacterium*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Rhodococcus*. Отобраны бактериальные ассоциации, эффективно разлагающие коммерческие смеси ПХБ «Делор 103» и «Совол». Данные бактериальные ассоциации могут быть использованы для разработки новых биотехнологий очистки загрязненных ПХБ почв и грунтов.

**Ключевые слова:** полихлорированные бифенилы, загрязнение ПХБ, биоремедиация, бактерии-деструкторы, бактериальные сообщества

## ECOLOGICAL-MICROBIOLOGICAL ASSESSMENT OF POLYCHLORINATED BIPHENYL-CONTAMINATED GROUNDS

A. V. Nazarov, D. O. Egorova, \*A. A. Makarenko, V. A. Demakov, E. G. Plotnikova

Perm State National Research University, Perm  
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS, Perm  
\*Emulsion technology LTD, Samara

Polychlorinated biphenyls (PCB) are ones of most widespread toxic xenobiotics being resistant to environmental degradation. Recovery of natural ecosystems from PCB contamination is primarily related to activity of microorganisms capable of degrading these compounds. In order to study the bacterial communities of degraders from the PCB-contaminated grounds from the area of the JSC «Middle-Volga Chemical Plant» (the City of Chapaevsk, Samara Region), there was evaluated a number of bacteria-degraders in the grounds; the taxonomic composition of these communities was determined and most efficient bacterial associations degrading the PCB were selected. The ground samples taken from this enterprise territory have shown that the PCB concentration varied within 0.21-1.07 mg/kg. The amount of bacteria-degraders of biphenyl/PCB in the grounds under study was estimated as  $4.0 \times 10^6 - 1.5 \times 10^7$ . Meanwhile, with the increase of the PCB concentration in the grounds, there was detected elevated number of bacteria-degraders. It was determined that bacterial degraders were represented by genera *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Microbacterium*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, and *Rhodococcus*. Bacterial associations of degraders were selected that effectively degraded the PCB commercial mixtures «Delor 103» and «Sovol». These bacterial associations may be used for development of new biotechnologies, for remediation of PCB-contaminated soils and grounds.

**Keywords:** polychlorinated biphenyls, PCB contamination, bioremediation, bacteria, destructors, bacterial communities

### Библиографическая ссылка:

Назаров А. В., Егорова Д. О., Макаренко А. А., Демаков В. А., Плотникова Е. Г. Эколого-микробиологическая оценка грунтов, загрязненных полихлорированными бифенилами // Экология человека. 2016. № 3. С. 3–8.

Nazarov A. V., Egorova D. O., Makarenko A. A., Demakov V. A., Plotnikova E. G. Ecological-Microbiological Assessment of Polychlorinated Biphenyl-Contaminated Grounds. *Ekologiya cheloveka* [Human Ecology]. 2016, 3, pp. 3-8.

Промышленная деятельность человека на планете связана с накоплением значительных объемов опасных для окружающей среды синтетических соединений. В 2001 году мировым сообществом принята Стокгольмская конвенция, согласно которой ряд стойких органических загрязнителей (СОЗ), в том числе полихлорированные бифенилы (ПХБ), подлежат полному выведению из производства, применения и должны быть уничтожены [11]. Од-

ним из наиболее загрязненных хлорорганическими соединениями городов России является г. Чапаевск (Самарская область), население которого составляет около 72 тысяч человек [16]. В XX веке в течение нескольких десятилетий до конца 80-х годов на территории города Чапаевска на химическом предприятии «Средне-Волжский завод химикатов» (ОАО «СВЗХ») осуществлялся выпуск различных хлороорганических соединений, таких как линдан (смесь гексахлорци-

клогексанов), гексахлорбензол, пентахлорфенол, а также 1,2,4-трихлорбензол, который использовался для изготовления содержащей ПХБ смеси – «Совтол-10» [8]. В результате интенсивной производственной деятельности произошло загрязнение территории предприятия и прилегающих городских территорий токсичными поллютантами. В 2005 году завод был ликвидирован, однако из-за устойчивости хлорароматиков, в частности ПХБ, их способности к аккумуляции почвами и грунтами территория завода до настоящего времени остается источником загрязнения и неблагоприятного воздействия на людей. Проведенные с 1998 года комплексные исследования выявили высокое содержание ПХБ в грудном молоке женщин, крови людей, пищевых продуктах местного производства [16]. Также установлено, что в результате загрязненности территории города ПХБ отмечаются неблагоприятные изменения различных показателей состояния здоровья населения, в частности высокий уровень злокачественных новообразований, нарушений эндокринной системы, врождённых пороков развития, нарушений репродуктивной функции и др. [7]. Поэтому для предотвращения данного негативного воздействия на человека необходима разработка технологий очистки загрязненных ПХБ территорий. Основным методом очистки и восстановления почв и грунтов, загрязненных ПХБ, является биоремедиация, основанная на применении микроорганизмов-деструкторов, разрушающих ПХБ до безопасных соединений [17]. Наиболее перспективной технологией, которая может быть использована для детоксикации (уничтожения) и восстановления загрязненных ПХБ почв и грунтов на территории ОАО «СВЗХ» и в черте города Чапаевска, может быть использование ассоциаций аборигенных микроорганизмов-деструкторов.

Цель работы – изучение бактериальных сообществ деструкторов ПХБ загрязненных грунтов предприятия ОАО «СВЗХ», а также оценка возможности использования бактериальных ассоциаций для восстановления загрязненных территорий. Задачи исследования: оценка численности бактерий-деструкторов ПХБ загрязненных грунтов предприятия ОАО «СВЗХ»; определение таксономического состава бактерий-деструкторов ПХБ загрязненных грунтов; отбор наиболее эффективных бактериальных ассоциаций, разлагающих ПХБ, для дальнейшего их использования при очистке загрязненных почв и грунтов.

#### Методы

С промышленных площадок ОАО «СВЗХ» были отобраны 6 проб грунтов, обозначенные Ch1, Ch2, Ch3, Ch4, Ch5, Ch6 (рис. 1). Пробы отбирались из верхнего слоя 20 см глубины по ГОСТ 17.4.4.02-84 [2].

Качественный состав и концентрацию ПХБ в грунтах определяли на хромато-масс-спектрометре Agilent 6890/5973N («Agilent», США) с кварцевой колонкой RESTEK RTx-5MS («Restek», США) в соответствии с ГОСТ Р 53217-2008 [3].

Известно, что биохимические пути деструкции ПХБ

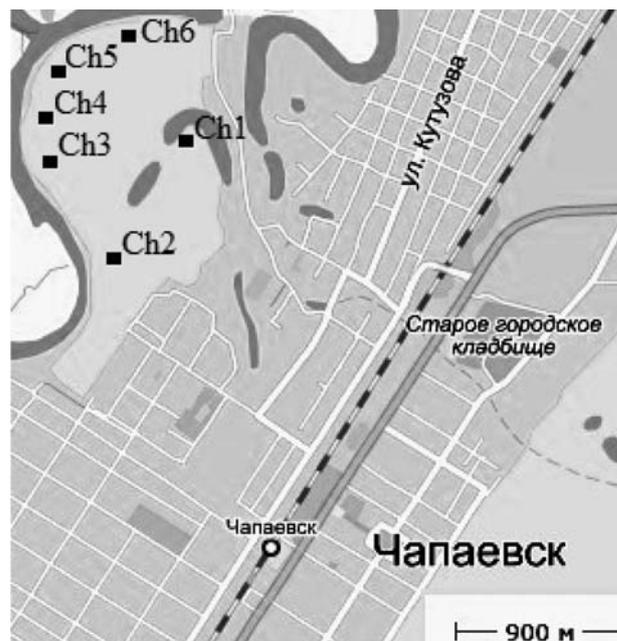


Рис. 1. Места отбора проб на территории бывшего завода ОАО «СВЗХ» (г. Чапаевск)

и бифенила у микроорганизмов совпадают, и, как правило, бактерии, способные к разрушению бифенила, могут разлагать ПХБ [17]. Выделение ассоциаций бактерий-деструкторов и чистых культур, учет численности деструкторов проводили с использованием бифенила в качестве источника углерода и энергии. Ассоциации бактерий-деструкторов бифенила получали методом накопительного культивирования с использованием минеральной среды К1 [4]. Образцы грунта (1 г) вносили в колбы (объем 250 мл), содержащие 100 мл минеральной среды К1 и бифенил (1 г/л). Инкубация проводилась один месяц при 28 °С.

Выделение штаммов-деструкторов из полученных бактериальных ассоциаций, а также учет численности деструкторов бифенила в грунтах проводили путем высева на агаризованную минеральную среду К1. Для получения агаризованной среды К1 вносили агар («Sigma», США) до конечной концентрации 1,5 %. Бифенил в виде кристаллов добавляли на крышку перевернутой чашки Петри. Численность бактерий выражали в количестве колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 г грунта.

Бактерии идентифицировали с помощью анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК. Амплификацию гена 16S рРНК проводили с использованием бактериальных праймеров 27F (5'-AGAGTTTGATC(A/C)TGGCTCAG-3') и 1492R (5'-ACGG(C/T)TACCTTGTACGACTT-3'). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) выполняли как описано [9]. Определение нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК проводили с применением набора реактивов Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit v 3.1 («Applied Biosystems», США) на автоматическом секвенаторе Genetic Analyser 3500XL («Applied Biosystems», США) в соответствии с рекомендациями производителя. Последовательности 16S

рДНК выравнивали с помощью программы CLUSTAL W [18]. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей осуществляли как описано [9].

Предварительный отбор наиболее эффективных ассоциаций микроорганизмов-деструкторов осуществляли по скорости роста на минеральной среде К1 с добавлением бифенила в качестве источника углерода в количестве 1 г/л. Рост бактерий оценивали путем изменения оптической плотности при 600 нм ( $ОП_{600}$ ), которую измеряли в течение 14 суток роста культур в жидкой среде К1 при инкубировании на термостатируемом шейкере (100 об/мин) при температуре 28 °С.

Способность к деструкции ПХБ выделенных бактериальных ассоциаций оценивали в опытах с отмытыми клетками. Культуры выращивали в жидкой среде К1 с бифенилом (1 г/л) при 28 °С до  $ОП_{600} = 1,0$ . Отмытые дважды в среде К1 клетки (1 мл,  $ОП_{600} = 2,0$ ) переносили во флаконы с тефлоновыми крышками. В качестве субстрата вносили технические смеси ПХБ: «Делор 103» – 140 мг/л, «Совол» – 530 мг/л. «Делор 103» и «Совол» представляют собой коммерческие смеси ПХБ, выпускавшиеся промышленностью Чехословакии и СССР соответственно. «Делор 103» содержит дихлорбифенилы ( $\approx 10\%$ ), трихлорбифенилы ( $\approx 50\%$ ), тетрахлорбифенилы ( $\approx 30\%$ ), а также в небольших количествах – пентахлорбифенилы, гексахлорбифенилы, гептахлорбифенилы [12]. «Совол» состоит из смеси тетрахлорбифенилов ( $\approx 20\%$ ), пентахлорбифенилов ( $\approx 50\%$ ), гексахлорбифенилов ( $\approx 20\%$ ), в незначительных количествах в смеси присутствуют также три- и гептахлорбифенилы [1].

Количественный анализ ПХБ в клеточных культурах проводили с использованием газового хроматографа GC6890N («Agilent Technology», США) с масс-селективным детектором MSD5973N («Agilent Technology», США). Культуральную жидкость экстрагировали смесью конц.  $H_2SO_4$  – 12,5 % додецилсульфат натрия – гексан (1:10:25) в течение 60 мин при 30 °С, скорость перемешивания 200 об/мин. Полученные экстракты обезвоживали  $Na_2SO_4$  и анализировали.

Продукты деградации хлорбифенилов в клеточных культурах определяли спектрофотометрически и методом ВЭЖХ [14]. Культуральную жидкость очищали от бактериальных клеток центрифугированием (9 660 г в течение 3 мин на центрифуге miniSpin («Eppendorf», Германия). Надосадочная жидкость использовалась для дальнейших анализов. Образование продуктов *мета*-расщепления ароматического кольца хлорбифенилов – 2-гидрокси-6-оксо-(хлорфенил) гекса-2,4-диеновые кислоты (ГОФДК) определяли на спектрофотометре UV-Visible BioSpec-mini («Shimadzu», Япония) при  $I_{\max}$  от 390 нм до 440 нм. Наличие в супернатанте хлорбензойных (ХБК) и гидроксibenзойных ((ОН)БК) кислот определяли на хроматографе LC-20A («Shimadzu», Япония) с колонкой Discovery C18 (150×4,6 мм) («Supelco», «Sigma-Aldrich», США) и УФ-детектором при 205 нм. Анализ проводили в системе ацетонитрил-0,1 %

$H_3PO_4$  (70:30). Идентификацию проводили с помощью сравнения времени удержания на колонке исследуемых и стандартных соединений. Количество образовавшихся продуктов оценивали по величине площади и высоты пиков на хроматограмме относительно данных величин стандартных соединений.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы STATISTICA 6.0. Для описания результатов исследования применяли стандартные методы параметрической статистики: рассчитывали среднее арифметическое ( $M$ ), стандартное отклонение ( $SD$ ). Сравнение двух групп проводилось при помощи двустороннего критерия Стьюдента. Критическим уровнем значимости принимался в данном исследовании 0,05.

### Результаты

Территория ОАО «СВЗХ» (г. Чапаевск) длительное время загрязнялась полихлорированными бифенилами [16]. Во всех пробах грунта, отобранных на территории предприятия, отмечено превышение ПДК по ПХБ. Наиболее загрязненными являлись пробы Ch2 и Ch4, уровень ПДК в которых превышен в 17,9 и 12,2 раза соответственно (табл. 1). Менее загрязненными были пробы грунтов Ch1, Ch3, Ch5, Ch6 с превышением концентрации ПХБ по ПДК в 3,6; 5,4; 4,8 и 6,8 раза соответственно. Спектр ПХБ, обнаруженных в пробах, соответствовал составу коммерческой смеси ПХБ «Совол».

Таблица 1  
Географическое положение, суммарное содержание ПХБ и численность бактерий-деструкторов бифенила в исследованных грунтах

Название проб	Географическое положение точек отбора проб	Концентрация ПХБ, мг/кг (превышение ПДК)*	Численность бактерий-деструкторов бифенила, КОЕ/г
Ch1	53°00'02.5"N 49°42'00.4"E	0,21±0,03 (3,5)	(4,0±0,2)×10 <sup>6</sup>
Ch2	52°59'39.4"N 49°41'37.4"E	1,07±0,09 (17,8)	(1,5±0,1)×10 <sup>7</sup>
Ch3	52°59'56.8"N 49°41'13.0"E	0,33±0,02 (5,5)	(6,8±0,3)×10 <sup>6</sup>
Ch4	53°00'03.5"N 49°41'09.9"E	0,73±0,08 (12,2)	(8,2±0,4)×10 <sup>6</sup>
Ch5	53°00'08.7"N 49°41'11.0"E	0,29±0,02 (4,8)	(4,6±0,2)×10 <sup>6</sup>
Ch6	53°00'18.2"N 49°41'32.0"E	0,41±0,06 (6,8)	(8,6±0,4)×10 <sup>6</sup>

Примечание. \* – для почв, загрязненных ПХБ, ПДК составляет 0,06 мг/кг [6].

В исследованных пробах грунтов были выявлены сообщества бактерий-деструкторов бифенила. При этом численность бактерий-деструкторов бифенила в грунтах зависела от концентрации в них ПХБ. Наибольшее количество бактерий-деструкторов ( $1,5 \times 10^7$ ) выявлено в образце Ch2, содержащем наиболее высокую концентрацию ПХБ, наименьшее ( $4,0 \times 10^6$  и  $4,6 \times 10^6$ ) – в образцах Ch1 и Ch5 с наименьшим содержанием ПХБ (см. табл. 1).

Методом накопительного культивирования из загрязненных грунтов были получены 6 ассоциаций бактерий-деструкторов бифенила, обозначенные аналогично пробам грунта (Ch1, Ch2, Ch3, Ch4, Ch5, Ch6). Изучение состава ассоциаций бактерий-деструкторов бифенила показало, что в ассоциации Ch1 преобладают представители родов *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, ассоциации Ch2 – штаммы родов *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Microbacterium*, Ch3 – штаммы рода *Pseudomonas*, Ch4 – штаммы рода *Acinetobacter*, Ch5 – штаммы, принадлежащие родам *Acinetobacter*, *Bacillus*, Ch6 – штаммы, принадлежащие родам *Pseudomonas*, *Rhodococcus* (табл. 2).

Таблица 2

Идентификация бактерий, выделенных из бактериальных ассоциаций		
Штамм	Близкородственные типовые штаммы (по гену 16S рРНК)	Сходство, %
Ch1-2	<i>Achromobacter marplatensis</i> B2 <sup>†</sup>	99,9
Ch4-6, Ch5-1	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> DSM 30006 <sup>†</sup>	99,9
Ch1-C1, Ch2-7	<i>Arthrobacter oryzae</i> KV-651 <sup>†</sup>	99,9
Ch5-7	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579 <sup>†</sup>	100
	<i>Bacillus anthracis</i> ATCC 14578 <sup>†</sup>	100
Ch1-C6, Ch5-6	<i>Bacillus simplex</i> NBRC 15720 <sup>†</sup>	100
Ch2-8	<i>Microbacterium maritipicum</i> DSM 12512 <sup>†</sup>	100
	<i>Microbacterium oxydans</i> DSM 20578 <sup>†</sup>	100
Ch3-2	<i>Pseudomonas benzenivorans</i> DSM 8628 <sup>†</sup>	100
Ch3-4	<i>Pseudomonas geniculata</i> ATCC 19374 <sup>†</sup>	98,6
Ch1-C3, Ch1-C7, Ch2-1, Ch3-9, Ch6-5, Ch6-7	<i>Pseudomonas monteilii</i> CIP 104883 <sup>†</sup> <i>Pseudomonas plecoglossicida</i> FPC951 <sup>†</sup>	99,7
Ch6-511	<i>Rhodococcus wratislaviensis</i> BCIMB 13082 <sup>†</sup>	100
	<i>Rhodococcus opacus</i> DSM 43205 <sup>†</sup>	100

**Примечание.** Жирным шрифтом выделена часть номера штамма, соответствующая обозначению ассоциации бактерий, из которой данный штамм был выделен.

Для дальнейшей работы были отобраны ассоциации бактерий-деструкторов Ch2 и Ch6, показавшие наиболее активный рост на среде с бифенилом. Через 14 суток оптическая плотность ассоциации бактерий, полученной из накопительной культуры почвы Ch2, составляла 0,572 о. е., а из накопительной культуры почвы Ch6 – 0,642 о. е. (рис. 2). В опытах с отмытыми клетками было установлено, что ассоциации Ch2 и Ch6 разлагают 99,98 % смеси ПХБ «Делор 103» и 99,96 % смеси ПХБ «Совол» в течение 8 суток, при этом в среде культивирования фиксируется накопление промежуточных продуктов деструкции ПХБ (ГОФДК, ХБК, (ОН)БК) с последующей их утилизацией (табл. 3).

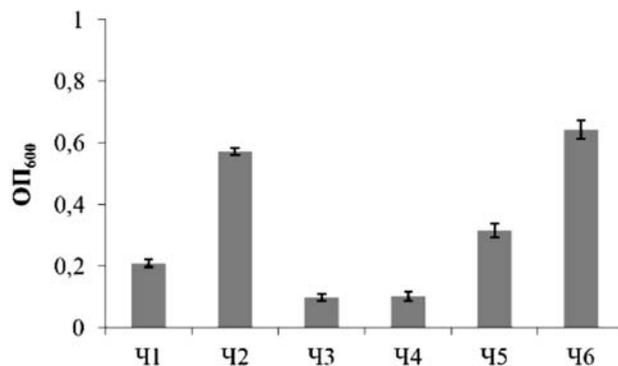


Рис. 2. Рост ассоциаций бактерий на среде К1 с бифенилом (1 г/л) через 14 суток

Таблица 3

Деструкция коммерческих смесей ПХБ ассоциациями бактерий					
Ассоциация	Время деструкции, сутки	Концентрация смеси ПХБ, мг/л	Промежуточные продукты		
			ГОФДК, о.е.	ХБК, мкг/л	(ОН)БК, мкг/л
«Делор 103»					
Ch2	1	0,58±0,02	6,45±0,01	0,06±0,02	0,15±0,02
	4	0,47±0,02	4,91±0,02	0,05±0,02	0,05±0,02
	8	0,03±0,01	4,12±0,01	0,02±0,01	0,02±0,01
Ch6	1	1,17±0,03	1,97±0,01	0,29±0,01	0,99±0,01
	4	0,66±0,02	1,29±0,01	0,08±0,02	0,47±0,01
	8	0,03±0,01	0,86±0,02	0,04±0,01	0,07±0,01
«Совол»					
Ch2	4	0,51±0,02	0,47±0,04	0,03±0,01	0,04±0,01
	8	0,23±0,02	0,53±0,03	0,02±0,01	0,03±0,01
Ch6	4	0,49±0,01	0,32±0,04	0,06±0,02	0,04±0,01
	8	0,19±0,01	0,14±0,02	0,04±0,01	0,02±0,01

**Примечание.** о.е. – оптические единицы; ГОФДК – 2-гидроксо-6-оксо-(хлорфенил)гекса-2,4-диеновые кислоты; ХБК – хлорбензойные кислоты; (ОН)БК – гидроксibenзойные кислоты.

### Обсуждение результатов

Несмотря на опасность ПХБ из-за их токсичности и широкой распространенности, микробные сообщества деструкторов ПХБ загрязненных экосистем изучены недостаточно. В результате проведенных нами исследований показано, что бактерии-деструкторы бифенила/полихлорированных бифенилов (ПХБ) являются частью микробного сообщества загрязненных грунтов на территории ОАО «СВЗХ» (г. Чапаевск, Самарская область). Численность бактерий-деструкторов бифенила, которые потенциально способны разлагать ПХБ, в исследованных загрязненных грунтах составляла  $4,0 \times 10^6 - 1,5 \times 10^7$ . При этом с увеличением концентрации в грунтах ПХБ отмечено повышение численности бактерий-деструкторов бифенила. Сходные результаты были получены на примере морских экосистем, для которых установлено, что численность ПХБ-трансформирующих и ПХБ-толерантных бактерий также зависит главным образом от загрязненности ПХБ [5]. Наличие бактерий-деструкторов ПХБ в

загрязненных средах свидетельствует о способности экосистем к самоочищению, в то же время длительное сохранение ПХБ в исследованных грунтах указывает на медленную скорость данного процесса и на необходимость проведения мероприятий по их очистке.

В бактериальном сообществе деструкторов бифенила/ПХБ загрязненных грунтов на территории ОАО «СВЗХ» выявлены представители родов *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Microbacterium*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Rhodococcus*. Проведенные исследования состава микробного сообщества почв/грунтов, загрязненных ПХБ, в окрестностях г. Виттенберг (Германия) показали, что большая часть сообщества была представлена микроорганизмами, относящимися к классу *Betaproteobacteria*, в частности к родам *Burkholderia*, *Variovorax*, *Xylophilus*, *Nevskia* и *Sphingomonas* [15]. В меньшем количестве были представлены бактерии, относящиеся к классам *Alphaproteobacteria* (*Rhodopila globiformis*) и *Acidobacteria* (*Acidobacterium capsulatum*). Представители класса *Actinobacteria* присутствовали в незначительном количестве. Наибольшей деградативной активностью по отношению к ПХБ в данных почвах обладали бактерии рода *Burkholderia*. В другом исследовании загрязненных почв/грунтов, отобранных в различных областях Германии, напротив, было показано доминирование представителей класса *Actinobacteria* (роды *Rhodococcus*, *Nocardiopsis*, *Terrabacter*) с преобладанием *Rhodococcus opacus*, в меньшей степени были представлены роды *Bacillus* (класс *Bacilli*), *Alcaligenes* (класс *Betaproteobacteria*) и *Yersinia* (класс *Gammaproteobacteria*) [19]. В сообществах бактерий-деструкторов бифенила/ПХБ, которые были получены из грунтов, отобранных в разных местах на территории ОАО «СВЗХ» (см. рис. 1), доминировали представители классов: *Actinobacteria* – в ассоциациях Ch1, Ch2 и Ch6, *Alphaproteobacteria* – в ассоциации Ch1, *Bacilli* – в ассоциации Ch1, Ch5, *Gammaproteobacteria* – в ассоциациях Ch1, Ch2, Ch3, Ch4, Ch5, Ch6 (см. табл. 2). Данные различия таксономического состава бактерий сообществ деструкторов бифенила/ПХБ обусловлены, вероятно, отличием экологических условий (влажностью, содержанием элементов минерального питания, концентрацией сопутствующих загрязнителей и т. д.).

Следует отметить, что в реальности почвы и грунты, как правило, загрязнены не отдельными конгенерами ПХБ, а их смесями различного состава. Выделенные нами бактериальные ассоциации Ch2 и Ch6 способны к эффективному разложению смесей «Делор 103» и «Совол». Ранее описана способность к деструкции промышленной смеси ПХБ «Делор 103» для трех бактериальных сообществ, выделенных из районов, загрязненных ПХБ [10]. Два микробных сообщества осуществляли деградацию изомеров ПХБ с небольшим количеством заместителей в молекуле (ди- и трихлорбифенилов), одно из бактериальных сообществ осуществляло 50 % деструкцию 28 изомеров ПХБ, входящих в состав данной коммерческой

смеси. При этом известно лишь несколько штаммов, эффективно разлагающих широкий спектр ПХБ [13], и до настоящего времени отсутствуют коммерческие биопрепараты для эффективной очистки почв и грунтов, загрязненных смесью «Совол». Таким образом, выделенные бактериальные ассоциации могут быть использованы для разработки новых экобиотехнологий очистки загрязненных ПХБ почв и грунтов.

*Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках Соглашения № 14.574.21.0028 от 17 июня 2014 г. (уникальный идентификатор RFMEFI57414X0028).*

#### Список литературы

1. Горбунова Т. И., Первова М. Г., Забелина О. Н., Салоутин В. И., Чупахин О. Н. Полихлорбифенилы: Проблемы экологии, анализа и химической утилизации. М. : КРАСАНД ; Екатеринбург : УрО РАН, 2011. 400 с.
2. ГОСТ 17.4.3.01-82. Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб. Введ. 1983-01-01. М. : Госстандарт, 1983. 8 с.
3. ГОСТ Р 53217-2008. Качество почвы. Определение содержания хлорорганических пестицидов и полихлорированных бифенилов. Газохроматографический метод с электрозахватным детектором. Введ. 2010-01-01. М. : Стандартинформ, 2009. 23 с.
4. Зайцев Г. М., Карасевич Ю. Н. Подготовительный метаболизм 4-хлорбензойной кислоты у *Arthrobacter globiformis* // Микробиология. 1981. Т. 50. С. 423–428.
5. Мошарова И. В., Ильинский В. В., Мошаров С. А., Азовский А. И. Распространение полихлорбифенил-трансформирующих и полихлорбифенил-толерантных бактерий в морях умеренных и полярных широт с различными уровнями загрязнения полихлорированными бифенилами // Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. 2013. № 1. С. 28–35.
6. О рекомендациях для целей инвентаризации на территории Российской Федерации производств, оборудования, материалов, использующих или содержащих ПХБ, а также ПХБ-содержащих отходов : приказ Госкомэкологии РФ № 165 от 13.04.1999 г.
7. Ревич Б. А. Стойкие органические загрязнители в местных продуктах питания: риски для здоровья населения. Самара : Изд-во Ас Гард, 2014. 48 с.
8. Федоров Л. А. Диоксины как экологическая опасность: ретроспектива и перспективы. М. : Наука, 1993, 266 с.
9. Ananina L. N., Yastrebova O. V., Demakov V. A., Plotnikova E. G. Naphthalene-degrading bacteria of the genus *Rhodococcus* from the Verkhnekamsk salt mining region of Russia // Antonie van Leeuwenhoek. 2011. Vol. 100. Iss. 2. P. 309–316.
10. Bokvajova A., Burkhard J. Screening and separation of microorganisms degrading PCBs // Environmental Health Perspectives Supplements. 1994. Vol. 102. P. 552–559.
11. Final act of the Conference of Plenipotentiaries on the Stockholm convention on persistent organic pollutants, Stockholm, 22-23 May // UNEP/POPS/CONF/4. United Nations Environment Programme. Geneva, 2001. 44 p.
12. Grabic R., Hansen L. G., Ptak A., Crhova S., Gregoraszczyk E. Differential accumulation of low-chlorinated (Delor 103) and high-chlorinated (Delor 106) biphenyls in human placental tissue and opposite effects on conversion of DHEA to E2 // Chemosphere. 2006. Vol. 62. P. 573–580.

13. Kim S., Picardal F. W. Microbial growth on dichlorobiphenyls chlorinated on both rings as a sole carbon and energy source // *Appl. Environ. Microbiol.* 2001. Vol. 64. P. 1953–1955.

14. Maltseva O. V., Tsoi T. V., Quensen J. F., Fukuda M., Tiedje J. M. Degradation of anaerobic reductive dechlorination products of Aroclor 1242 by four aerobic bacteria // *Biodegradation.* 1999. Vol. 10. P. 363–371.

15. Nogales B., Moore E. R., Llobet-Brossa E., Rossello-Mora R., Amann R., Timmis K. N. Combined use of 16S ribosomal DNA and 16S rRNA to study the bacterial community of polychlorinated biphenyl-polluted soil // *Appl. Environ. Microbiol.* 2001. Vol. 67. P. 1874–1884.

16. Revich B., Sergeev O., Shelepchikov A., Brodsky E., Zeilert V., Kretov I. Chapaevsk, Russia: POPs in the environment, food, breast milk and blood of local resident. recommendations for environmental remediation // *Organogalogen compounds.* 2006. Vol. 68. P. 2351–2354.

17. Seeger M., Pieper D. H. Genetics of biphenyl biodegradation and co-metabolism of PCBs // *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology.* Berlin, Heidelberg : Springer-Verlag, 2010. P. 1179–1200.

18. Thompson J. D., Higgins D. G., Gibson T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment son // *Nucleic. Acids. Res.* 1994. Vol. 22. P. 4673–4680.

19. Wagner-Dobler I., Bennasar A., Vancanneyt M., Strompl C., Brummer I., Eichneer C., Grammel I., Moore E. B. Microcosm enrichment of biphenyl-degrading microbial communities from soils and sediments // *Appl. Environ. Microbiol.* 1998. Vol. 64. P. 3014–3022.

#### References

1. Gorbunova T. I., Petrova M. G., Zabelin O. N., Salloutin V. I., Chupahin O. N. *Polihlorobifenily: Problemy jekologii, analiza i himicheskoy utilizacii* [Polychlorinated biphenyls: Environmental issues, analysis and chemical recycling]. Moscow, Yekaterinburg, 2011, 400 p.

2. GOST 17.4.3.01-82. *Ohrana prirody. Pochvy. Obshhie trebovaniya k otboru prob* [Protection of Nature. Soils. General requirements for sampling]. Introduced 1983-01-01. Moscow, 1983, 8 p.

3. GOST R 53217-2008. *Kachestvo pochvy. Opredelenie sodержaniya hlororganicheskikh pesticidov i polihlorirovannykh bifenilov* [Soil quality. Determination of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls content. Gaschromatographic method with electron capture detection]. Introduced 2010-01-01. Moscow, 2009, 23 p.

4. Zaitsev G. M., Karasevich Y. N. Preparative metabolism of 4-chlorobenzoic acid in *Arthrobacter globiformis*. *Mikrobiologiya* [Microbiology]. 1981, 50, pp. 423-428. [in Russian]

5. Mosharova I. V., Il'inskii V. V., Mosharov S. A., Azovskii A. I. Distribution of polychlorinated biphenyls-transforming and polychlorinated biphenyls-tolerant bacteria in the seas of the temperate and polar latitudes with different levels of polychlorinated biphenyls. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16. Biologiya* [Moscow University Biological Sciences Bulletin]. 2013, 68 (2), pp. 75-82. [in Russian]

6. *O rekomendacijah dlja celej inventarizacii na territorii Rossijskoj Federacii proizvodstv, oborudovanija, materialov, ispol'zujushhij ili sodержashhij PHB, a takzhe PHB-sodержashhij othodov* [On recommendations for inventory in Russia production, equipment, materials, using or containing PCBs and PCB-containing waste]. Order SCEP no. 165 from 13.04.1999.

7. Revich B. A. *Stojkie organicheskie zagryzhateli v mestnyh produktah pitanija: riski dlja zdorov'ja naselenija* [Persistent organic pollutants in local food: the risks to public health]. Samara, 2014, 48 p.

8. Fedorov L. A. *Dioksiny kak jekologicheskaja opasnost': retrospektiva i perspektivy* [Dioxins as a ecological danger: retrospective and perspective]. Moscow, Nauka Publ., 1993, 266 p.

9. Ananina L. N., Yastrebova O. V., Demakov V. A., Plotnikova E. G. Naphthalene-degrading bacteria of the genus *Rhodococcus* from the Verkhnekamsk salt mining region of Russia. *Antonie van Leeuwenhoek.* 2011, 100, iss. 2, pp. 309-316.

10. Bokvajova A., Burkhard J. Screening and separation of microorganisms degrading PCBs. *Environmental Health Perspectives Supplements.* 1994, 102, pp. 552-559.

11. Final act of the Conference of Plenipotentiaries on the Stockholm convention on persistent organic pollutants, Stockholm, 22-23 May. *UNEP/POPS/CONF/4. United Nations Environment Programme.* Geneva, 2001, 44 p.

12. Grabic R., Hansen L. G., Ptak A., Crhova S., Gregoraszcuk E. L. Differential accumulation of low-chlorinated (Delor 103) and high-chlorinated (Delor 106) biphenyls in human placental tissue and opposite effects on conversion of DHEA to E2. *Chemosphere.* 2006, 62, pp. 573-580.

13. Kim S., Picardal F. W. Microbial growth on dichlorobiphenyls chlorinated on both rings as a sole carbon and energy source. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001, 64, pp. 1953-1955.

14. Maltseva O. V., Tsoi T. V., Quensen J. F., Fukuda M., Tiedje J. M. Degradation of anaerobic reductive dechlorination products of Aroclor 1242 by four aerobic bacteria. *Biodegradation.* 1999, 10, pp. 363-371.

15. Nogales B., Moore E. R., Llobet-Brossa E., Rossello-Mora R., Amann R., Timmis K. N. Combined use of 16S ribosomal DNA and 16S rRNA to study the bacterial community of polychlorinated biphenyl-polluted soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001, 67, pp. 1874-1884.

16. Revich B., Sergeev O., Shelepchikov A., Brodsky E., Zeilert V., Kretov I. Chapaevsk, Russia: POPs in the environment, food, breast milk and blood of local resident. recommendations for environmental remediation. *Organogalogen compounds.* 2006, 68, pp. 2351-2354.

17. Seeger M., Pieper D. H. Genetics of biphenyl biodegradation and co-metabolism of PCBs. *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology.* Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag, 2010, pp. 1179-1200.

18. Thompson J. D., Higgins D. G., Gibson T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment son. *Nucleic. Acids. Res.* 1994, 22, pp. 4673-4680.

19. Wagner-Dobler I., Bennasar A., Vancanneyt M., Strompl C., Brummer I., Eichneer C., Grammel I., Moore E. B. Microcosm enrichment of biphenyl-degrading microbial communities from soils and sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 1998, 64, pp. 3014-3022.

#### Контактная информация:

Назаров Алексей Владимирович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН (ИЭГМ УрО РАН); доцент кафедры ботаники и генетики растений Пермского государственного национального исследовательского университета

Адрес: 614081, г. Пермь, ул. Голева, 13

E-mail: nazarov@iegm.ru