

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ «МЕЖДУНАРОДНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.Д. САХАРОВА»

УДК 573.6:577.158.579.66

ИГНАТОВЕЦ
Ольга Степановна

**ДЕГРАДАЦИЯ СИМ-ТРИАЗИНОВЫХ ГЕРБИЦИДОВ
ПРЕДСТАВИТЕЛЯМИ РОДА *PSEUDOMONAS***

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

по специальности 03.00.16 – экология

В свет
9.9.09
Б-

Минск 2009

Работа выполнена в учреждении образования «Белорусский государственный технологический университет», г. Минск

Научный руководитель

Леонтьев Виктор Николаевич,

кандидат химических наук, доцент, заведующий кафедрой биотехнологии и биоэкологии УО «Белорусский государственный технологический университет»

Официальные оппоненты:

Шкуматов Владимир Макарович,

доктор биологических наук, заведующий лабораторией биохимии лекарственных препаратов НИИ физико-химических проблем Белорусского государственного университета;

Сергейчик Светлана Александровна,

доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой товароведения продовольственных товаров УО «Белорусский государственный экономический университет»

Оппонирующая организация

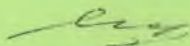
РУП «Институт защиты растений НАН Беларуси»

Защита состоится «6» ноября 2009 г. в 11.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 02.28.01 при УО «Международный государственный экологический университет им. А.Д. Сахарова» по адресу: 220070, г. Минск, ул. Долгобродская, 23, e-mail: info@iseu.by, тел.: +375-17-230-54-14.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Международный государственный экологический университет им. А.Д. Сахарова».

Автореферат разослан «5» октября 2009 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций
кандидат технических наук



Лысухо Н.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. В результате хозяйственной деятельности человека в окружающую среду попадает огромное количество различных пестицидов, которые не только медленно разлагаются в природных условиях, но и обладают кумулятивными свойствами. Положительную роль пестицидов в сельском хозяйстве нельзя недооценивать, однако накопление их в воде и почве оказывает токсическое действие на человека и животных, изменяет почвенную флору и фауну, нарушает естественный баланс биологических сообществ. Основную роль в трансформации и деградации этих соединений играют микроорганизмы. Таким образом, микробиологическую трансформацию и деградацию пестицидов следует рассматривать с точки зрения экологической значимости этих процессов, имея в виду возможное целенаправленное их использование для защиты окружающей среды. Одними из наиболее широко применяемых пестицидов являются соединения сим-триазинового ряда. В результате длительного повсеместного их применения, а также высоких вносимых доз существует опасность загрязнения сим-триазинами сельскохозяйственных угодий, а также прилегающих к ним водоемов и грунтовых вод. Последствия загрязнения этими веществами усугубляются тем, что при сравнительно невысокой острой токсичности они обладают выраженной устойчивостью к биodeградации и способностью к аккумуляции в живых организмах и растениях. В результате миграции сим-триазиновых пестицидов по пищевым цепям эти соединения и их метаболиты представляют опасность здоровью человека, поскольку обладают мутагенной и канцерогенной активностью. Вопросы оценки токсического воздействия на окружающую среду, особенностей минерализации сим-триазинов и накопления их метаболитов в объектах окружающей среды исключительно актуальны для решения региональных экологических проблем.

Таким образом, исследования, направленные на понимание механизмов деградации ксенобиотиков в объектах окружающей среды, совершенствование методов и приемов использования потенциала микроорганизмов, организацию природоохранных мероприятий, являются приоритетными для Республики Беларусь.

Связь работы с крупными научными программами, темами. Диссертационная работа выполнена в рамках трех научно-исследовательских тем: «Анализ путей биотрансформации галогенсодержащих пестицидов с целью разработки методов их целенаправленной биodeградации» (ФФ 22-037, № госрегистрации 20022048, 2002–2003 гг.), «Разработать методы анализа и способы детоксикации ксенобиотиков в отходах производства и пищевых продуктах» (ГБ 23-01, 2001–2005 гг.), «Разработать технологические аспекты получения и

1606 ар

БІБЛІЯТЭКА
Беларускага дзяржаўнага
тэхналагічнага ўніверсітэта

методы структурно-функционального анализа биологически активных веществ и ферментных препаратов для различных отраслей промышленности и сельского хозяйства» (ГБ 23-06, 2006–2010 гг.).

Целью диссертационной работы являлось выяснение механизмов биодеградации сим-триазиновых пестицидов ферментными системами представителей бактерий рода *Pseudomonas* на основании идентификации интермедиатов деградации и анализа активности ферментов для целенаправленной очистки водных сред и биоремедиации почв.

Для достижения поставленной цели, необходимо было решить следующие задачи:

- провести отбор штаммов бактерий рода *Pseudomonas*, способных осуществлять деградацию прометрина и симазина;
- изучить ферментные системы бактерий *P. aeruginosa* В-7 и *P. aurantica* В-162, осуществляющих деградацию прометрина и симазина соответственно;
- разработать метод количественного определения сим-триазиновых гербицидов и интермедиатов их биодеградации, определить кинетические параметры последней;
- провести идентификацию интермедиатов и предложить механизмы деградации прометрина и симазина ферментными системами бактерий-деструкторов;
- изучить деградацию прометрина и симазина клетками бактерий-деструкторов в модельных почвенных системах.
- изучить возможность использования иммобилизации клеток бактерий-деструкторов и кометаболизма в биодеградации сим-триазиновых пестицидов.

Объект исследования: прометрин и симазин – гербициды сим-триазинового ряда; представители бактерий рода *Pseudomonas*.

Предмет исследования: деградация прометрина и симазина ферментными системами бактерий-деструкторов в водных средах и модельных почвенных системах.

Положения, выносимые на защиту.

1. Бактерии *Pseudomonas aeruginosa* В-7 являются деструкторами гербицида прометрина по механизму, включающему две последовательные стадии окисления по атому серы, замещение метилсульфоновой группы на гидроксильную, дезалкилирование с образованием аммелина, дезаминирование с образованием циануровой кислоты.

2. Бактерии *Pseudomonas aurantica* В-162 являются деструкторами гербицида симазина. Механизм биодеградации включает стадии дехлорирования, дезалкилирования с образованием аммелина, или дегидратации с образованием конъюгата гидроксипроизводного симазина, дезаминирования с образованием

циануровой кислоты.

3. Цитохром P-450-зависимые монооксигеназные ферментные системы бактерий *P. aeruginosa* В-7 и *P. aurantica* В-162 являются ключевыми в деградации сим-триазиновых гербицидов. Активность оксидоредуктаз электрон-транспортной цепи и содержание цитохромов P-450 и b_5 у данных бактерий зависят от структуры субстрата.

4. Бактерии *P. aeruginosa* В-7, эффективно деградирующие прометрин, могут быть использованы для создания биопрепаратов, предназначенных для ремедиации почв и водных сред, загрязненных гербицидом. Бактерии *P. aurantica* В-162 в иммобилизованном состоянии эффективно деградируют симазин и могут быть использованы в проточных системах для очистки водных сред, загрязненных этим гербицидом.

Личный вклад соискателя. Соискателем собрана и проанализирована научная литература по теме диссертации, лично получены экспериментальные данные, составляющие основу диссертационной работы, осуществлена их систематизация, анализ, обобщение и статистическая обработка, подготовлены публикации. В статьях, написанных в соавторстве, разработка методов количественного и качественного анализа ксенобиотиков, определения активности ферментов, интерпретация данных принадлежит диссертанту. Хромато-масс-спектрометрический анализ гербицидов и их интермедиатов выполнен совместно с сотрудниками научно-исследовательской лаборатории физико-химических методов исследований БГТУ, что отражено в совместных публикациях. В опубликованных научных работах планирование экспериментов и статистическая обработка результатов выполнены диссертантом лично, интерпретация полученных результатов проводилась совместно с научным руководителем В.Н. Леонтьевым и старшим преподавателем кафедры биотехнологии и биоэкологии Т.И. Ахрамович.

Апробация результатов диссертации. Основные положения и результаты исследования доложены на международных конференциях «Проблемы биодеструкции техногенных загрязнителей окружающей среды» (Саратов, 2005 г.), «Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии» (Минск, Институт микробиологии НАН Беларуси, 2006, 2008 гг.), Международной научно-практической конференции «Ресурсо- и энергосберегающие технологии и оборудование, экологически безопасные технологии» (Минск, Белорусский государственный технологический университет, 2005 г.), Международной научно-практической конференции «Техника и технология защиты окружающей среды» (Минск, Белорусский государственный технологический университет, 2006 г.), II Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы экологии – 2008» (Гродно, Гродненский го-

сударственный университет им. Янки Купалы, 2008 г.), Международной научно-технической конференции «Новые технологии рециклинга отходов производства и потребления» (Минск, Белорусский государственный технологический университет, 2008), III Международной научно-технической конференции «Ксенобиотики и живые системы» (Минск, Белорусский государственный университет, 2008 г.), 69, 73 ежегодных научно-технических конференциях БГТУ (Минск, Белорусский государственный технологический университет, 2004, 2008 гг.).

Опубликованность результатов диссертации. По материалам диссертации опубликовано 17 научных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых журналах (объем – 1,65 авторского листа), 2 – в сборнике научных трудов, 9 – в материалах республиканских и международных научных конференций, 3 – в тезисах докладов научных конференций. Общий объем опубликованных материалов составляет 5,3 авторского листа.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 136 страницах и состоит из введения, общей характеристики работы, пяти глав, заключения, библиографического списка, включающего 229 источников, в том числе 17 собственных публикаций соискателя, и трех приложений. Работа содержит 49 рисунков, размещенных на 25 страницах и 10 таблиц, размещенных на 6 страницах.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования. Объектами исследования являлись штаммы бактерий рода *Pseudomonas* из коллекции кафедры биотехнологии и биоэкологии (64 штамма) и сим-триазиновые гербициды прометрин и симазин. Отбор штаммов проводили в два этапа. На первом исследовали ингибирующее действие сим-триазиновых гербицидов на рост бактерий при их культивировании на плотной питательной среде. На втором этапе изучали способность чистых культур использовать сим-триазиновые гербициды в качестве единственного источника углерода и энергии путем посева их на плотную среду с концентрацией гербицидов 0,1 и 0,05%.

Для культивирования штаммов деструкторов использовали синтетические среды. Глюкозу (0,2% (об.)) или гербициды (0,05% (мас.)), добавляли в качестве единственного источника углерода и энергии. Глюкозу, гексан, ацетат, этанол добавляли в качестве косубстратов в количестве 0,1% (об.).

Культивирование микроорганизмов осуществляли в колбах Эрленмейера объемом 250 мл на качалке в условиях аэрации (200 об/мин) при 30°C.

Рост бактериальных культур контролировали путем измерения экстинкции культуральной жидкости на фотометре КФК-3 при 580 нм в кюветках толщиной 0,5 см.

Выделение сим-триазиновых гербицидов, а также интермедиатов их деградации штаммами деструкторами осуществляли методом экстракции из культуральной жидкости (КЖ) диэтиловым эфиром.

Для идентификации и количественной оценки содержания сим-триазиновых гербицидов и интермедиатов их биодеградации использовали метод высокочувствительной жидкостной хроматомасс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС).

Определение активности оксидоредуктаз в клетках бактерий осуществляли по методу (G. Dallner, 1972), а содержания цитохромов *b₅* и P-450 – по методу (T. Omura, 1964) в модификации (Г.И. Соколичик, 1999) на спектрофотометре Specord M-40. Изучение дегалогеназной активности бактерий проводили потенциометрически с применением хлорселективного электрода (О.С. Игнатовец, 2008). Концентрацию белка определяли спектрофотометрически (O. Warburg, 1942).

Исследование биодеградации сим-триазиновых гербицидов в модельных почвенных системах проводили путем внесения инокулянта бактерий-деструкторов в стерильную почву, содержащую гербициды (0,1%), с последующим инкубированием в течение 30 суток. Рост бактериальных культур в почве контролировали чашечным методом Коха и рассчитывали число КОЕ на 1 г почвы.

Кинетику ферментативной деградации сим-триазиновых гербицидов иммобилизованными на волокне «Нитрон» клетками бактерий рода *Pseudomonas* изучали в проточной системе по изменению экстинкции КЖ при 221 нм с использованием предварительно азрированных растворов гербицидов.

Обработку экспериментальных данных проводили на ПЭВМ с использованием табличного процессора Microsoft Excel 2003 и математической системы Statistica.

Механизм деградации прометрина бактериями рода *Pseudomonas*. Коллекция почвенных бактерий рода *Pseudomonas* была проанализирована на способность использовать прометрин в качестве источников азота или углерода и энергии. Для дальнейших исследований был выбран штамм бактерий *Pseudomonas aeruginosa* В-7, который активно рос на средах с прометрином, используя его при этом в качестве единственного источника углерода и энергии, при концентрации гербицида в среде 0,05% (мас.).

Клетки бактерий рода *Pseudomonas*, способные к окислению ксенобиотиков, содержат монооксигеназные ферментные системы с цитохромом P-450 в качестве терминальной оксидазы (Т.И. Ахрамович, 2002). Функционирование

цитохром Р-450-содержащей монооксигеназной ферментной системы требует участия оксидоредуктаз НАДФН·Н⁺- и НАДН·Н⁺-зависимых электрон-транспортных цепей, цитохромов *b*₅ и Р-450. Результаты исследований активности оксидоредуктаз показали, что замена углеводного субстрата на гербицид в клетках бактерий приводит к увеличению активности всех видов НАДН·Н⁺-зависимых ферментов за исключением НАДН·Н⁺-НТ-редуктазы, которая в меньшей степени зависит от типа субстрата (таблица 1).

Таблица 1 – Активность оксидоредуктаз с добавленными акцепторами электронов в клетках бактерий *P. aeruginosa* В-7

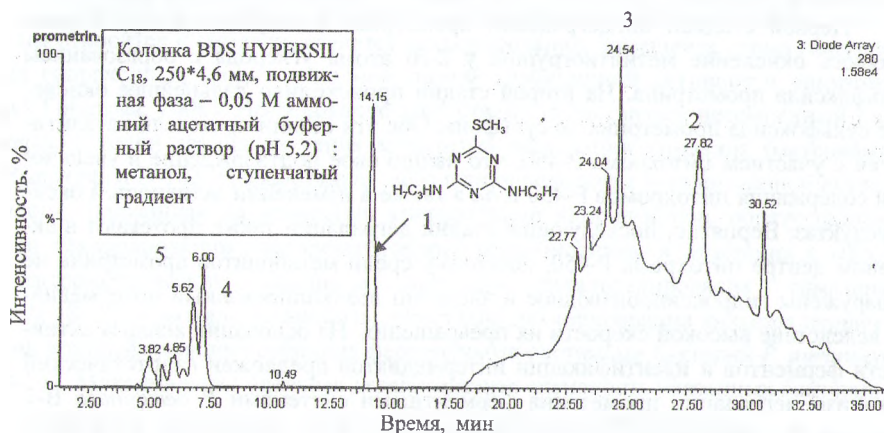
Донор/акцептор электронов	Активность оксидоредуктаз, нмоль/мин·мг белка	
	глюкоза	прометрин
НАДН: 2,6-ДХФИФ	1,81±0,21	3,76±0,20
НАДФН: 2,6-ДХФИФ	2,33±0,32	2,45±0,15
НАДН: цитохром с	1,87±0,25	3,69±0,32
НАДФН: цитохром с	0,61±0,05	1,92±0,09
НАДН: K ₃ Fe (CN) ₆	21,54±1,20	39,52±0,98
НАДФН: K ₃ Fe (CN) ₆	15,12±0,83	22,41±1,10
НАДН: НТ	0,33±0,02	0,32±0,02
НАДФН: НТ	0,15±0,01	0,27±0,02

Примечание. ДХФИФ – 2,6-дихлорфенолиндифенолят натрия, НТ – несететразолий синий

Максимальные значения активности НАДН·Н⁺- и НАДФН·Н⁺-феррицианид-редуктаз свидетельствуют о том, что наибольшее влияние гербицид оказывает на активность НАДН·Н⁺-цитохром *b*₅-редуктазы и НАДФН·Н⁺-цитохром Р-450-редуктазы, участвующих в транспорте электронов к цитохромам *b*₅ и Р-450. Результаты измерений содержания гемопротеинов свидетельствуют о том, что в клетках бактерий, взятых в логарифмической фазе роста, замена глюкозы на гербицид вызывает активацию биосинтеза цитохромов *b*₅ и Р-450 и их уровень достигает значений 0,02 и 0,04 нмоль/мг белка, соответственно. Таким образом, установлено, что в окислении прометрина клетками бактерий *P. aeruginosa* В-7, участвует цитохром Р-450-зависимая монооксигеназная ферментная система, состоящая из 4 компонентов, функционирующих как в НАДФН·Н⁺-, так и в НАДН·Н⁺-зависимых электрон-транспортных цепях, сопряженных с реакцией окисления органических субстратов: НАДФН·Н⁺-цитохром Р-450-редуктазу, НАДН·Н⁺-цитохром *b*₅-редуктазу, цитохром *b*₅ и цитохром Р-450.

Динамику превращения прометрина в периодической культуре клетками бактерий-деструкторов, изучали с помощью метода ВЭЖХ-МС, используя прометрин в качестве ростового субстрата. На рисунке 1 представлена хроматограмма прометрина и продуктов его деградации в эфирном экстракте КЖ че-

рез 24 ч после начала культивирования бактерий-деструкторов. Идентификацию образовавшихся продуктов проводили на основании масс- и электронных спектров, зарегистрированных в хроматографических пиках в разные временные интервалы от начала ферментации.



1 – прометрин (14,1 мин); 2 – сульфоксид прометрина (27,8 мин); 3 – сульфон прометрина (24,5 мин); 4 – аммелин (6,0 мин); 5 – циануровая кислота (5,6 мин)

Рисунок 1 – Хроматограмма прометрина и продуктов его биодegradации

В электронных спектрах поглощения сим-триазиновое кольцо, являющееся хорошей хромофорной группой, проявляется в виде интенсивной полосы с максимумом при 221 нм, положение которого незначительно зависит от структуры заместителей. Все идентифицированные интермедиаты в своих электронных спектрах имели эту характеристическую полосу. Идентифицированы четыре метаболита прометрина: сульфоксид (m/z 255,8) и сульфон (m/z 274,8) прометрина, аммелин (m/z 128,4), а также циануровая кислота (m/z 130,2). Сульфоксид прометрина идентифицировали в области отрицательных ионов по $[M-H]^-$, остальные интермедиаты – в области положительных ионов по $[M+H]^+$, как наиболее интенсивным сигна-

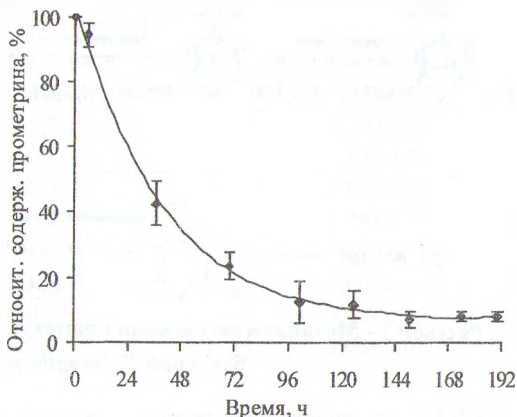


Рисунок 2 – Кинетическая кривая деградации прометрина бактериями *P. aeruginosa* В-7

лам. Результаты кинетических исследований показали, что в течение первых 2 суток клетки бактерий-деструкторов используют более 70% прометрина при его начальной концентрации в среде 500 мг/л (рисунок 2). Наибольшую убыль прометрина наблюдали в период логарифмической фазы роста культуры.

Первой стадией биодеградации прометрина бактериями-деструкторами являлось окисление метилтиогруппы у 2-го атома углерода с образованием сульфоксида прометрина. На второй стадии происходило дальнейшее окисление сульфоксида прометрина до сульфона. Обе эти стадии протекали каталитически с участием цитохрома P-450, что нашло свое подтверждение в увеличении содержания цитохромов P-450 и b_5 , а также в изменении активностей оксидоредуктаз. Вероятно, последующие стадии деградации также протекают в активном центре цитохрома P-450, поскольку среди метаболитов прометрина не обнаружены гидроксипроизводное и частично деалкилированный интермедиаты вследствие высокой скорости их превращения. На основании анализа активности ферментов и идентификации интермедиатов предложен гипотетический механизм деградации прометрина ферментными системами *P. aeruginosa* B-7 (рисунок 3). Деградация прометрина протекает через следующие последовательные стадии: окисление метилтиогруппы с образованием сульфоксида прометрина; окисление метилсульфоксогруппы с образованием сульфона прометрина; замещение метилсульфдиокогруппы на гидроксильную; дезалкилирование изопропиламиногрупп с образованием аммелина; дезаминирование последнего с образованием циануровой кислоты; расщепление сим-триазинового кольца с образованием аммиака и диоксида углерода.

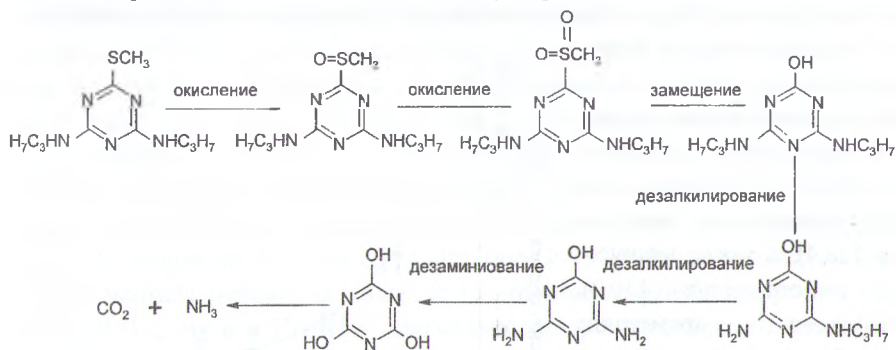


Рисунок 3 – Механизм деградации прометрина ферментными системами бактерий *P. aeruginosa* B-7

Механизм биодеградации симазина и особенности дехлорирования хлорароматических ксенобиотиков. Скрининг коллекции бактерий рода *Pseudomonas* по симазин-деградирующей способности показал, что бактерии

P. aurantica В-162 используют гербицид (0,05%) в качестве ростового субстрата, бактерии *P. fluorescens* В-22 и *P. aeruginosa* PAO1 устойчивы к высоким концентрациям симазина (0,1%), но не используют его в качестве единственного источника углерода и энергии.

Ключевой стадией детоксикации хлорароматических соединений, к которым относится и симазин, является дехлорирование. Замещение атома галогена на гидроксил приводит к полной потере гербицидной активности симазина (О. Гобатова, 2006). Исследование этой стадии представляет несомненный интерес с точки зрения изучения механизма деградации симазина бактериями *P. aurantica* В-162. Разработанная методика определения дегалогеназной активности, основанная на измерении концентрации хлорид-ионов, образующихся при дехлорировании хлорароматических ксенобиотиков, в сочетании с масс-спектрометрическим анализом продукта дегалогенирования симазина (m/z 184,6) позволила установить, что стадия дехлорирования является первичной в трансформации гербицида ферментными системами бактерий *P. aurantica* В-162. Максимальная удельная дегалогеназная активность указанных бактерий, выращенных на симазине, составила $4,8 \cdot 10^{-5}$ моль-экв/мин·мг белка.

Последующая биодеградация 2-гидрокси-4,6-бис(этиламино)-симмтриазина связана с участием цитохром Р-450-зависимой монооксигеназной ферментной системы. Измеренные активности оксидоредуктаз в клетках бактерий-деструкторов, выращенных на симазине, превышают таковые в клетках бактерий, выращенных на глюкозе, за исключением НАДФН: $K_3Fe(CN)_6$ -редуктазы (таблица 2).

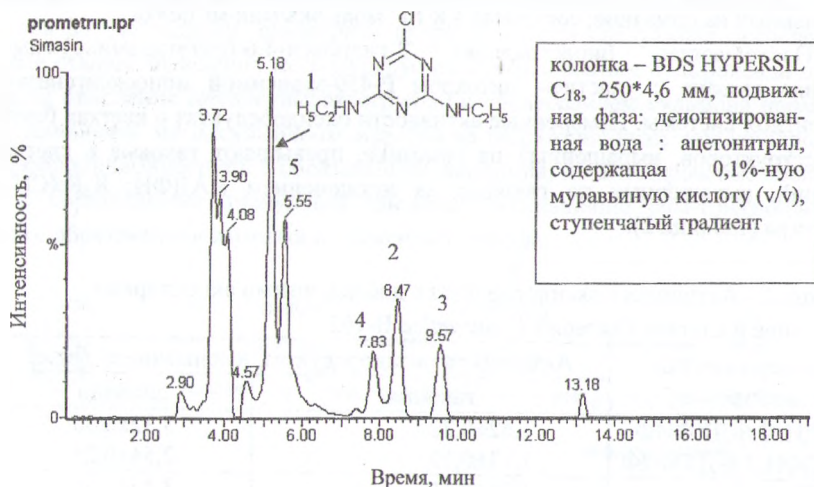
Таблица 2 – Активность оксидоредуктаз с добавленными акцепторами электронов в клетках бактерий *P. aurantica* В-162

Донор/акцептор электронов	Активность оксидоредуктаз, нмоль/мин·мг белка	
	глюкоза	симазин
НАДН: 2,6-ДХФИФ	1,62±0,22	3,32±0,30
НАДФН:2,6-ДХФИФ	1,13±0,19	2,54±0,25
НАДН: цитохром с	1,74±0,31	3,45±0,41
НАДФН: цитохром с	0,72±0,05	1,28±0,15
НАДН: $K_3Fe(CN)_6$	20,19±0,90	36,87±1,10
НАДФН: $K_3Fe(CN)_6$	14,62±1,10	16,04±0,65
НАДН: НТ	0,23±0,05	0,37±0,06
НАДФН: НТ	0,18±0,03	0,08±0,01

Это свидетельствует о замедлении переноса электронов по НАДФН-зависимой электрон-транспортной цепи и, следовательно, об уменьшении активности НАДФН-цитохром Р-450-редуктазы. Инактивация указанных фер-

ментов обусловлена механизмом деградации симазина данным штаммом бактерий, а именно, первой стадией – дехлорированием. Это ингибирование приводит к тому, что содержание цитохромов b_5 и Р-450 в клетках бактерий *P. aurantica* В-162, выращенных на симазине, увеличивается значительно, чем в клетках *P. aeruginosa* В-7, деградирующих прометрин. При замене глюкозы на симазин в качестве источника углерода и энергии, содержание цитохромов b_5 и Р-450 в клетках бактерий-деструкторов достигает значений 0,03 и 0,09 нмоль/мг белка соответственно, что подтверждает участие цитохром Р-450-зависимой монооксигеназной ферментной системы бактерий *P. aurantica* В-162 в окислении симазина.

Выяснение механизма деградации симазина ферментными системами бактерий *P. aurantica* В-162 осуществляли с помощью метода ВЭЖХ-МС. На хроматограмме экстракта КЖ, полученной при культивировании бактерий-деструкторов симазина, видно наличие, кроме гербицида (время выхода 5,1 мин), еще 5 хроматографических пиков (рисунок 3).



1 – симазин (5,1 мин); 2 – гидроксипроизводное симазина (8,4 мин); 3 – конъюгат гидроксипроизводного (9,5 мин); 4 – аммелин (8,4 мин); 5 – циануровая кислота (5,5 мин)

Рисунок 3 – Хроматограмма симазина и интермедиатов его биодеградации

На первой стадии биодеградации симазина образуется его гидроксипроизводное, имеющее молекулярный ион с m/z 184,5. На следующих стадиях деградации образуются 2-окси-4,6-бис(амино)-симм-триазин (m/z 349,7), аммелин (m/z 128,4) и циануровая кислота (m/z 130,4). Количественный анализ симазина в культуральной жидкости показал, что деградация гербицида началась через 6 ч после начала ферментации (рисунок 4). Деградация симазина бактериями

P. aurantica В-162 сопряжена с ростом культуры. Содержание симазина в среде к выходу культуры на стационарную фазу роста составляло порядка 20% от исходного.

Выполненные исследования позволили установить, что деградация симазина ферментными системами бактерий *P. aurantica* В-162 протекает по двум путям и включает следующие стадии: дегалогенирование с образованием гидроксипроизводного симазина, дезалкилирование с образованием аммелина или дегидратация с образованием конъюгата (рисунок 5). Дальнейшая деградация протекает по общему пути через дезаминирование аммелина до циануровой кислоты и расщепление симтриазинового кольца с образованием аммиака и диоксида углерода.

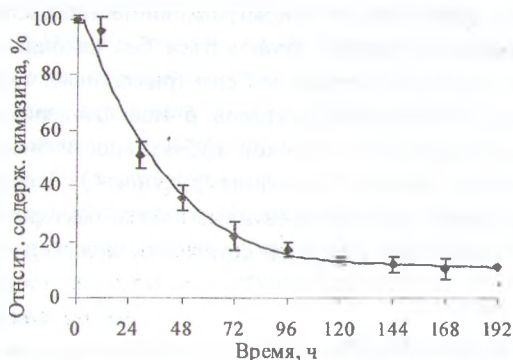


Рисунок 4 – Кинетическая кривая деградации симазина бактериями *P. aurantica* В-162

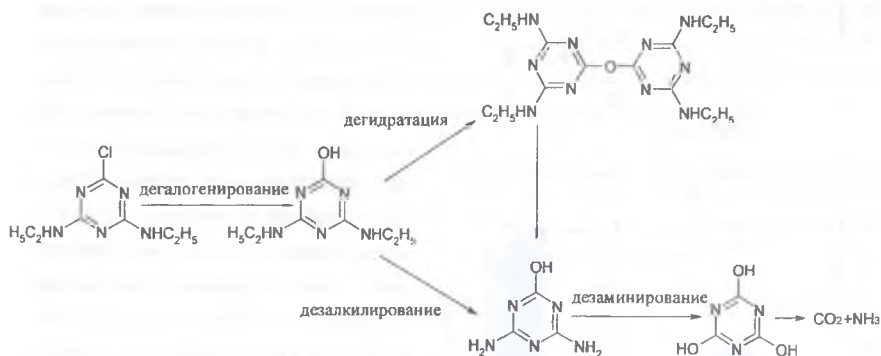


Рисунок 5 – Механизм деградации симазина ферментными системами бактерий *P. aurantica* В-162

Изучение динамики накопления метаболитов показало, что лишь циануровая кислота сохранялась длительное время в культуральной жидкости. Остальные продукты не накапливались, а подвергались дальнейшему разложению. Учитывая, что циануровая кислота в организме рыб и млекопитающих разлагается довольно быстро, следует считать, что образующиеся в процессе деградации симазина ферментными системами штамма *P. aurantica* В-162 метаболиты, не представляют опасности для окружающей среды.

Практическое использование бактерий-деструкторов сим-триазиновых гербицидов. Перед интродукцией микроорганизмов в окружающую среду необходимо спрогнозировать их выживаемость, поведение и оценить эффективность биодegradации пестицида. Кроме того, биодegradация ксенобиотиков должна проводиться без накопления токсичных интермедиатов. Исследование дegradации сим-триазиновых гербицидов ферментными системами бактерий-деструкторов в модельно-загрязненных почвенных системах свидетельствует о высокой эффективности биодеструкции прометрина и сравнительно низкой – симазина (рисунок 6). Дegradация прометрина в почве, содержащей интродуцированные клетки бактерий-деструкторов, заметна уже на 5-е сутки, через 15 дней остаточное количество гербицида составляло 30%, а

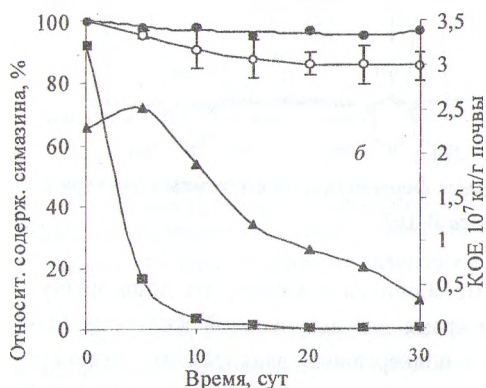
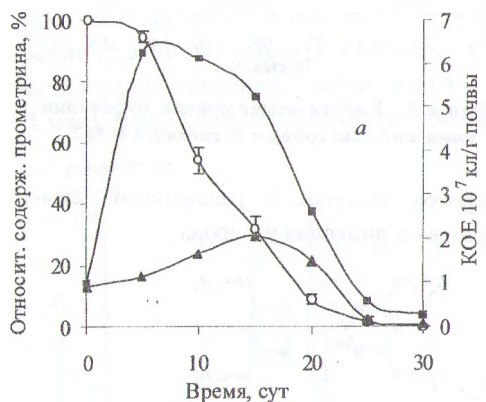


Рисунок 6 – Динамика прометрина (а), симазина (б) и численности бактерий-деструкторов в модельно-загрязненных почвенных системах

через месяц он присутствовал в следовых количествах. В процессе биодegradации прометрина в почве обнаруживались такие промежуточные продукты, как сульфоксид и сульфен прометрина, но они довольно быстро подвергались дальнейшей трансформации. Сравнительный анализ количества клеток в модельно-загрязненной почве с прометрином и в модельной почвенной системе без гербицида показал, что максимальная концентрация бактерий-деструкторов в почве с прометрином выше максимальной концентрации указанных микроорганизмов в почве в отсутствие гербицида. Это свидетельствует о том, что прометрин не оказывает ингибирующего действия на рост клеток штамма-деструктора и является ростовым субстратом. Анализ динамики симазина в контрольной (отсутствуют клетки штамма-деструктора) и опытной (с интродуцированной культурой)

почвах показал, что механизмы деградации свободного и адсорбированного на частицах почвы симазина различны. Деградация симазина в почве монокультурой протекает очень медленно и заканчивается, практически, на первой стадии дегалогенирования. Это обусловлено механизмом деградации указанного гербицида бактериями *P. aurantica* В-162. На первой стадии биотрансформации симазина бактериями-деструкторами образуется гидроксипродергид симазина, биодоступность которого ниже, чем у гербицида (W. Roy, 1994). Анализ роста интродуцированной культуры показал, что после первых 5 суток экспозиции численность КОЕ снизилась на порядок, и затем монотонно снижалась. В конце месяца рост культуры был полностью подавлен. Такое поведение культуры объясняется отсутствием в почве доступного источника углерода и энергии, так как образовавшийся гидроксипродергид симазина не доступен ферментным системам из-за его сорбции компонентами почвы.

В связи с тем, что биодеградация симазина в модельно-загрязненной почве при интродукции бактерий протекает медленно, изучили влияние легкоусвояемых микроорганизмами источников питания и энергии, внесение которых в почву могло бы интенсифицировать процесс деградации. В процессе скрининга бактерий рода *Pseudomonas* по симазин-деградирующей способности, были отобраны 2 штамма, устойчивых к высоким концентрациям гербицида в среде. Исследования биодеградации симазина в условиях кометаболизма свидетельствуют, что бактерии *P. fluorescens* В-22 и *P. aeruginosa* PAO1 способны осуществлять трансформацию или деградацию симазина с такими дополнительными субстратами, как глюкоза, гексан, этанол, ацетат натрия (рисунок 7).

Наиболее эффективным косубстратом для обоих штаммов являлась глюкоза, причем ее роль в данном случае заключалась в том, что в качестве ростового субстрата она обеспечивала наибольший прирост биомассы. Таким образом, бактерии *P. fluorescens* В-22 и *P. aeruginosa* PAO1 могут быть использованы в технологиях ремедиации объектов окружающей среды при использовании углеводов в качестве косубстратов.

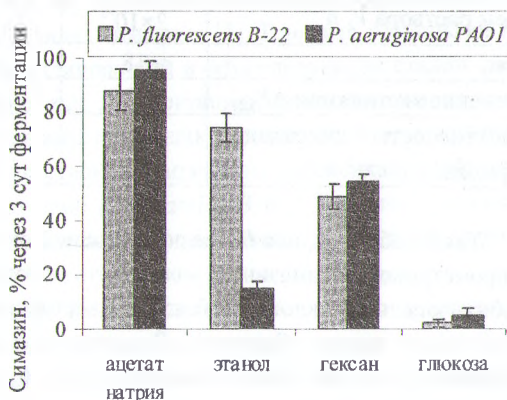


Рисунок 7 – Влияние косубстратов на биодеградацию симазина

Использование иммобилизованных клеток микроорганизмов в процессах биodeградации сим-триазиновых ксенобиотиков имеет целый ряд преимуществ по сравнению со свободно-сuspendedированными клетками (S. Siripattanakul, 2008). В настоящей работе для сравнения эффективности биodeградации гербицидов в проточной системе, определяли изменение количества вещества в молях во времени, отнесенное к числу клеток бактерий в системе. Сравнительный анализ эффективности деградации гербицидов показал, что удельная скорость деструкции симазина иммобилизованными клетками на порядок выше, чем для свободно-сuspendedированных клеток (таблица 3). В экспериментах с прометрином, эффективность деструкции гербицида иммобилизованными клетками в 2 раза выше, чем свободно-сuspendedированными. Эти результаты подтверждают более высокую метаболическую активность иммобилизованных клеток и находятся в соответствии с результатами определения содержания цитохромов P-450 и *b₅*, а также активностью оксидоредуктаз для клеток бактерий *P. aurantica* B-162 и *P. aeruginosa* B-7.

Таблица 3 – Эффективность деградации гербицидов иммобилизованными и свободно-сuspendedированными клетками бактерий

Показатели эффективности деградации	Иммобилизованные клетки		Свободно-сuspendedированные клетки	
	Прометрин	Симазин	Прометрин	Симазин
Число клеток $N_{кл}$	4×10^8	2×10^8	3×10^9	3×10^9
Объем раствора V , л	2×10^{-2}	2×10^{-2}	5×10^{-2}	5×10^{-2}
Δt , ч	18	18	22	22
Изменение экстинкции ΔE_{221}	0,24	0,44	0,4	0,35
Эффективность деградации E_d , фмоль/ч	0,51	2,22	0,23	0,24

Таким образом, для более эффективной очистки водных сред, загрязненных прометрином и симазинном, могут быть использованы проточные системы с иммобилизованными клетками бактерий-деструкторов. Эффективность деградации на одну клетку бактерий *P. aeruginosa* B-7 для прометрина равна 0,51 фмоль/ч, а бактерий *P. aurantica* B-162 для симазина составляет 2,22 фмоль/ч.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Выявлено наличие цитохром Р-450-содержащей монооксигеназной ферментной системы и активация ее биосинтеза в клетках бактерий *P. aeruginosa* В-7, осуществляющих деградацию сим-триазинового гербицида – прометрин [2, 6]. Впервые установлен механизм деградации прометрина бактериями *P. aeruginosa* В-7 и определена ключевая роль монооксигеназной ферментной системы, состоящей из 4 компонентов, функционирующих как в НАДФН-Н⁺-, так и в НАДН-Н⁺-зависимых электронтранспортных цепях, сопряженных с реакцией окисления органических субстратов: НАДФН-Н⁺-цитохром Р-450-редуктазу, НАДН-Н⁺-цитохром *b*₅-редуктазу, цитохром *b*₅ и цитохром Р-450. Показана зависимость активностей оксидоредуктаз и содержания цитохромов *b*₅ и Р-450 у бактерий указанного штамма от структуры субстрата и фазы роста. Обнаружено, что деградация прометрина протекает через следующие стадии: две последовательные реакции окисления по атому серы, гидролиз, дезалкилирование, дезаминирование, с образованием конечных продуктов деградации – аммиака и углекислого газа, что является свидетельством возможности детоксикации объектов окружающей среды клетками бактерий *P. aeruginosa* В-7 [9, 13]. Выявлено, что клетки указанного штамма осуществляют деградацию прометрина в водной среде на 92% за 192 ч [3, 16].

2. Бактерии *P. aurantica* В-162 содержат цитохром Р-450-зависимую монооксигеназную ферментную систему, занимающую ключевое положение в деградации сим-триазинового гербицида симазина [2]. Впервые установлен механизм биодеградации симазина, включающий в себя следующие стадии: дегалогенирование, дезалкилирование или дегидратацию, дезаминирование с последующим раскрытием триазинового гетероцикла и образованием конечных продуктов, что является свидетельством возможности детоксикации объектов окружающей среды клетками бактерий *P. aurantica* В-162. Выявлено, что клетки указанного штамма осуществляют деградацию симазина в водной среде на 90% за 192 ч [4, 7, 13].

3. Разработана методика определения дегалогеназной активности бактериальных клеток, позволившая определить активность внутриклеточных дегалогеназ бактерий *P. aurantica* В-162 и впервые установить, что начальным этапом деградации симазина клетками этого штамма является дехлорирование, а также провести сравнительный анализ эффективности дегалогенирования изомерных хлорфенолов разными штаммами бактерий рода *Pseudomonas* для отбора наилучших деструкторов этих ксенобиотиков в объектах окружающей среды [1, 4, 5].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Разработана методика определения дегалогеназной активности бактериальных клеток, которая может быть использована для биохимических исследований ферментативных реакций галогенирования (дегалогенирования) различных субстратов и найти применение в области биоорганического синтеза, биохимии микроорганизмов, охраны окружающей среды. Методика внедрена в учебный процесс при подготовке студентов биологического факультета Белгосуниверситета и используется в курсе «Экологические проблемы Беларуси», что подтверждено актом внедрения результатов исследования в учебный процесс (№ 5416/31В от 8.05.2009 г.).

Методика хромато-масс-спектрометрического анализа сим-триазиновых пестицидов и интермедиатов их микробной деградации в почве и водных средах позволяет изучать механизмы биodeградации сим-триазиновых ксенобиотиков для последующего использования микроорганизмов в технологиях ремедиации сельскохозяйственных угодий и прилегающих к ним водоемов, а также осуществлять мониторинг указанных соединений в объектах окружающей среды. Результаты исследований внедрены в лекционный курс «Экологические проблемы Беларуси» для студентов биологического факультета Белгосуниверситета, что подтверждено актом внедрения результатов исследования в учебный процесс (№ 5416/32В от 8.05.2009 г.).

Бактерии *P. aeruginosa* В-7 могут быть использованы для создания биопрепаратов, предназначенных для ремедиации почв, загрязненных прометрином. В лаборатории динамики пестицидов РУП «Институт защиты растений» была проведена оценка возможного практического использования результатов диссертационных исследований в области охраны окружающей среды для анализа динамики пестицидов сим-триазинового ряда и интермедиатов их биodeградации и разработки биопрепаратов для биоремедиации почвы.

Проточные системы с иммобилизованными клетками бактерий *P. aurantica* В-162 могут быть использованы для создания технологии эффективной очистки водных сред, загрязненных симазином [4, 17].

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЕ

Статьи в журналах

1. Механизм деградации симазина бактериями рода *Pseudomonas*. О.С. Игнатовец, Т.И. Ахрамович, Е.В. Феськова, В.Н. Леонтьев // Доклады НАН Беларуси. – 2006. – Т. 51, №. 2. – С. 61–64.

2. Игнатовец, О.С. Механизм деградации прометрина бактериями рода *Pseudomonas* / О.С. Игнатовец, В.Н. Леонтьев // Доклады НАН Беларуси. – 2008. – Т. 52, №. 3. – С. 81–85.

3. Игнатовец, О.С. Деградация сим-триазиновых гербицидов бактериями рода *Pseudomonas* / О.С. Игнатовец, В.Н. Леонтьев // Труды Белорусского государственного университета. Сер. Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. – 2008. – Т. 3, ч. 1. – С. 71–80.

Статьи в сборниках

4. Роль цитохром Р-450-зависимых монооксигеназных ферментных систем в биodeградации ароматических галогенсодержащих ксенобиотиков И.М. Бурак, Т.И. Ахрамович, В.Н. Леонтьев, О.С. Игнатовец // Труды БГТУ. Сер. IV, Химия и технология органических веществ. – 2003. – Вып. XI. – С. 118–120.

5. Игнатовец, О.С. Роль бактериальных дегалогеназ в деградации хлорсодержащих ароматических ксенобиотиков / О.С. Игнатовец, В.Н. Леонтьев // Труды БГТУ. Сер. IV, Химия и технология органических веществ. – 2008. – Вып. XVI. – С. 169–172.

Материалы конференций

6. Роль монооксигеназных ферментных систем бактерий в биотрансформации и биodeградации ксенобиотиков / В.Н. Леонтьев, Т.И. Ахрамович, И.М. Бурак, О.С. Игнатовец // Ксенобиотики и живые системы: материалы II Международной научной конференции, Минск, 11–15 ноября 2003 г. / Белорус. гос. ун-т; редкол.: проф. В.М. Юрин [и др.]. – Минск, 2003. – С. 173–177.

7. Эпоксидирование ненасыщенных соединений монооксигеназными ферментными системами микроорганизмов / В.Н. Леонтьев, О.С. Игнатовец, И.М. Бурак, Т.И. Ахрамович // Проблемы биодеструкции техногенных загряз-

нителей окружающей среды: материалы Международной конференции, Саратов, 14–16 сентября 2005 г. / Российская академия наук [и др.]; редкол.: О.В. Турковская [и др.]. – Саратов, 2005. – С. 31–32.

8. Игнатовец, О.С. Механизмы биodeградации гетероциклических ксенобиотиков бактериями рода *Pseudomonas* / О.С. Игнатовец, Е.В. Феськова, В.Н. Леонтьев // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии: материалы Международной научной конференции, Минск – Раков, 1–2 июня 2006 г. / НАН Беларуси, отдел. биол. наук, Ин-т. микробиол. [и др.]; ред. комис.: З.М. Алещенкова [и др.]. – Минск, 2006. – С. 36–38.

9. Особенности деградации галогенсодержащих ксенобиотиков триазинового ряда / О.С. Игнатовец, Е.В. Песковая, Т.И. Ахрамович, В.Н. Леонтьев // Техника и технология защиты окружающей среды: материалы Международной научно-практической конференции, Минск, 5–7 декабря 2006 г. / Белорус. гос. технол. ун-т.; редкол.: И.М. Жарский [и др.]. – Минск, 2006. – С. 164–165.

10. Игнатовец, О.С. Анализ сим-триазиновых гербицидов и их метаболитов в природных средах / О.С. Игнатовец, Т.И. Ахрамович, В.Н. Леонтьев // Новые технологии рециклинга отходов производства и потребления: материалы Междунар. науч.-техн. конф., Минск, 28–29 мая 2008 г. / Белорус гос. технол. ун-т; редкол.: И.М. Жарский [и др.]. – Минск, 2008. – С. 40–41.

11. Хромато-масс-спектрометрический анализ интермедиатов деградации прометрина бактериями рода *Pseudomonas* / О.С. Игнатовец, Т.И. Ахрамович, В.Н. Леонтьев, И.В. Лайковская // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии: материалы Международной научной конференции, Минск, 2–6 июня 2008 г.: в 2 ч. / НАН Беларуси, отдел. биол. наук, Инст. микробиол. [и др.]; редкол.: Э.И. Коломиец [и др.]. – Минск, 2008. Ч. 1. – С. 94–96.

12. Игнатовец, О.С. Влияние иммобилизации на биохимическую активность ферментных систем при деградации ксенобиотиков / О.С. Игнатовец, В.Н. Леонтьев, Т.И. Ахрамович // Актуальные проблемы экологии – 2008: материалы IV-й Международной научно-практической конференции, Гродно, 29–31 октября 2008 г. / Гродн. гос. ун-т им. Янки Купалы; редкол.: И.Б. Заводник – Гродно: ГрГУ, 2008. – С. 221–224.

13. Игнатовец, О.С. Механизмы биотрансформации сим-триазиновых гербицидов бактериями рода *Pseudomonas* / О.С. Игнатовец, В.Н. Леонтьев, Т.И. Ахрамович // Ксенобиотики и живые системы: материалы III Международной научной конференции, Минск, 22–24 октября 2008 г. / УО «Бел. гос. ун-т»; редкол.: проф. В.М. Юрин [и др.]. – Минск, 2008. – С. 46–48.

14. Утилизация пестицидов микробиологическим способом / И.М. Бурак, О.С. Игнатовец, Т.И. Ахрамович, В.Н. Леонтьев // Новые технологии рециклин-

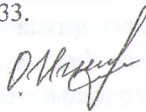
га отходов производства и потребления: материалы Международной науч.-техн. конференции, Минск, 24–26 ноября 2004 г. / Белорус гос. технол. ун-т; редкол.: И.М. Жарский [и др.]. – Минск, 2004. – С. 476–477.

Тезисы докладов:

15. Игнатовец О.С. Биодegradация сим-триазиновых гербицидов / О.С. Игнатовец, М.В. Лобачевская // Повышение ресурсо- и энергоэффективности: наука, технология, образование, труды Международного симпозиума, посвященного 175-летию со дня рождения Д.И. Менделеева Москва, 23–24 апреля, 2009 г. / Федерал. агентство по науке и инновациям [и др.]; редкол.: Ю.И. Капустин [и др.]. – Москва, 2009. – С. 130–131.

16. Игнатовец, О.С. Применение метода ВЭЖХ-МС для анализа продуктов биодegradации триазиновых пестицидов / О.С. Игнатовец, В.Н. Леонтьев // Хроматография в химическом анализе и физико-химических исследованиях: тезисы докладов Всероссийского симпозиума, Москва – Клязьма, 23–27 апреля 2007 г. / Рос. академия наук [и др.]; редкол.: А.Ю. Цивадзе [и др.]. – Москва, 2007. – С. 123.

17. Дegradация сим-триазиновых ксенобиотиков бактериями рода *Pseudomonas* / В.Н. Леонтьев, О.С. Игнатовец, Т.И. Ахрамович // Биотехнология: состояние и перспективы развития: материалы 5-го Международного конгресса, Москва, 16–20 марта 2009 г.: в 2 ч. / Рос. академия наук [и др.]; редкол.: П.Д. Саркисов [и др.]. – Москва, 2009. – Ч. 2. – С. 33.



РЭЗІЮМЭ

Ігнатавец Вольга Сцяпанавіна

Дэградацыя сім-трыазінавых гербіцыдаў прадстаўнікамі роду

Pseudomonas

Ключавыя словы: бактэрыі, сім-трыазінавыя гербіцыды, дэградацыя, цытахромы b_5 і P-450, аксідарэдуктазы, механізм.

Мэта працы: высвятленне механізмаў біядэградацыі сім-трыазінавых пестыцыдаў ферментнымі сістэмамі прадстаўнікоў бактэрыі роду *Pseudomonas* на падставе ідэнтыфікацыі інтэрмедыятаў дэградацыі і аналізу актыўнасці ферментаў для мэтанакіраванай ачысткі водных асяроддзяў і біярэмедыяцыі глеб.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя, біяхімічныя, фізіка-хімічныя.

Выкарыстаная апаратура: спектрафатометр Specord M-40 (Carl Zeiss Германія), сканіруючы электронны мікраскоп JSM-5610 LV (JEOL, Японія), тэрмааналітычная сістэма TA-4000 (Mettler Toledo, Швейцарыя), высокаэфектыўны вадкасны храмата-мас-спектрометр (Waters, ЗША).

Атрыманыя вынікі і іх навізна: у межах работы адабраны штамы бактэрыі роду *Pseudomonas*, здольныя ажыццяўляць дэградацыю сім-трыазінавых гербіцыдаў – праметрыну і сімазіну, у перыядычных і мадэльных глебавых сістэмах. Ідэнтыфікаваны прамежковыя прадукты дэградацыі праметрыну і сімазіну ферментнымі сістэмамі штамаў-дэструктараў, апісаны механізмы іх дэградацыі. Упершыню паказана наяўнасць цытахром P-450-залежнай монааксігеназнай ферментнай сістэмы і актывацыя яе біясінтэзу ў клетках бактэрыі *P. aeruginosa* B-7 і *P. aurantica* B-162. Распрацавана новая метадыка вызначэння дэгалагеназнай актыўнасці клетак бактэрыі. Паказана, што скарыстоўванне імабілізацыі клетак штамаў дэструктараў павялічвае эфектыўнасць дэградацыі сім-трыазінавых гербіцыдаў. Выяўлена, што найлепшым касубстратам у біядэградацыі сімазіна з'яўляецца глюкоза.

Рэкамендацыі па выкарыстанню: Вынікі даследавання могуць быць выкарыстаны пры распрацоўцы тэхналогій рэмедыяцыі глеб і вадаёмаў, а таксама ачысткі сцёкавых вод, забруджаных сім-трыазінавымі пестыцыдамі.

Галіна выкарыстання: ахова навакольнага асяроддзя.

РЕЗЮМЕ

Игнатовец Ольга Степановна

Деградация сим-триазиновых гербицидов представителями рода *Pseudomonas*

Ключевые слова: бактерии, сим-триазиновые гербициды, деградация цитохромы *b₅* и P-450, оксидоредуктазы, механизм.

Цель работы: выяснение механизмов биодеградации сим-триазиновых пестицидов ферментными системами представителей бактерий рода *Pseudomonas* на основании идентификации интермедиатов деградации и анализа активности ферментов для целенаправленной очистки водных сред и биоремедиации почв.

Методы исследований: микробиологические, биохимические, физико-химические.

Использованная аппаратура: спектрофотометр Specord M-40 (Carl Zeiss Германия), сканирующий электронный микроскоп JSM-5610 LV (JEOL, Япония), термоаналитическая система TA-4000 (Mettler Toledo, Швейцария), высокоэффективный жидкостной хромато-масс-спектрометр (Waters, США).

Полученные результаты и их новизна: отобраны штаммы бактерий рода *Pseudomonas*, способные осуществлять деградацию сим-триазиновых гербицидов – прометрина и симазина, в периодических условиях и модельно-загрязненных почвенных системах. Идентифицированы промежуточные продукты деградации прометрина и симазина ферментными системами штаммов деструкторов, описаны механизмы их деградации. Впервые показано участие цитохром P-450-зависимой монооксигеназной ферментной системы и активация ее биосинтеза в клетках бактерий *P. aeruginosa* В-7 и *P. aurantica* В-162 при деградации сим-триазиновых гербицидов. Разработана новая методика определения дегалогеназной активности клеток бактерий. Показано, что использование иммобилизации клеток штаммов деструкторов увеличивает эффективность деградации сим-триазиновых гербицидов. Выявлено, что наилучшим косубстратом в биодеградации симазина бактериями *P. fluorescens* В-22 является глюкоза.

Рекомендации по использованию: результаты исследований могут быть использованы при разработке технологий ремедиации почв и водоемов, а также очистки сточных вод, загрязненных сим-триазиновыми пестицидами.

Область применения: охрана окружающей среды.

THE RESUME

Olga S. Ignatovets

Degradation of herbicides by s-triazine bacteria of stem *Pseudomonas*

Keywords: bacteria, s-triazine herbicides, degradation, cytochromes b_5 and P-450, oxidoreductases, the mechanism.

The purpose of investigation: finding the biodegradation mechanisms of s-triazine pesticides by ferment systems of *Pseudomonas* bacteria on the basis of identification degradation intermediates and analysis of ferments activity for specific purification of water and soil bioremediation.

Methods of researches: microbiological, biochemical, physical and chemical.

The equipment used: spectrophotometer Specord M-40 (Carl Zeiss Germany), scanning electron microscop JSM-5610 LV (JEOL, Japan), thermal analytical system TA-4000 (Mettler Toledo, Switzerland), liquid chromatograph with photodiode array and mass detector's (Waters, USA).

Results and their novelty: strains of *Pseudomonas* bacteria have been selected, which are s-triazine herbicides (prometryne and simazin) degradation in periodic and model soil systems. Intermediate products of prometryne and simazin degradation by ferment systems of destructors strains have been identified; the mechanisms of their degradation have been described. It is the first time when participation cytochrome P-450-depended monooxygenases ferment system and activation of its biosynthesis in cells of bacteria *P. aeruginosa* B-7 and *P. aurantica* B-162 in degradation s-triazines has been shown. The new method of definition dehalogenase activity of bacteria cells has been developed. Use of a immobilization of cells of destructors strains increases efficacy of degradation of s-triazine of herbicides. The best co-substrate in biodegradation of simazin is glucose.

Recommendations on use: Results of researches can be used for the development of remediation of soil and water reservoirs, and also for treatment sewage, caused by s-triazine pesticides.

Field of application: environmental protection.

Научное издание

Игнатовец Ольга Степановна

**ДЕГРАДАЦИЯ СИМ-ТРИАЗИНОВЫХ ГЕРБИЦИДОВ
ПРЕДСТАВИТЕЛЯМИ РОДА *PSEUDOMONAS***

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
по специальности 03.00.16 – экология

Ответственная за выпуск О. С. Игнатовец

Подписано в печать 02.10.2009. Формат 60×84 1/16. Бумага офсетная.
Гарнитура Таймс. Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,5. Ул.-изд. л. 1,5

Тираж 60 экз. Заказ 455.

Учреждение образования

«Белорусский государственный технологический университет».
220006, Минск, Свердлова, 13а. ЛИ № 02330/0549423 от 08.04.2009.

Отпечатано в лаборатории полиграфии учреждения образования
«Белорусский государственный технологический университет».
220006, Минск, Свердлова, 13. ЛП № 02330/0150477 от 16.01.2009.