








¹А.М. Мәлік , ¹Г.Ж. Абдиева ,
¹П.С. Уалиева , ¹А.А. Жұбанова , ²А.Т. Артманн ,
¹Н.Ш. Акимбеков , ¹К.Т. Тастамбек 

¹Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы,
e-mail: azhar.malikkyzy@gmail.com

²Университет прикладных наук им. Ф.Х. Аахена Институт биоинженерии (IfB), Германия, г. Аахен

СКРИНИНГ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ ХЛОРОРГАНИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ

Аннотация. В настоящее время одной из экологических проблем является загрязнение природных экосистем стойкими органическими загрязнителями, обладающими высокой токсичностью. Пестициды, в том числе хлорорганические соединения, представляют особую опасность для окружающей среды и человека. Токсичные вещества из хранилищ для пестицидов могут вызвать серьезную угрозу для всех живых организмов.

В связи с вышесказанным целью данного исследования явилось изучение микробного разнообразия почвы с места захоронения пестицидов и скрининг перспективных микроорганизмов-деструкторов СОЗ и продуктов их распада. В связи с этим было проведено определение микробного разнообразия образцов почв взятых на территории Алматинской области, прилегающей к местам захоронения пестицидов.

Пробы почвенных образцов отбирали из 7 точек (п. Кызылкайрат, п. Бескайнар, п. Амангельды №1, п. Амангельды №2, п. Бельбулак, Бригада-2 – АО Племзавод «Алматы», п. Басшы (контроль)) на территории Талгарского района Алматинской области, прилегающей к местам захоронения пестицидов. В результате исследований были отобраны штаммы микроорганизмов-деструкторов, обладающие деструктивной активностью в отношении стойких органических загрязнителей. Эти штаммы могут быть использованы для создания биопрепарата, для очистки почвы, загрязненных хлорорганическими пестицидами.

Ключевые слова: хлорорганические пестициды, микробное разнообразие, скрининг, микроорганизмы-деструкторы, идентификация, химические загрязнители.

¹A.M. Malik, ¹G.Zh. Abdieva, ¹P.S. Ualieva, ¹A.A. Zhubanova,
²A.T. Artmann, ¹N.Sh. Akimbekov, ¹K.T. Tastambek
¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty,
e-mail: azhar.malikkyzy@gmail.com

²University of Applied Sciences F.H. Aachen Institute of Bioengineering (IfB),
Germany, Aachen

Screening of microorganisms – destructors of chlororganic pollutants

Abstract. At present, one of their ecological problems is the contamination of natural ecosystems by persistent organic pollutants, which have a high toxicity. Pesticides, including organochlorine compounds, are particularly hazardous for the environment and human. Toxic substances from pesticide storage facilities can pose a serious threat to all living organisms

In connection with the above, the goal of this study was to study the microbial diversity of soil from the burial place of pesticides and screening promising microorganisms – POP destructors and their decay products. In this regard, the microbial diversity of soil samples was taken from the territory of the Almaty region adjacent to the burial sites of pesticides.

Soil samples were taken from 7 points (v. Kyzylkayrat, v. Beskainar, v. Amangeldy №1, v. Amangeldy №2, v. Belbulak, v. Brigada-2 – Almaty Plemzavod, v. Bashy (control) of the Talgar territory the area of Almaty region adjacent to the pesticide burial sites. As a result of studies, strains of microorganisms- destructors with destructive activity against persistent organic pollutants were selected. These strains can be used to create a biological product, to clean up soil contaminated with chlorine pesticides.

Key words: organochlorine pesticides, microbial diversity, screening, destructive microorganisms, identification, chemical pollutants.

¹А.М. Мәлік, ¹Г.Ж. Абдиева, ¹П.С. Уалиева, ¹А.А. Жұбанова,
²А.Т. Артманн, ¹Н.Ш. Акимбеков, ¹К.Т. Тастамбек

¹әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.,
e-mail: azhar.malikkyzy@gmail.com

²Ф.Х. Аахен атындағы қолданбалы ғылым университеті, Биоинженерия институты (IfB),
Германия, Аахен қ.

Хлорорганикалық ластағыштардың деструктор-микроорганизмдердің скринингі

Аңдатпа. Қазіргі таңда өзекті экологиялық проблемалардың бірі табиғи объектілердің токсинділігі жоғары тұрақты органикалық қосылыстармен ластануы болып табылады. Пестицидтердің ішінде, хлорорганикалық қосылыстар қоршаған орта мен адам үшін аса қауіптілігімен ерекшеленеді. Пестицидтерге арналған қоймалардың токсинді заттары барлық тірі организмдер үшін үлкен қауіп төндіруі мүмкін.

Жоғарыда айтылған мәселені шешуге байланысты зерттеудің мақсаты пестицидтермен көмілген орындардан бөлініп алынған топырақтың микробтық алуантүрлілігін зерттеу және тұрақты органикалық қосылыстардың перспективті деструктор-микроорганизмдерінің скринингін жүргізу. Осыған байланысты Алматы облысының пестицидтермен көмілген жерлеріне жақын орналасқан аумақтан бөлініп алынған топырақ үлгілерінің микробтық алуантүрлілігін анықтау жүргізілді.

Топырақ үлгілерінің сынамалары 7 аймақтан (Қызылқайрат, Бесқайнар, Амангелді №1, Амангелді №2, Белбұлақ, Бригада-2 – «Алматы» Племзавод, Басшы аумақтарынан (бақылау) алынды. Зерттеулер нәтижелеріне сәйкес тұрақты органикалық ластағыштарға төзімді деструктивті белсенділігі жоғары, деструктор-микроорганизм штамдары іріктеліп алынды. Бұл штамдар хлорорганикалық пестицидтермен ластанған топырақты тазалау процесінде биопрепарат жасауда қолданылуы мүмкін.

Түйін сөздер: хлорорганикалық пестицидтер, микробтық алуантүрлілік, скрининг, деструктор-микроорганизмдер, идентификация, химиялық ластағыштар.

Введение

Стойкие органические загрязнители (СОЗ) представляют собой токсичные органические соединения, которые устойчивы к большинству процессов деградации в окружающей среде, и следовательно, они имеют тенденцию сохраняться в окружающей среде, таким образом, биоаккумулируясь в организмах и биомагнифицируясь вдоль пищевых цепей и пищевых сетей в экосистемах [1].

СОЗ имеют тенденцию сохраняться в окружающей среде в течение длительных периодов времени, способны переносить на большие расстояния, биоаккумулироваться в тканях человека и животных и биомагнифицироваться в пищевых цепях и пищевых сетях и могут оказывать существенное неблагоприятное воздействие на здоровье человека и окружающую среду [2].

Воздействие СОЗ может вызвать серьезные проблемы со здоровьем, включая некоторые виды рака, врожденные дефекты, дисфункциональную иммунную и репродуктивную системы, большую подверженность болезням и даже снижение интеллекта [3]. Из всех известных на

сегодняшний день СОЗ хлорорганические соединения, включая полихлорированные дибензо-пдиоксины, полихлорированные дибензофураны и полихлорированные дифенилы, получили наибольшее внимание из-за их стойкости в окружающей среде, биоаккумуляции, биомагнификация и опасные воздействия на биоту [4].

Несмотря на то, что СОЗ устойчивы к большинству процессов разложения в окружающей среде, в окружающей среде возможны некоторые молекулярные изменения, которые не обязательно приводят к более простым и менее токсичным соединениям [5]. Некоторые из метаболитов СОЗ одинаково сложны и даже более токсичны, чем исходные молекулы. Большинство процессов деградации СОЗ в окружающей среде помогают микроорганизмы. Тем не менее, периоды полураспада процессов биodeградации СОЗ значительно продолжительны, что объясняет их стойкость в окружающей среде [6].

В связи с вышесказанной целью данного исследования явилось изучение микробного разнообразия почвы с места захоронения пестицидов и скрининг перспективных микроорганизмов-деструкторов СОЗ и продуктов их распада.

Материалы и методы исследования

Проведены исследования по изучению микробного разнообразия образцов почв территории Алматинской области, прилегающей к местам захоронения пестицидов, и контрольные образцы. Пробы образцов почвы отбирали из 7 точек (п. Кызылкайрат, п. Бескайнар, п. Амангельды №1, п. Амангельды №2, п. Бельбулак, Бригада-2 – АО Племзавод «Алматы», п. Басшы (контроль) территории Талгарского района Алматинской области, прилегающей к местам захоронения пестицидов.

Отбор и подготовка проб к микробиологическому анализу.

Для отбора проб используют чистые стерильные стеклянные флаконы с плотно закрывающимися резиновыми пробками и колпачками из плотной бумаги.

Пробы почвы отбираются на каждом из участков в пяти точках по диагонали или по «конверту» (четыре точки по углам и одна в центре). Для приготовления среднего образца объемом 0,5 кг почву всех образцов одного участка высыпают на стерильный плотный лист бумаги и проводят тщательное перемешивание почвы в банке. Величина отобранных навесок почв диктуется степенью ее загрязненности и планируемыми работами. Перед посевом почву диспергируют [7].

Методы изучения микробного разнообразия объектов окружающей среды на территории, прилегающей к местам захоронения пестицидов, и выделения чистых культур из образцов почв.

Изучение микробного разнообразия объектов окружающей среды на территории, прилегающей к местам захоронения пестицидов, и выделение чистых культур из образцов почв проводили традиционными микробиологическими методами [7].

Методы скрининга микроорганизмов-деструкторов химических загрязнителей и методы определения деструктивной активности отобранных перспективных штаммов.

Для поиска деструкторов мы использовали штаммы из доминирующих популяций бактерий. Для этого производили посев всех выделенных штаммов на чашки Петри с агаризованной средой М9 с добавлением пестицида в качестве источника углерода 0,01%, 2,3,5–трифенил-тетразолия хлорида (ТТХ) в качестве индикатора дегидрогеназной активности бактерий [13]. способности микроорганизмов разрушать пестициды свидетельствует окрашивание их

колоний из среды в красный цвет, что указывает на образование трифенилформазана (ТФФ). По этими способностями микроорганизмов отбирали штаммы-деструкторы для дальнейших исследований [8].

Молекулярно-генетическая идентификация выделенных штаммов микроорганизмов-деструкторов.

Идентификацию штаммов проводили методом определения нуклеотидной последовательности фрагмента 16S rRNA гена, с дальнейшим определением нуклеотидной идентичности с последовательностями, депонированными в международной базе данных Gene Bank. Были построены филогенетические деревья с нуклеотидными последовательностями референтных штаммов [9].

Результаты и обсуждение

Изучение микробного разнообразия почвы на территориях, прилегающих к местам захоронения пестицидов Алматинской области

Питание и загрязнение окружающей среды стимулируют адаптацию микроорганизмов и способствуют развитию разнообразных метаболических путей их выживания на нескольких сложных органических соединениях. Стойкие органические загрязнители (СОЗ) имеют высокую липофильную природу и оказывают неблагоприятное воздействие на окружающую среду и здоровье человека в результате биомагнификации через пищевую цепь [10]. Действие хлорорганических соединений на микрофлору почвы оценивают определением наличия их в почве и соотношением различных групп микроорганизмов до и после обработки его пестицидами [11]. Чувствительность различных групп почвенных микроорганизмов к действию пестицидов разная [12]. В почвенной экосистеме обитают различные группы микроорганизмов, поэтому внесенные в нее хлорорганические соединения подвергаются деструктивному действию этих микроорганизмов, разлагающих как данный субстрат, так и продукты его распада.

В связи с этим, в работе было изучено микробное разнообразие образцов почв из следующих точек: п. Кызылкайрат, п. Бескайнар, п. Амангельды №1, п. Амангельды №2, п. Бельбулак, Бригада-2 – АО Племзавод «Алматы». Контролем служили образцы почвы поселка Басшы, Кербулакского района Алматинской области. При исследованиях почвенных проб были определены аммонифицирующие,

целлюлозолитические, азотфиксирующие и гетеротрофные бактерии и плесневые грибы. Эти группы микроорганизмов обеспечивают самоочищающую способность почвы и участвуют в почвообразовательных процессах.

Результаты изучения микробного разнообразия в исследуемых пробах почвы представлены на рисунке 1.

Как видно из рисунка 1, в загрязненных почвах с мест захоронения пестицидов численность аммонифицирующих бактерий составила $1,1 \times 10^7 - 1,0 \times 10^8$ КОЕ/г, гетеротрофных бактерий – $1,1 \times 10^7 - 6,9 \times 10^7$ КОЕ/г, плесневых грибов – $4,2 \times 10^7 - 8,7 \times 10^7$ КОЕ/г и аэробных целлюлозолитических бактерий $9,0 \times 10^6 - 1,7 \times 10^7$ КОЕ/г. В пробах почвы Кызылкайрат доминировали

азотфиксирующие бактерии, в пробах Бескайнар аммонифицирующие бактерий. В почве образца Бельбулак преобладали плесневые грибы. В контрольном образце почвы поселка Басши общее число мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов составило $2,3 \times 10^4 - 5,2 \times 10^8$ КОЕ/г.

Благодаря своим характеристикам, ксенобиотики, пестициды могут отрицательно влиять на размножение полезных почвенных микроорганизмов и связанную с ними биотрансформацию в почве. Применение пестицидов приводит к снижению численности аммонифицирующих бактерий, происходит сдвиг микроценоза целлюлозоразрушающих микроорганизмов в почве [13].

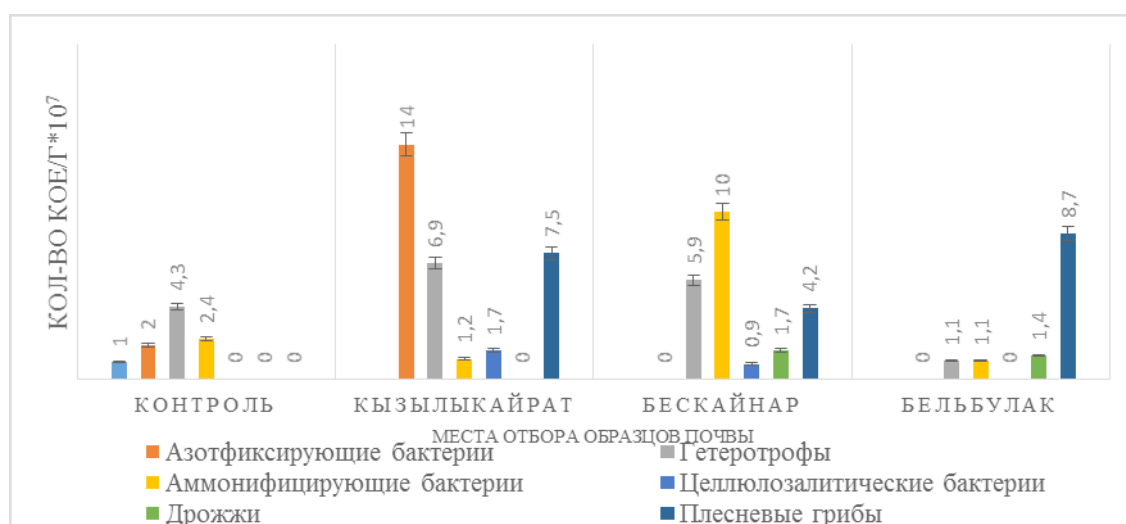


Рисунок 1 – Микробное разнообразие почв Кызылкайрат, Бескайнар и Бельбулак

В дальнейших работах были изучены качественный и количественный состав микрофлоры в исследуемых образцах почвы. На рисунке 2 представлены качественный и количественный состав микрофлоры в образцах почвы Кызылкайрат.

Как показали результаты исследований микробиологического состава почвы Кызылкайрат (рисунок 2), в микрофлоре численность азотфиксирующих бактерий составляет 59%, плесневых грибов 32%, гетеротрофных бактерий – 29%, аэробно-целлюлозолитических бактерий – 7%, аммонифицирующих бактерий – 5% от общего количества микроорганизмов. В микрофлоре почвы Кызылкайрат доминируют азотфиксирующие бактерии, плесневые грибы и гетеротрофные бактерии. Применения стойких

органических загрязнителей приводит к изменению видового состава микроорганизмов в микробных сообществах почв и к смене доминирующих форм микроорганизмов [14, 15]. На рисунках 3, 4 приведены результаты изучения качественного и количественного состава микрофлоры в образцах почвы Бескайнар и Бельбулак.

По результатам исследований в образцах почвы Бескайнар, количество аммонифицирующих бактерий составило 43%, гетеротрофных – 26%, плесневых грибов – 19%, аэробно-целлюлозолитических бактерий – 4%, дрожжеподобных грибов – 8%. В микробиоценозе почвы Бескайнар преобладают группы сапрофитных микроорганизмов, в том числе аммонифицирующие и гетеротрофные бактерии, плесневые грибы.

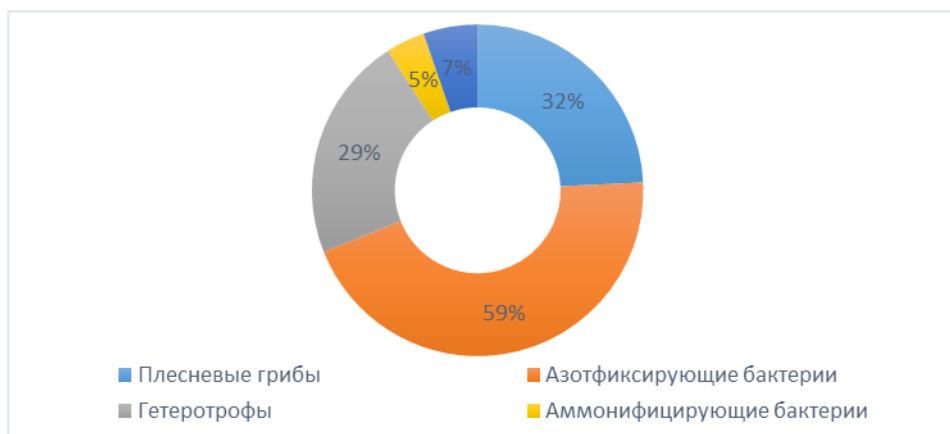


Рисунок 2 – Качественный и количественный состав микрофлоры в образцах почвы п. Кызылкайрат

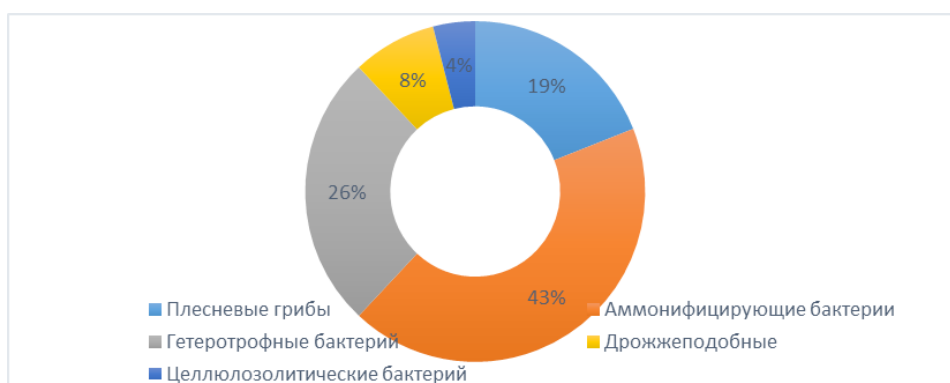


Рисунок 3 – Качественный и количественный состав микрофлоры в образцах почвы Бескайнар

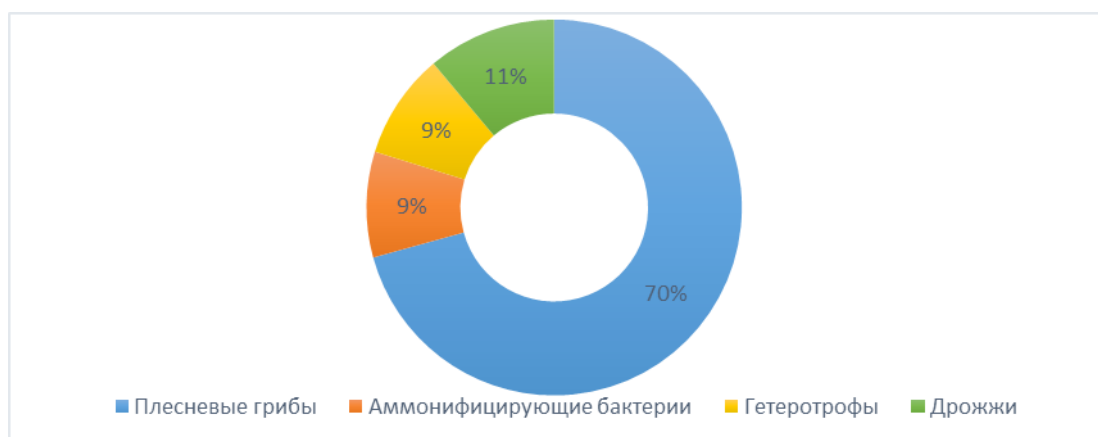


Рисунок 4 – Качественный и количественный состав микрофлоры в образцах почвы п. Бельбулак

Из рисунка 4 видно, что в микрофлоре образцах почвы с мест захоронения пестицидов п. Бельбулак доминируют плесневые грибы,

их количество составило 70%, а также встречаются дрожжи (11%), гетеротрофы (9%) и аммонифицирующие бактерии (9%). Грибы

играют ответственную роль в минерализации органического вещества почв, они разрушают не только клетчатку, но и лигнин. Деятельность грибов особо важна для образования в почве кислот, подкисляющих почвенный раствор, что очень важно для слабощелочной среды исследуемых почв.

На рисунке 5 представлены результаты исследований микробного разнообразия почв точек п. Амангельды №1, Амангельды №2 и п. Племзавод.

Анализ микробиологического состава почвы с мест захоронения пестицидов показал, что в загрязненной почве п. Амангельды №1 численность плесневых грибов составляет $3,5 \times 10^7$ КОЕ/г, гетеротрофов – $3,5 \times 10^7$ КОЕ/г, целлюлозалитических бактерий – $2,9 \times 10^7$ КОЕ/г,

а также численность дрожжей составляет $2,5 \times 10^7$ КОЕ/г. В почве п. Амангельды №2 численность плесневых грибов составляет $9,0 \times 10^7$ КОЕ/г, аэробно-целлюлозолитических бактерий – $6,3 \times 10^7$ КОЕ/г, азотфиксирующих бактерий – $6,0 \times 10^7$ КОЕ/г, аммонифицирующих бактерий – $4,7 \times 10^7$ КОЕ/г, гетеротрофов – $3,2 \times 10^7$ КОЕ/г. В образцах почвы п. Племзавод численность плесневых грибов составила $7,5 \times 10^7$ КОЕ/г, гетеротрофов – $5,4 \times 10^7$ КОЕ/г, аэробно-целлюлозолитических бактерий – $2,7 \times 10^7$ КОЕ/г, аммонифицирующих бактерий – $2,6 \times 10^7$ КОЕ/г, дрожжей – $3,4 \times 10^7$ КОЕ/г.

В ходе работы были изучены качественный и количественный состав микрофлоры в образцах почвы п. Амангельды №1, Амангельды №2, результаты представлены на рисунке 6.

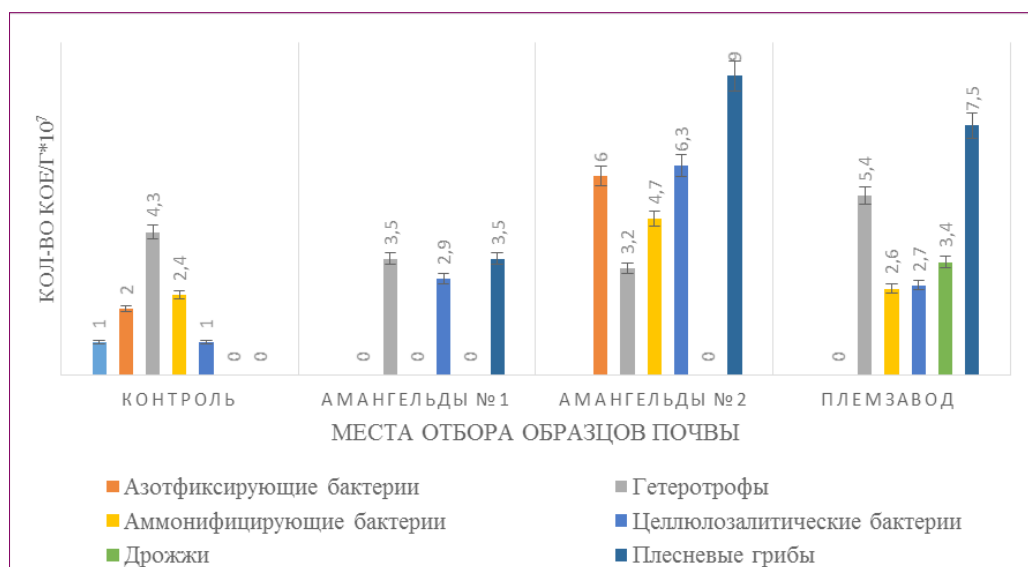


Рисунок 5 – Микробное разнообразие почв п. Амангельды №1, Амангельды №2, п. Племзавод

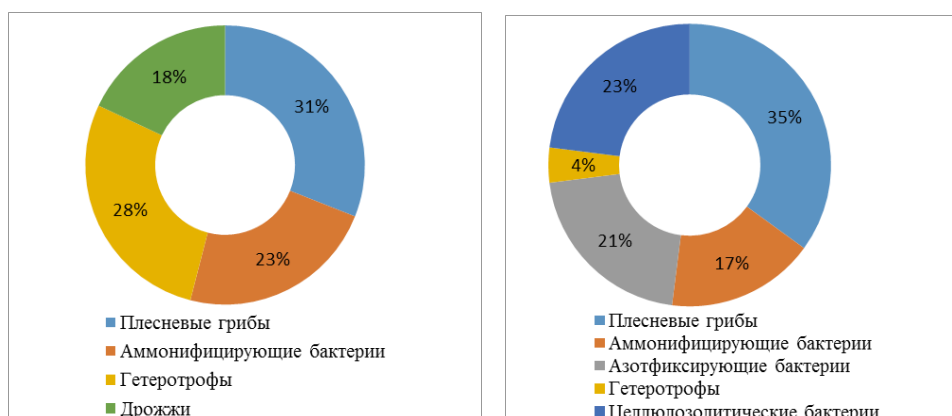


Рисунок 6 – Качественный и количественный состав микрофлоры в образцах почвы п. Амангельды №1 и Амангельды №2

В результате изучения качественного и количественного состава микрофлоры в образцах почвы п. Амангельды №1 было показано, что в микрофлоре доминируют плесневые грибы (31%), гетеротрофные бактерии (28%), аммонифицирующие бактерии (23%), дрожжи (18%). В образцах почв п. Амангельды №2 в микрофлоре доминируют плесневые грибы (35%), азотфиксирующие бактерии (21%), аэробно-целлюлозолитические бактерии (23%), аммонифицирующие бактерии (17%), гетеротрофные бактерии (4%).

В дальнейших исследованиях был изучен качественный и количественный состав микрофлоры в образцах почвы Бригада-2 – АО Племзавод «Алматы» (рис.7).

Исследования качественного и количественного состава микрофлоры в образцах почвы Бригада-2 – АО Племзавод «Алматы» показали, что в микрофлоре доминируют плесневые грибы (39%) и гетеротрофные бактерии (28%). Численность целлюлозолитических, аммонифицирующих бактерий и дрожжей составляет 12%, 11% и 10% соответственно.

Таким образом, в результате изучения микробного разнообразия образцов почв установлено, что основная масса их относится к группе сапрофитов, в том числе, к плесневым грибам, гетеротрофам, азотфиксирующим и аммонифицирующим бактериям.

Скрининг микроорганизмов-деструкторов СОЗ и продуктов их распада

Применение пестицидов было и остается одним из основных путей интенсификации сельскохозяйственного производства. Однако, будучи чужеродными химическими веществами, вносимыми в окружающую среду, они могут представлять опасность для природы и человека [16]. Биотехнологический подход к предупреждению нежелательных для биосферы последствий, основанный на использовании микроорганизмов-деструкторов, способных превращать молекулы ксенобиотиков в безопасные формы, является одним из самых современных и позволяет избежать образования продуктов вторичного загрязнения. Огромная роль в деградации циркулирующих в окружающей среде ксенобиотиков принадлежит почвенным бактериям. Поэтому современный этап исследований микробиологической деструкции ксенобиотиков характеризуется выраженным интересом к изучению физиологических, биохимических и генетических особенностей штаммов-деструкторов, анализу путей биотрансформации указанных соединений [17].

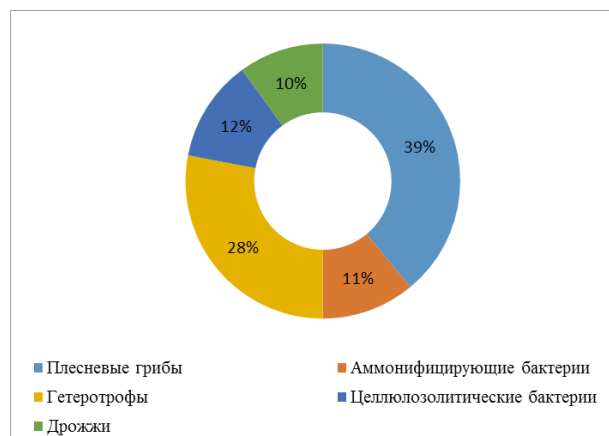


Рисунок 7 – Качественный и количественный состав микрофлоры в образцах почвы Бригада-2 – АО Племзавод «Алматы»

В связи с этим, в дальнейших исследованиях проводился скрининг эффективных микроорганизмов-деструкторов. Для выявления микроорганизмов-деструкторов пестицидов готовили плотную питательную среду с пестицидом. Производили посев на нее исследуемых культур микроорганизмов и культивировали с последующей оценкой их способности разлагать пестициды по образованию зоны, видимой в присутствии индикатора. Посев осуществляют параллельно на среду М 9 с пестицидом ДДТ в качестве источника углерода и на контрольную среду без пестицида. В качестве индикатора дегидрогеназной активности микроорганизмов использовали 0,01%, 2,3,5-трифенил-тетразолия хлорида (ТТХ). Деструктивную активность микроорганизмов оценивали по образованию зоны красного цвета. Микроорганизмы-деструкторы пестицидов выявляли по наличию окрашенной зоны по сравнению с контролем. Деструктивная активность культур также оценивалась по активности роста и сохранению жизнеспособности клеток в присутствии хлорогенических соединений. Скрининг активных микроорганизмов-деструкторов СОЗ и продуктов их распада проводили среди 11 штаммов выделенных культур из образцов почвы, прилегающей к местам захоронения пестицидов по их способности к росту в присутствии пестицида в качестве единственного источника углерода [18].

В результате исследований 5 штаммов проявили наименьшую активность роста в отношении пестицида. Штаммы СК2, КС1, КС2, АК1, СА1, СА3, выделенные с места захоронения пестицидов, обладали способностью к активному росту.

В результате скрининга нами отобрано 6 перспективных культур микроорганизмов, способных к активному росту на среде с

хлорорганическим соединением ДДТ. Результаты по изучению роста культур в присутствии пестицида представлены на рисунке 8.

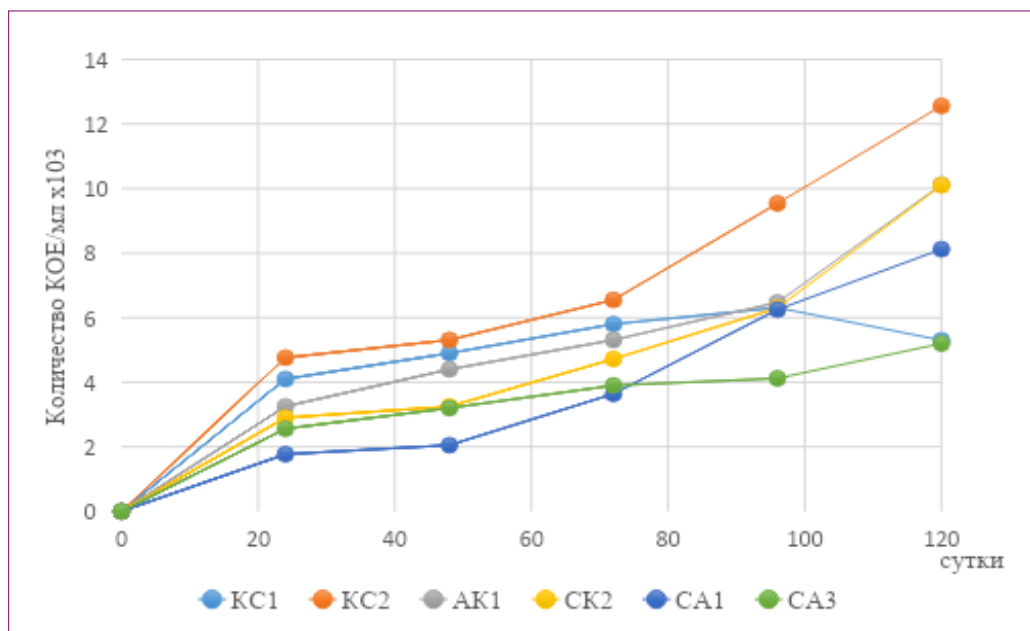


Рисунок 8 – Рост культур в среде с добавлением ДДТ в качестве единственного источника углерода

Как видно из рисунка 10, штаммы KC2, AK 1, SK2, CA1 проявили активный рост в присутствии ДДТ по сравнению со штаммами KC1, CA3. Численность клеток штамма KC2 через 24 часа составила $4,76 \times 10^6$ КОЕ/г и AK1 $3,25 \times 10^6$ КОЕ/г, на пятые сутки количество клеток было в пределах $1,3 \times 10^7$ КОЕ/г и $1,2 \times 10^7$ КОЕ/г соответственно. Численность клеток штамма SK2 через 24 часа составила $2,9 \times 10^6$ КОЕ/г, на пятые сутки $1,1 \times 10^7$ КОЕ/г, эти показатели штамма CA1 были в пределах $1,8 \times 10^6$ КОЕ/г – $8,12 \times 10^6$ КОЕ/г соответственно.

По результатам исследований скрининга все штаммы показали хороший рост в среде с добавлением ДДТ как единственного источника углерода, что свидетельствует о том, что штаммы в качестве единственного источника углерода используют ДДТ, так как обладают деструктивной активностью по отношению к пестицидам. Как видно, штаммы KC2, AK1, SK2, CA1 обладают более высокой деструктивной активностью по отношению к ДДТ по сравнению со штаммами KC1, CA3. Таким образом, исследуемые культуры микроорганизмов при наличии в среде пестицида ДДТ проявляют различные уровни дегидрогеназной активности,

что свидетельствует о различной способности этих культур разлагать пестициды.

Деструктивную активность отобранных 6 штаммов определяли по изменению уровня дегидрогеназной активности культур.

На рисунке 9 представлен рост культур микроорганизмов-деструкторов на среде с добавлением ДДТ.

Как видно из рисунка 9, штаммы культур микроорганизмов – деструкторов на среде с добавлением ДДТ образуют поверхностные колонии размером 1,5-2 мм. Культуры на среде М9 с добавлением ДДТ в качестве единственного источника углерода меняют начальный белый – матовый цвет на красный, что объясняется образованием восстановленного трифенилформазана (ТФФ) в среде [19]. Качественную оценку способности микроорганизмов разрушать пестициды осуществляют с помощью визуального наблюдения за изменением уровня дегидрогеназной активности микроорганизмов по размерам зоны их роста на плотной питательной среде М9, окрашенной за счет цветной реакции с реактивом ГТХ, добавленного в среду и восстанавливающегося из бесцветной соли в соединении ТФФ красного

цветаприокислительно-восстановительных реакциях микробного разложения пестицида [20].

В результате изучения деструктивной активности штаммов было выявлено, что штаммы микроорганизмов *CK2*, *KC1*, *KC2*, *AK1*, *CA1*,

CA3 способны разрушать препарат, что свидетельствовало об окрашивании колоний и среды вокруг них в красный цвет. Это указывало на образование восстановленного трифенилформазана (ТФФ).

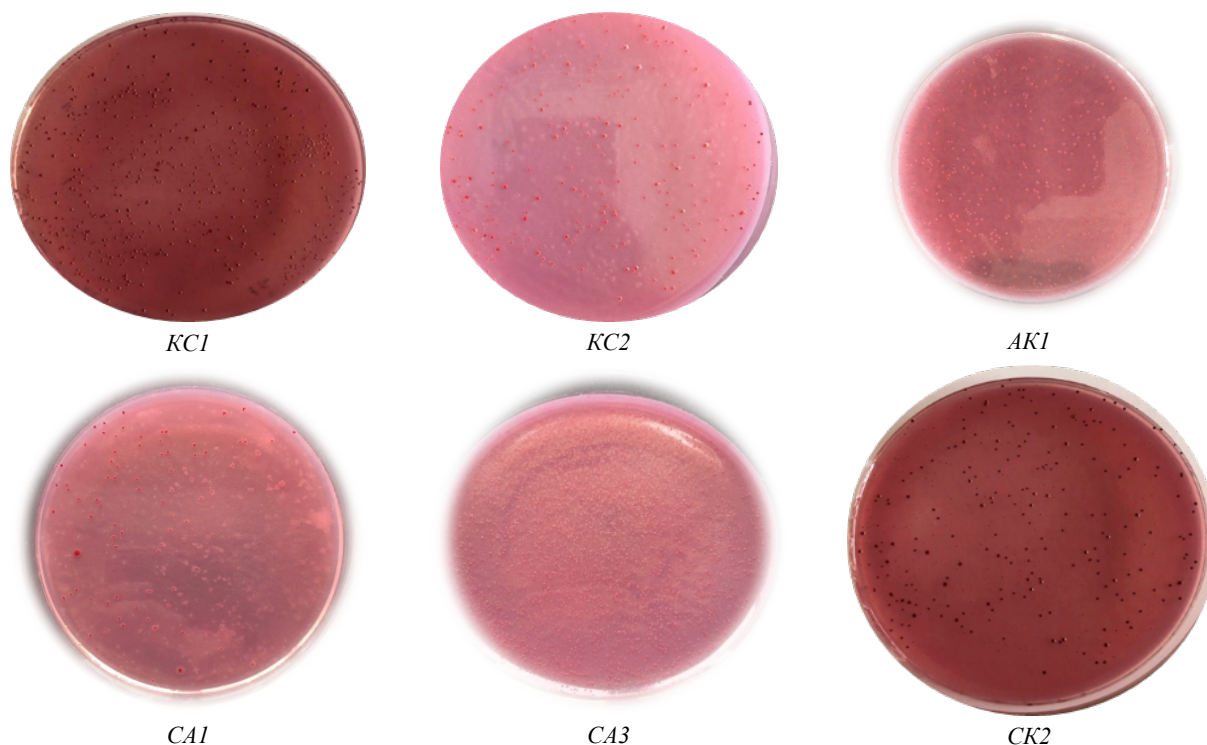


Рисунок 9 – Рост культур микроорганизмов-деструкторов на среде с добавлением ДДТ

Таким образом, показатель уровня дегидрогеназной активности микроорганизмов можно использовать для выявления штаммов-деструкторов пестицидов. Скрининг культур микроорганизмов, выделенных из загрязненных почв, позволяет выявить штаммы, обладающие деструктивной активностью по отношению к пестицидам, представляющим экологическую опасность. На основе перспективных штаммов-деструкторов можно создать биопрепараты для биоремедиации загрязненных объектов окружающей среды.

Заключение

1. Изучено микробное разнообразие образцов почвы, отобранных из точек п. Кызылкайрат, п. Бескайнар, п. Амангельды №1, п. Амангельды №2, п. Бельбулак, Бригада-2 – АО Племзавод «Алматы», прилегающих к местам захоронения пестицидов Талгарского района Алматинской области.

2. Дана характеристика разнообразия микробной и грибной флоры изученных образцов почв. Общее число мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (МАФАНМ) контрольного образца почвы поселка Басши составило $2,3 \times 10^4$ – $5,2 \times 10^8$ КОЕ/г. Анализ микробиологического состава почв с мест захоронения пестицидов показал, что в загрязненной почве п. Кызылкайрат доминировали азотфиксирующие бактерии (59%), в пробах Бескайнар – аммонифицирующие бактерии (43 %), в почве образца Бельбулак преобладали плесневые грибы (70%).

3. В ходе скрининга 11 культур микроорганизмов, выделенных из загрязненных почв, были отобраны 6 перспективных штаммов-деструкторов. Активность их роста и сохранение жизнеспособности в присутствии хлорорганических загрязнителей оценивали по уровню дегидрогеназной активности культур.

Литература

- 1 Thyssen, Wodageneh. FAO requires financial support for the disposal of obsolete pesticides in Africa and the Near East. – 2008. – Vol. 11, №29. – P. 19–23.
- 2 Eugenio N., Pennock A. Soil Pollution a hidden reality // Rome, FAO. – 2018. – №3. – P. 142.
- 3 Nowak and Sigmund. Evolution of Indirect Reciprocity by Image Scoring. – 2008. -Vol. 23, №25. – P. 9-15.
- 4 Díaz-López M., Solarization-based pesticide degradation results in decreased activity and biomass of the soil microbial community // Geoderma. – 2019. – №6. – P. 15.
- 5 Васнецова Е. В., Ксенофонтова О. Ю., Тихонова Д. А., Филимонова Е. А., Савина К. Поиск штаммов-деструкторов пестицидов прометрина, гхчг и 4,4-ддт в почве территории захоронения пестицидов в Саратовской области // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. – 2016. – Vol. 16, №6. – С. 3.
- 6 Иванцова Е.А. Влияние пестицидов на микрофлору почвы и полезную биоту. – Саратов: СГТУ, 2012. –Vol. 8, №6. – С. 114-118.
- 7 Нетрусова А. И. Большой практикум по микробиологии // учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений. – М.: ИЦ «Академия», 2005. – №23. – С. 608.
- 8 Третьякова С.Э. Создание биопрепарата на основе штамма-деструктора прометрина *Pseudomonas putida* П2, иммобилизованного на микрокапсулах, для ремедиации загрязненных прометрином почв. – Саратов: СГТУ, 2012. – Vol. 5, №56. – С. 114-118.
- 9 Lucélia C., Melline F.N., Sanderson T.S., Gileno V.L., eds. The metagenomic landscape of xenobiotics biodegradation in mangrove sediments: Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2019. – Vol. 7, №23. – С. 232-240.
- 10 Neelum A., Sardar K., Yaying L., Ningguo Z., eds. Influence of biochars on the accessibility of organochlorine pesticides and microbial community in contaminated soils // Science of The Total Environment. – 2019. – Vol. 3, №7. – P. 551-560.
- 11 Clayton R.A., Sutton G., Hinkle P.S., Bult Jr.C., eds. Intraspecific variation in small-subunit rRNA sequences in GenBank: why single sequences may not adequately represent prokaryotic taxa // International Journal of Systematic Bacteriology. – 2005. – Vol. 16, №4. – P. 595-599.
- 12 Raj K.R., Vivek K.G., Abhay B., Subodh T., eds. Comparative microbiome analysis of two different long-term pesticide contaminated soils revealed the anthropogenic influence on functional potential of microbial communities // Science of The Total Environment. – 2019. – Vol. 12, №41. – P. 413-423.
- 13 Головлёва Л.А. Деградация пестицидов микроорганизмами: возможность, ограничения и практические перспективы // Тр. Ин-та микробиологии и вирусологии. – 2000. – Vol.11. – С. 154.
- 14 Домрачева Л.И., Ашихмина Т.Я., Кондакова Л.В., Березин Г.И. Реакция почвенной микробиоты на действие пестицидов // Теоретическая и прикладная экология. – 2012. – Vol. 3, №7. – С. 41-52.
- 15 Jiayi T., Jiachao Z., Liheng R., Yaoyu Zh., eds. Diagnosis of soil contamination using microbiological indices // A review on heavy metal pollution: Journal of Environmental Management. – 2019. – Vol. 17, №11. – P. 121-130.
- 16 Головлёва Л.А., Финкельштейн Э.И., Перцова Р.Н. Роль микроорганизмов в разложении пестицидов в окружающей среде // Результаты научных исследований в практику сельского хозяйства. – М.: Наука, 2002. – Vol. 24. – С. 64-73.
- 17 Praveen S., Milan V.K., Shivakantkumar S.A., Sudisha J. Influence of triazole pesticides on tillage soil microbial populations and metabolic changes // Science of The Total Environment. – 2019. – Vol. 9, № 15. – P. 23-25.
- 18 Feng Y., Minard R.D., Bollag J.-M. Photolytic and microbial degradation of 3,5,6-trichloro-2-pyridinol. // Environ. Toxicol. and Chem. – 2008. – Vol. 42, №6. – P. 2334-2344.
- 19 Brusa T., Del Puppo E. Microbial. degradation of the sulfonylurea herbicides // Current knowledge. – 2005. – Vol. 22. – P. 321-330.
- 20 Vázquez C., Copes W., Gonzalez D., Quagliano J. Microbiological assessment of the organophosphorus pesticide methyl azinphos persistence in Argentinian productive soil // Toxicology Letters. – 2006. – Vol. 5, №33. – P. S248-S249.

References

- 1 Thyssen and Wodageneh. “FAO requires financial support for the 7 of obsolete pesticides in Africa and the Near East”11, no. 29 (2008): 19–23.
- 2 Eugenio, N. and Daniel, A. “Soil Pollution a hidden reality”. Rome, FAO, no. 3 (2018): 142.
- 3 Nowak and Sigmund. “Evolution of Indirect Reciprocity by Image Scoring”. 23, no. 25 (2008): 9–15.
- 4 Díaz-López, M., “Solarization-based pesticide degradation results in decreased activity and biomass of the soil microbial community”. Geoderma, no. 6 (2015): 15.
- 5 Vasnetsova, E., Ksenofontova, O., Tikhonova, D., Filimonova, E., Savina, K. “Poisk shtammov destruktivnykh pestitsidov prometrin, daun i 4,4-y den’ v pochve pestitsidnogo mogil’nika v Saratovskoy oblasti” [Search for strains of destructive pesticides of prometrin, country and 4.4th day in the soil of the pesticide burial area in Saratov areas]. Izv. Sarat. universit. New ser. Ser. Chemistry. Biology. Ecology 16, no. 6. (2016): 3.
- 6 Ivantsova, E. “Vliyaniye pestitsidov na mikrofloru pochvy i poleznuyu biotu” [The influence of pesticides on the microflora of the soil and beneficial biota]. Saratov: SSTU 8, no. 6. (2012): 114-118.
- 7 Нетрусова, А. Bol’shaya masterskaya po mikrobiologii [Big workshop on microbiology] textbook. allowance for students. higher textbook. institutions under the editorship of M.: IC “Academy, 2005.

8 Tretyakova, S. “Sozdaniye biopreparata na osnove prometrin-destruktivnogo shtamma *Pseudomonas putida* P2, immobilizovannogo na mikrokapsulakh, dlya vosstanovleniya zagryaznennykh prometrinom pochv” [Creation of a biological product based on the prometrin-destructive strain *Pseudomonas putida* P2 immobilized on microcapsules for the remediation of prometrin-contaminated soils]. Saratov: SSTU 5, no. 56. (2012): 114-118.

9 Lucélia, M., Sanderson and Gileno Villa. “The metagenomic landscape of xenobiotics biodegradation in mangrove sediments”. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 7, no. 23 (2019): 232-240.

10 Neelum, S., Yaying and Ningguo Ziera. “Influence of biochars on the accessibility of organochlorine pesticides and microbial community in contaminated soils”. *Science of The Total Environment* 3, no. 7 (2019): 551-560.

11 Clayton, Sutton, Hinkle and Chris Fields. “Intraspecific variation in small-subunit rRNA sequences in GenBank: why single sequences may not adequately represent prokaryotic taxa”. *International Journal of Systematic Bacteriology* 16, no. 4 (2005): 595-599.

12 Raj, Vivek, Abhay and Subodh Tilla. “Comparative microbiome analysis of two different long-term pesticide contaminated soils revealed the anthropogenic influence on functional potential of microbial communities”. *Science of The Total Environment* 12, no. 41 (2019): 413-423.

13 Golovleva, L. “Razlozheniye pestitsidov mikroorganizmami: vozmozhnosti, ogranicheniya i prakticheskiye perspektivy” [The degradation of pesticides by microorganisms: the possibility, limitations and practical prospects]. Tr. Institute of microbiol. and viral 11, (2000): 154.

14 Domracheva, L., Ashikhmina, T., Kondakova, L., Berezin, G. Reaktsiya pochvennoy mikrobioty na pestitsidy [Soil microbiota response to pesticides]. *Theoretical and Applied Ecology* 3, no. 7 (2012): 41-52.

15 Jiayi, Jiachao, Liheng and Yaoyu Zhan. “Diagnosis of soil contamination using microbiological indices: A review on heavy metal pollution”. *Journal of Environmental Management* 17, no. 11 (2019): 121-130.

16 Golovleva L., Finkelstein E. and Pertsova, R. Rol' mikroorganizmov v razlozhenii pestitsidov v okruzhayushchey srede [The role of microorganisms in the decomposition of pesticides in the environment]. The results of scientific research in agricultural practice: M.: Nauka 24, 2002.

17 Praveen, Milan, Shivakantkumar and Sudisha Julia. “Influence of triazole pesticides on tillage soil microbial populations and metabolic changes”. *Science of The Total Environment* 15, no. 9 (2019): 23-25.

18 Feng, M. and Bollag, J. “Photolytic and microbial degradation of 3,5,6-trichloro-2-pyridinol”. *Environ. Toxicol. and Chem* 42, no. 6 (2008): 2334-2344.

19 Brusa T., Del Puppo E. “Microbial. degradation of the sulfonyleurea herbicides”. *Current knowledge* 22, (2005): 321-330.

20 Vázquez, Copes, Gonzalez and Quagliano Jenn. “Microbiological assessment of the organophosphorous pesticide methyl azinphos persistence in Argentinian productive soil”. *Toxicology Letters* 5, no. 33 (2006): S248-S249.