

ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ
МОНО(ПОЛИ)АРОМАТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ
СЕМЕЙСТВА *MICROSOCCASAEAE*,
ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ
БИОТЕХНОЛОГИЙ ОЧИСТКИ
ПРОМЫШЛЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ
ПЕРМСКОГО КРАЯ *

Е.Г. Плотникова, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН*

О.В. Ястребова, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН*

Е.С. Корсакова, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН*

А.А. Пьянкова, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН*

Л.Н. Ананьина, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН*

Для цитирования:

Плотникова Е.Г., Ястребова О.В., Корсакова Е.С., Пьянкова А.А., Ананьина Л.Н. Изучение бактерий-деструкторов моно(поли)ароматических соединений семейства *Microsoccasaeae*, перспективных для разработки биотехнологий очистки промышленных территорий Пермского края // Вестник Пермского федерального исследовательского центра. – 2022. – № 2. – С. 47–55. <https://doi.org/10.7242/2658-705X/2022.2.5>

Исследование направлено на решение актуальной проблемы микробиологии – изучение процессов бактериальной деструкции устойчивых загрязнителей окружающей среды, к которым относятся полициклические углеводороды, фталаты. Исследована способность бактерий семейства *Microsoccasaeae*, выделенных с техногеннозагрязненных территорий Пермского края, осуществлять деструкцию фталатов: эфиров *орто*-фталевой кислоты, терефталата (ТФК) и диоктилтерефталата. Выявлено 11 штаммов родов *Arthrobacter*, *Glutamicibacter*, *Pseudoarthrobacter*, *Paenarthrobacter*, *Kocuria*, *Micrococcus*, *Rothia*, способных к росту на *орто*-фталевой кислоте (ОФК) и производных ОФК (дибутилфталате, ДБФ; диметилфталате, ДМФ; диэтилфталате, ДЭФ), при использовании их в качестве единственного источника углерода и энергии. Активными деструкторами фталатов являются штаммы *Kocuria* spp. WD25, ML17, *Pseudoarthrobacter* sp. SA101 и *Glutamicibacter* sp. PB8-1. Показано, что штаммы-деструкторы *Glutamicibacter* spp. BO25 и PB8-1 растут на ТФК в условиях высокой солености среды (до 60 г/л NaCl). Выявлена корреляция между ростовыми показателями штаммов и снижением количества ТФК в среде культивирования. Впервые установлена

* Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Министерства образования и науки Пермского края в рамках научного проекта № 19-44-590011 p_a.

способность разложения ТФК бактериями в условиях засоления. На основании ростовых характеристик и анализа метаболитов показано, что разложение ОФК, сложных эфиров ОФК (ДМФ, ДБФ, ДЭФ) и ТФК исследуемыми штаммами сем. *Micrococcaceae* осуществляется через образование протокатеховой кислоты. Таким образом, в результате проведенных исследований выявлены и охарактеризованы активные бактерии-деструкторы фталатов и ароматических углеводов, в том числе способные осуществлять разложение фталатов в условиях засоления, которые перспективны для использования их в биотехнологиях очистки сточных вод и восстановления засоленных/загрязненных почв Пермского края.

Ключевые слова: аэробные бактерии, *Micrococcaceae*, фталаты, терефталевая кислота, деструкция, засоление.

Очистка окружающей среды от устойчивых, токсичных органических соединений, имеющих тенденцию к накоплению в экосистемах и представляющих опасность для здоровья человека, является одной из приоритетных проблем современной экологии. К наиболее распространенным поллютантам промышленно развитых регионов, в число которых входит Пермский край, относятся моно(поли)ароматические соединения (АС), в частности, полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), фталаты. Перспективными способами детоксикации (ремедиации) загрязненных территорий от таких соединений являются биотехнологии, основанные на способности природных бактерий разлагать многие ароматические соединения.

Бактерии семейства *Micrococcaceae* (класс *Actinobacteria*) широко распространены в микробиоценозах природных и техногенных экосистем. Известна способность бактерий семейства *Micrococcaceae* к разложению ряда природных ароматических, алифатических соединений и ксенобиотиков, поступающих в почву в результате промышленной деятельности человека. Описаны бактерии рода *Arthrobacter*, участвующие в разложении АС – компонентов нефти, пестицидов, ряда моноароматических соединений (фенолов, фталатов), а также гетероциклических углеводов [5, 7, 16]. Среди бактерий семейства обнаружены штаммы-деструкторы различных АС. Установлено, что деструкцию фталатов осуществляют

представители родов *Micrococcus*, *Paenarthrobacter*, *Glutamicibacter*, *Arthrobacter* [3, 13, 15, 17, 19]. Деструкцию ПАУ, в частности нафталина и фенантрена, осуществляют бактерии родов *Arthrobacter*, *Micrococcus* [8, 9]. В то же время молекулярные механизмы деструкции АС (ПАУ, фталатов) у этой группы бактерий остаются практически не изученными [14].

Известно, что на бактериальную деградацию АС существенно влияют условия культивирования (рН, минерализация среды, температура). Показано, что увеличение засоления среды приводит к ухудшению деструкционных и ростовых характеристик бактерий [2, 18]. Однако влияние уровня минерализации среды на эффективность биодеструкции ПАУ и фталатов бактериями сем. *Micrococcaceae* изучено недостаточно. Имеются единичные публикации о представителях сем. *Micrococcaceae*, способных разлагать ароматические углеводороды в условиях повышенного содержания солей. Описан штамм *Arthrobacter* sp. W1, выделенный из активного ила, способный к деструкции ряда АС, включая нафталин и фенол, и к росту в присутствии до 10% NaCl в среде [18]. Галотолерантный штамм *Micrococcus luteus* DE2008 растет на нитробензоле в присутствии 5% NaCl [21].

Цель исследований – изучение особенностей деструкции ароматических соединений (ПАУ, фталатов) у бактерий семейства *Micrococcaceae*, изолированных

из промышленных районов Пермского края (в том числе, из района солеразработки г. Березники и г. Соликамск).

Методы исследования

В работе были использованы бактериидеструкторы ароматических соединений (31 штамм) из рабочей коллекции микроорганизмов лаборатории микробиологии техногенных экосистем «ИЭГМ УрО РАН», представители семейства *Micrococcaceae*, которые были выделены из техногенно загрязненных экотопов Пермского края (г. Березники, г. Соликамск, г. Оса). Скрининг штаммов бактерий-деструкторов на способность к росту на ароматических соединениях проводили в жидкой и на агаризованной среде Раймонда следующего состава (г/л): NH_4NO_3 – 2,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 2,0; KH_2PO_4 – 2,0; Na_2HPO_4 – 3,0; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,01; Na_2CO_3 – 0,1; дополненной 1% раствором $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 2 мл/л и 1% раствором $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 1 мл/л [12]. В качестве субстратов использовали ТФК, ОФК, дибутилфталат (ДФФ), диметилфталат (ДМФ), диэтилфталат (ДЭФ), бензоат, протокатеховую кислоту (ПКК) и нафталин в концентрации 1 г/л. Оценка способности бактерий-деструкторов разлагать ТФК в условиях засоления проводилась при выращивании культур в жидкой среде Раймонда с добавлением NaCl в концентрации 30–100 г/л.

Идентификацию отобранных из рабочей коллекции активных штаммов-деструкторов проводили на основе морфологического описания колоний и клеток бактерий, а также анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК. Амплификацию фрагмента гена 16S рРНК осуществляли с использованием бактериальных праймеров 27F и 1492R на амплификаторе «My Cyclor» («Bio-Rad Laboratories», США), как описано в [20]. Определение нуклеотидных последовательностей осуществляли с применением набора реактивов Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit на автоматическом секвенаторе Genetic Analyser 3500XL («Applied Biosystems», США), приборная

база кафедры ботаники и генетики растений Пермского национального исследовательского университета.

Утилизацию ТФК и наличие ПКК в среде культивирования определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием хроматографа LC-20AD Prominace («Shimadzu», Япония) с колонкой (C-18 150 × 4,6 мм; «Shima-Aldrich», США) и УФ-детектором SPD-20A (при 205 нм) в системе ацетонитрил – 0,1%-ная H_3PO_4 (70 : 30). В качестве подвижной фазы использовали 80% раствор ацетонитрила при скорости потока 1 мл/мин и температуре 40°C. Идентификацию проводили при сравнении времени выхода пиков экстрактов со стандартными растворами искомым веществ (ТФК и ПКК) в концентрациях 50 и 100 мг/л. Количественное содержание рассчитывали с помощью пакета программ «LCsolution» («Shimadzu», Япония).

Все эксперименты выполнены в трехкратных повторностях. Полученные данные обрабатывали с использованием программы Microsoft Excel 2007.

Результаты и их обсуждение

В результате исследований было установлено, что большинство штаммов сем. *Micrococcaceae* проявляют способность к росту на ОФК, как единственном источнике углерода и энергии. Фталаты, производные ОФК, – диметилфталат (ДМФ), диэтилфталат (ДЭФ), дибутилфталат (ДФФ) – были обнаружены в загрязненных почвах, грунтах, отходах производства калийного производства в районе г. Березники, г. Соликамска [1], откуда было выделено большинство исследуемых штаммов сем. *Micrococcaceae*. В связи с тем, что фталаты, в том числе ДМФ, ДБФ, ДЭФ, являются токсичными, трудно разлагаемыми загрязнителями окружающей среды [11], был исследован потенциал бактерий сем. *Micrococcaceae* разлагать эти поллютанты. Установлено, что большинство исследуемых штаммов, в частности родов *Arthrobacter*,

Pseudoarthrobacter, *Paenarthrobacter*, *Glutamicibacter*, могут использовать ДБФ в качестве единственного субстрата при росте в жидкой минеральной среде К1 (табл. 1). В результате проведенного скрининга показано, что наиболее активными деструкторами фталатов являлись штаммы: *Kocuria* sp. WD25, ML17, *Paenarthrobacter* sp. SA101 и *Glutamicibacter* PB8-1, способ-

ные к росту на ОФК и сложных эфирах ОФК. Все штаммы-деструкторы сем. *Micrococcaceae* эффективно использовали ПКК в качестве единственного источника углерода и энергии (см. табл. 1). Этот факт позволяет предположить, что разложение ОФК и ее производных (ДМФ, ДБФ, ДЭФ) исследуемыми бактериями осуществляется через образование проме-

Таблица 1

Рост бактерий сем. *Micrococcaceae* на фталатах и протокатеховой кислоте

| Штаммы | Субстраты | | | | | | |
|-------------------------------|-----------|-----|-----|-----|-----|------|-----|
| | ОФК | ТФК | ДБФ | ДМФ | ДЭФ | ДОТФ | ПКК |
| <i>Род Arthrobacter</i> | | | | | | | |
| SF27 | ++ | — | + | — | — | — | ++ |
| DF14 | + | — | +/- | — | +/- | — | ++ |
| B905 | ± | — | +/- | — | — | — | ++ |
| SMB11 | ± | — | + | — | — | — | ++ |
| SMB145 | ± | — | + | — | +/- | — | ++ |
| PD13-12 | ++ | + | + | — | + | — | ++ |
| M56-102 | + | — | + | — | — | — | + |
| <i>Род Glutamicibacter</i> | | | | | | | |
| SN17 | ++ | — | + | — | + | — | ++ |
| BO25 | + | + | + | — | — | — | ++ |
| BR3-22(1) | ± | — | +/- | — | — | — | ++ |
| BR3-22(2) | ± | — | +/- | — | — | — | ++ |
| BR4-2 | + | — | + | — | — | — | ++ |
| PB8-1 | + | + | + | +/- | + | — | ++ |
| NDT18 | ± | — | — | +/- | — | — | — |
| EDT13 | ± | — | — | — | — | — | — |
| <i>Род Pseudoarthrobacter</i> | | | | | | | |
| BO34-1 | ++ | — | — | — | — | — | ++ |
| BO19 | ++ | — | — | — | — | — | ++ |
| <i>Род Paenarthrobacter</i> | | | | | | | |
| SA101 | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Род Kocuria</i> | | | | | | | |
| ML17 | ± | + | + | + | ++ | +/- | + |
| WD25 | + | + | + | + | + | — | + |
| M87-1 | ± | — | — | — | — | — | — |
| M46-10 | ± | — | — | — | — | — | — |
| M45-1N | — | — | + | — | +/- | — | — |
| 72-2 | — | — | — | — | — | — | — |
| 69-4 | + | + | — | — | +/- | — | + |
| <i>Род Micrococcus</i> | | | | | | | |
| YKS63t-1 | + | — | + | — | — | — | + |
| 38-1 | + | — | + | — | — | — | + |
| 43-1 | + | + | — | — | — | — | — |
| G120 | + | + | + | — | +/- | +/- | — |
| 72-1 | + | + | — | — | — | — | — |
| 72-2 | +/- | — | — | — | — | — | — |
| <i>Род Rothia</i> | | | | | | | |
| SA7 | + | — | — | — | — | — | — |

Примечание: «++» – хороший рост (значение ОП₆₀₀ = 0,5 о.е. и выше); «+» – наличие роста (ОП₆₀₀ = 0,35 – 0,5 о.е.); «±» – слабый рост (ОП₆₀₀ = 0,2 - 0,35 о.е.); «—» – отсутствие роста, ОФК – орто-фталевая кислота, ТФК – терефталевая кислота, ДБФ – дибутилфталат; ДЭФ - диэтилфталат; ДМФ - диметилфталат; ДОТФ – диоктилтерефталат; ПКК - протокатеховая кислота.

жуточного метаболита – ПМК. Такой путь деструкции этих соединений описан для грамположительных бактерий (представителей сем. *Micrococcaceae*) (рис. 1).

Среди бактерий семейства *Micrococcaceae* выявлены бактерии, способные осуществлять деструкцию терефталевой кислоты (ТФК). Бактерии-деструкторы ТФК были отнесены к представителям родов *Kocuria*, *Micrococcus*, *Paenarthrobacter*, *Glutamicibacter*, *Arthrobacter* (см. табл. 1).

Исследованы эколого-физиологические характеристики активных бактерий-деструкторов рода *Kocuria*. Штаммы способны к росту в среде как без добавления NaCl, так и при повышенной концентрации соли (до 60 г/л NaCl), и в диапазоне значений pH среды 6,0 – 9,0. Оптимальная температура роста штаммов 28°C, все штаммы росли при температуре от 10 до 40°C, штамм 72 способен к росту при 5°C. Уточнено таксономическое положение штаммов рода *Kocuria*. На основании анализа гена 16S рНК установлено, что штамм 69-4, деструктор ОФК и ТФК, наиболее филогенетически близок штамму *Kocuria rosea* DSM 20447^T (уровень сходства 100%). На рис. 2 представлено филогенетическое положение исследуемых штаммов рода *Kocuria*.

Из образцов активного ила биологической очистки сточных вод АО «Сибур-Химпром» (г. Пермь) выделены штаммы семейства *Micrococcaceae*, которые идентифицированы как представители рода *Rothia* (штаммы SA7, SA14, SA16) и рода *Paenarthrobacter* (штамм SA101). Показано, что штамм *Paenarthrobacter* sp. SA101 является активным деструктором

ТФК, ДОТФ, а также других фталатов (ОФК, ДМФ, ДБФ, ДЭФ), бензойной, протокатеховой кислот, нафталина, фенантрена (см. табл. 1).

Активные штаммы-деструкторы ТФК – *Kocuria* sp. ML17 и *Kocuria* sp. WD25, были использованы для разработки технологии обогащения активного ила на БОС предприятия АО «Сибур-Химпром» (г. Пермь). Получена устойчивая ассоциация бактерий (селектированная из активного ила БОС и штаммов ML17 и WD25), активно утилизирующая ТФК. Установлено, что утилизация ТФК (1 г/л) в лабораторном ферментере объемом 20 л созданной ассоциацией составляла 88,8% в течение трое суток культивирования.

Исследованы два активных штамма-деструктора (штаммы BO25, PB8-1) рода *Glutamicibacter*, выделенных из образцов, отобранных на территории солеразработок предприятия ОАО «Уралкалий» (г. Березники, Пермский край) (см. табл. 1). Анализ генов 16S рНК показал, что штамм BO25 имеет наибольший уровень сходства (99,51%) со штаммом *G. halophytocola* KLBMP 5180^T (JX993762), а штамм PB8-1 – 100% сходство с *G. arilaitensis* Re117^T (NR_074608). Нуклеотидные последовательности были размещены в базе данных GenBank: штамм BO25 – номер OK178956; штамм PB8-1 – номер OK178957.

Штаммы BO25, PB8-1 являются галотолерантными бактериями, способны к росту на полноценной среде Раймонда [12] без соли и при содержании 90 г/л NaCl в среде культивирования. Установлено, что штаммы обладали широкой субстратной специфичностью и были способны к росту на моно- и полиароматических углеводородах

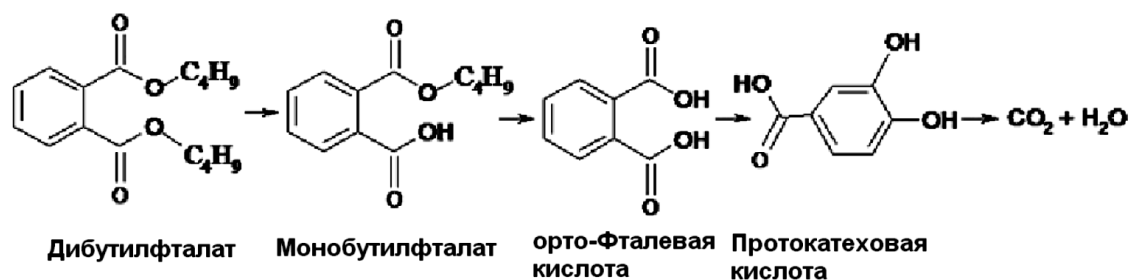


Рис. 1. Путь бактериальной деструкции дибутилфталата в аэробных условиях (Jin, Liang, 2010)

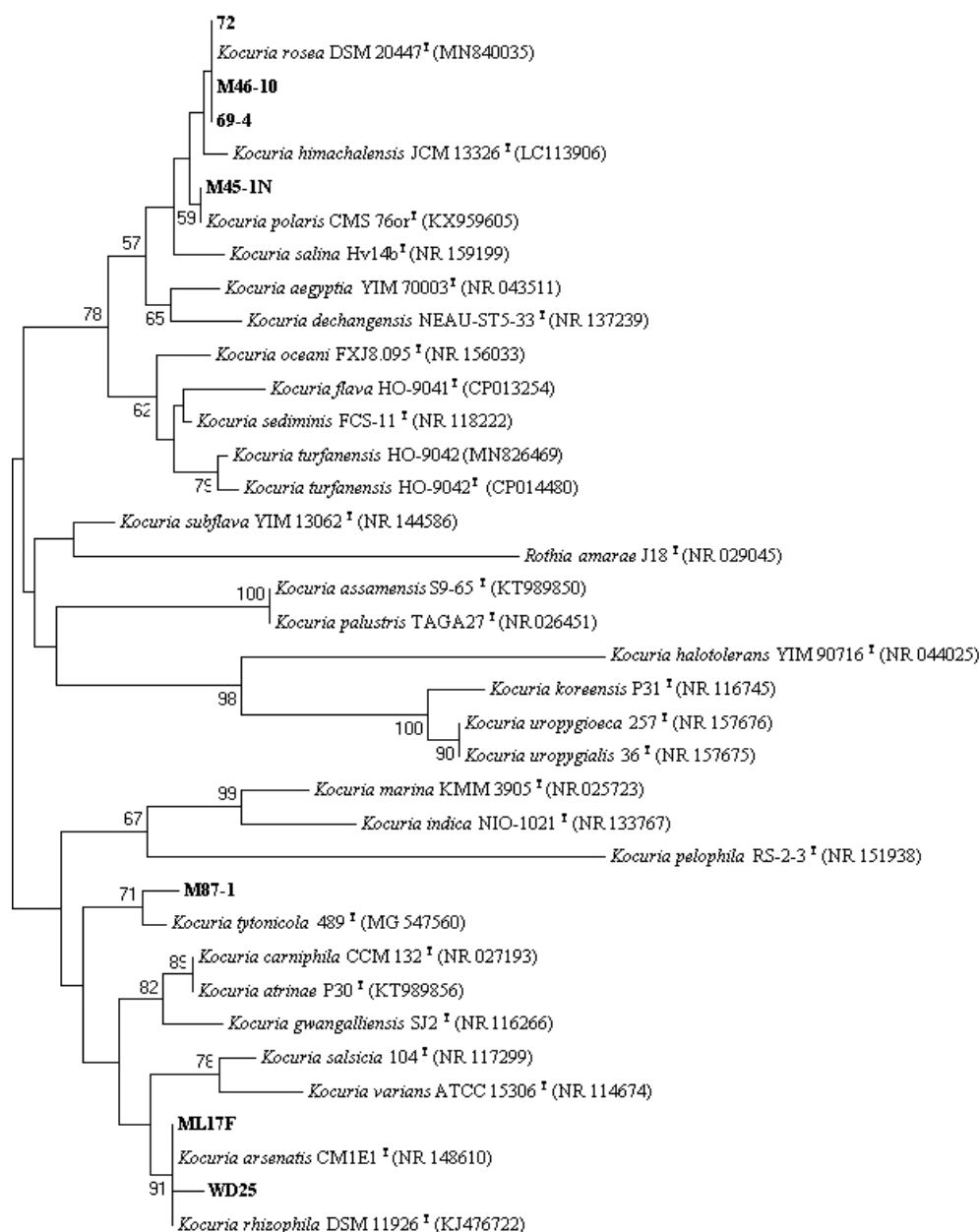


Рис. 2. Дендрограмма сходства нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК, показывающая филогенетические отношения между исследуемыми штаммами и типовыми штаммами рода *Kocuria*. В скобках указаны номера в GenBank

при культивировании в среде без соли (см. табл. 1), а также в присутствии 30 г/л NaCl в минеральной среде Раймонда. Показана способность штаммов *Glutamicibacter* spp. BO25 и PB8-1 использовать ТФК в качестве ростового субстрата, в том числе в условиях высокой солености среды. Так, на агаризованной минеральной среде Раймонда с ТФК (1 г/л) штаммы росли при концентрации до 60 г/л NaCl в среде культивирования.

Изучено влияние различных концентраций соли на рост штаммов PB8-1 и BO25 в жидкой минеральной среде Раймонда с ТФК (1 г/л). Активный рост штаммов наблюдался в присутствии до 60 г/л NaCl в среде (табл. 2).

Высокие ростовые показатели штаммов зафиксированы при культивировании без добавления NaCl, а также и в присутствии 3% NaCl. Повышение концентрации NaCl в среде до 6% приводило к увеличению лаг-фазы роста и к небольшому

Таблица 2

Ростовые параметры штаммов *Glutamicibacter* spp. PB8-1, BO25 на ТФК и ПКК

| Субстрат | ТФК | | | | | | ПКК | |
|---|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | PB8-1 | | | BO25 | | | PB8-1 | BO25 |
| | без NaCl | 30 | 60 | без NaCl | 30 | 60 | без NaCl | |
| Максимальная удельная скорость роста (ч ⁻¹) | 0,018 ±0,002 | 0,020 ±0,001 | 0,018 ±0,003 | 0,021 ±0,004 | 0,017 ±0,003 | 0,016 ±0,002 | 0,020 ±0,002 | 0,030 ±0,006 |
| Максимальное значение ОП ₆₀₀ | 0,79 | 0,80 | 0,72 | 0,78 | 0,77 | 0,65 | 0,73 | 0,91 |
| Лag-фаза роста (ч) | 24 | 24 | 78 | 24 | 70 | 93 | 24 | 24 |

снижению оптической плотности культур, однако максимальная удельная скорость роста снижалась незначительно (см. табл. 2). В присутствии 7% NaCl в среде культивирования рост штаммов на ТФК не был зафиксирован. Отмечается корреляция между ростовыми показателями штаммов и снижением концентрации ТФК в среде культивирования. Деструкция терефталата штаммами PB8-1 и BO25 составляла 84,5% и 83,5%, соответственно, в среде без добавления соли. С повышением содержания NaCl в среде до 6% отмечалось снижение уровня деструкции субстрата штаммами PB8-1 и BO25 до 69,7% и 62,8%, соответственно.

Известно, что деструкция ТФК аэробными бактериями осуществляется через стадию образования *цис*-1,2-дигидрокси-1,2-дигидротерефталата, который трансформируется до ПКК с последующим ее разложением до основных продуктов жизнедеятельности микробной клетки [4, 6, 10]. Показана способность исследуемых штаммов BO25 и PB8-1 расти в минеральной среде Раймонда в присутствии 3% NaCl на ПКК в качестве субстрата. Штамм BO25 имел более высокие параметры роста на ПКК (максимальное значение ОП₆₀₀, удельную скорость роста), чем штамм PB8-1 (см. табл. 2). Анализ продуктов утилизации ТФК в культуральной среде при росте штамма BO25 на данном субстрате с использованием метода ВЭЖХ показал присутствие ПКК в концентрации 0,3 и 0,1 г/л через 48 и

70 часов культивирования, соответственно. На основании полученных данных можно предположить, что деструкция ТФК штаммами *Glutamicibacter* spp. BO25 и PB8 1 осуществляется с образованием ПКК. Дальнейшее расщепление бензольного кольца протокатехата, вероятно, осуществляется по мета-пути, как было показано ранее для представителя семейства *Micrococcaceae* штамма *Arthrobacter keyseri* 12B [5].

Заключение

Полученные результаты показывают, что бактерии семейства *Micrococcaceae* широко распространены в техногеннозагрязненных экотопах Пермского края, они характеризуются способностью разлагать ароматические поллютанты (ПАУ, фталаты), в том числе при экологически неблагоприятных условиях (повышенной солености и различных рН среды, высоких и низких температурах). Впервые охарактеризованы галотолерантные деструкторы ТФК рода *Glutamicibacter*. Штаммы *Glutamicibacter* spp. BO25 и PB8-1 способны к эффективной деструкции *тере*-фталевой кислоты при повышенном засолении среды (до 6% NaCl). Максимальная утилизация ТФК штаммами BO25 и PB8-1 зарегистрирована на уровне выше 80%. Охарактеризованные бактерии-деструкторы семейства *Micrococcaceae* являются перспективными для разработки эффективных биотехнологий очистки загрязненных/засоленных почв и промышленных стоков.

Библиографический список

1. Бачурин Б.А., Одинцова Т.А. Стойкие органические загрязнители в отходах горного производства // Современные экологические проблемы Севера. Апатиты: Изд-во НЦ РАН, 2006. – Ч. 2. – С. 7–9.
2. Плотникова Е.Г., Алтынцева О.В., Кошелева И.А., Пунтус И.Ф., Филонов А.Е., Гавриш Е.Ю., Демаков В.А., Боронин А.М. Бактерии-деструкторы полициклических ароматических углеводов, выделенные из почв и донных отложений района солеразработок // Микробиология. – 2001. – № 1. – С. 61–69.
3. Akita K., Naitou C., Maruyama K. Purification and characterization of an esterase from *Micrococcus* sp. YGJ1 hydrolyzing phthalate esters // Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. – 2001. – Vol. 65(7). – P. 1680–1683.
4. Bhatt P., Huang Y., Zhan H., Chen S. Insight into microbial applications for the biodegradation of pyrethroid insecticides // Frontiers in Microbiology – 2019 – Vol. 10. – Article 1778 – P. 1–19.
5. Eaton R.W. Plasmid-encoded phthalate catabolic pathway in *Arthrobacter keyseri* 12B // J. Bacteriol. – 2001. – Vol. 183. – № 12. – P. 3689–3703.
6. Hara H., Eltis L.D., Davies J.E., Mohn W.W. Transcriptomic analysis reveals a bifurcated terephthalate degradation pathway in *Rhodococcus* sp. strain RHA1 // Journal of Bacteriology. – 2007. – Vol. – 189. – № 5. – P. 1641–1647.
7. Hayatsu M., Hirano M., Nagata T. Involvement of two plasmids in the degradation of carbaryl by *Arthrobacter* sp. strain RC100 // Appl. Environ. Microbiol. – 1999. – Vol. 65. – № 3. – P. 1015–1019.
8. Jegan J., Vijayaraghavan K., Senthilkumar R., Velan M. Naphthalene degradation kinetics of *Micrococcus* sp., isolated from activated sludge // Clean – Soil, Air, Water. – 2010. – Vol. 38 (9). – P. 837–842.
9. Kallimanis A., Kavakiotis K., Perisynakis A., Spröer C., Pukall R., Drainas C., Koukkou A.I. *Arthrobacter phenanthrenivorans* sp. nov., to accommodate the phenanthrene-degrading bacterium *Arthrobacter* sp. strain Sphe3. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2009. – Vol. 59. (Pt 2). – P. 275–279.
10. Liang D.W., Zhang T., Fang H. Phthalates biodegradation in the environment // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2008. – Vol. 80. – P. 183–198.
11. Przybylinka P.A., Wyszowski E. Environmental contamination with phthalates and its impact on living organisms // Ecol. Chem. and Enginer. – 2016. – Vol. 23(2). – P. 347–356.
12. Raymond R.L. Microbial oxidation of n-paraffinic hydrocarbons // Developments in Industrial Microbiology. – 1961. – Vol. 2. – № 1. – P. 23–32.
13. Shariati S., Ebenau-Jehle C., Pourbabaee A. A., Alikhani H. A., Rodriguez-Franco M., Agne M., Jacoby M., Geiger R., Shariati F., Boll M. Degradation of dibutyl phthalate by *Paenarthrobacter* sp. Shss isolated from Saravan landfill, Hyrcanian Forests, Iran // Biodegradation. – 2022. – Vol. 33. – P. 59–70.
14. Seo J.-S., Keum Y.-S., Li Q.X. Bacterial degradation of aromatic compounds // Int. J. Environ. Res. Public Health. – 2009. – Vol. 6. – P. 278–309.
15. Stanislauskienė R., Rudenkov M., Karvelis L., Gasparavičiūtė R., Meškienė R., Časaitė V., Meškys R. Analysis of phthalate degradation operon from *Arthrobacter* sp. 68B // Biologija. – 2011. – Vol. 57. – № 3. – P. 45–54.
16. Unell M., Nordin K., Jernberg C., Stenström J., Jansson J.K. Degradation of mixtures of phenolic compounds by *Arthrobacter chlorophenicus* A6 // Biodegradation. – 2008. – Vol. 19(4) – P. 495–505.
17. Vandera E., Samiotaki M., Parapouli M., Panayotou G., Koukkou A.I. Comparative proteomic analysis of *Arthrobacter phenanthrenivorans* Sphe3 on phenanthrene, phthalate and glucose // J. Proteomics. – 2015. – Vol. 113. – P. 73–89.
18. Wang P., Qu Y., Zhou J. Biodegradation of mixed phenolic compounds under high salt conditions and salinity fluctuations by *Arthrobacter* sp. W1 // Appl. Biochem. Biotechnol. – 2009. – Vol. 159. – P. 623–633.
19. Wang X., Shen S., Wu H., Wang H., Wang L. *Acinetobacter tandoii* ZM06 assists *Glutamicibacter nicotianae* ZM05 in resisting cadmium pressure to preserve dipropyl phthalate biodegradation // Microorganisms. – 2021. – Vol. 9. – P. 1417–1428.
20. Weisburg W.G., Barns S.M., Pelletier D.A., Lane D.J. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study // Journal of Bacteriology. – 1991. – Vol. 173. – P. 697–703.
21. Zheng C., Qu B., Wang J., Zhou J., Wang J., Lu H. Isolation and characterization of a novel nitrobenzene-degrading bacterium with high salinity tolerance: *Micrococcus luteus* // J. Hazard Mater. – 2009. – Vol. 165(1–3). – P. 1152–1158.

STUDY OF BACTERIA OF THE FAMILY *MICROCOCCACEAE* DEGRADING
MONO(POLY)AROMATIC COMPOUNDS
PROMISING FOR THE DEVELOPMENT OF BIOTECHNOLOGIES FOR PURIFICATION
OF INDUSTRIAL TERRITORIES OF THE PERM REGION

E.G. Plotnikova, O.V. Yastrebova, E.S. Korsakova, A.A. Pyankova, L.N. Anan'ina

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS

For citation:

Plotnikova E.G., Yastrebova O.V., Korsakova E.S., Pyankova A.A., Anan'ina L.N. Study of bacteria of the family *Micrococcaceae* degrading mono(poly)aromatic compounds promising for the development of biotechnologies for purification of industrial territories of the Perm Region // Perm Federal Research Center Journal. – 2022. – № 2. – P. 47–55. <https://doi.org/10.7242/2658-705X/2022.2.5>

The research is aimed at solving an urgent problem of microbiology, that is studying bacterial degradation processes of persistent environmental pollutants, including polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and phthalates. The study examined the ability of bacteria of the *Micrococcaceae* family, isolated from technogenically polluted territories of the Perm Region, to degrade phthalates: esters of *ortho*-phthalic acid, terephthalic acid (TPA), and dioctyl terephthalate. We identified 11 strains of the genera *Arthrobacter*, *Glutamicibacter*, *Pseudoarthrobacter*, *Paenarthrobacter*, *Kocuria*, *Micrococcus*, *Rothia* capable of growing on *ortho*-phthalic acid (OPA) and *ortho*-phthalate derivatives (dibutyl phthalate, DBP; dimethyl phthalate, DMF; diethyl phthalate, DEP), used as the sole source of carbon and energy. Active destructors of phthalates are strains *Kocuria* spp. WD25, ML17, *Pseudoarthrobacter* sp. SA101 and *Glutamicibacter* sp. PB8-1. It has been shown that destructor strains *Glutamicibacter* spp. BO25 and PB8-1 grow on TPA under conditions of high salinity (up to 60 g/L NaCl). A correlation was found between the growth rates of strains and a decrease of the TPA amount in the cultivation medium. For the first time, the ability of bacteria to decompose TPA under saline conditions has been established. Based on the growth characteristics and analysis of metabolites, it was shown that the decomposition of OPA, OPA esters (DMF, DBP, DEP) and TPA by the studied strains of the family *Micrococcaceae* is carried out through the formation of protocatechuic acid. Thus, as a result of the research, active bacteria degrading phthalates and aromatic hydrocarbons, including those capable of decomposing phthalates under saline conditions, were identified and characterized. The studied bacteria are promising for their use in biotechnologies for wastewater treatment and remediation of saline/contaminated soils in the Perm Region.

Keywords: aerobic bacteria, Micrococcaceae, phthalates, terephthalic acid, destruction, salinity.

Сведения об авторах

Плотникова Елена Генриховна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией микробиологии техногенных экосистем, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН («ИЭГМ УрО РАН»), 614081, г. Пермь, ул. Голева, 13; e-mail: peg_el@mail.ru

Ястребова Ольга Викторовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиологии техногенных экосистем, «ИЭГМ УрО РАН»; e-mail: olyastr@mail.ru

Корсакова Екатерина Сергеевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиологии техногенных экосистем, «ИЭГМ УрО РАН»; e-mail: korsakovaekaterina08@gmail.com

Ананьина Людмила Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии техногенных экосистем, «ИЭГМ УрО РАН»; e-mail: ludaananyina@mail.ru

Пьянкова Анна Александровна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии, «ИЭГМ УрО РАН»; e-mail: annpjankva@mail.ru

Материал поступил в редакцию 25.02.2022 г.