

РЕФЕРАТ

Отчет 91 с., 1 кн., 32 рис., 5 табл., 91 источн.

ПЕСТИЦИДЫ, ЭТИЛГЕКСИЛОВЫЙ ЭФИР 2,4-ДИХЛОРФЕНОКСИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ, МЕТСУЛЬФУРОН-МЕТИЛ, ТРИБЕНУРОН-МЕТИЛ, ДЕГРАДАЦИЯ, БАКТЕРИИ-ДЕСТРУКТОРЫ, ФЕРМЕНТ, ХРОМАТОГРАФИЯ, ДЕГАЛОГЕНАЗА, КОСУБСТРАТ, САПРОПЕЛЬ

Объекты исследования – почвенные микроорганизмы-деструкторы гербицидов коллекции кафедры биотехнологии, пестициды метсульфурон-метил, этилгексировый эфир 2,4-Д.

Предмет исследования – динамика биodeградации пестицидов на основе 2,4-Д и производных сульфонилмочевины при их совместном применении в почве и использовании косубстратов.

Цель работы – изучение динамики деградации пестицидов на основе 2,4-Д и производных сульфонилмочевины при их совместном применении культурами микроорганизмов-деструкторов в почве с использованием косубстратов.

Основные научные результаты исследовательской работы:

– в результате проведенных исследований была расширена коллекция бактерий-деструкторов 2,4-Д 2- этилгексирового эфира и метсульфурон-метила (трибенурон-метила). Описаны морфологические и физиолого-биохимические признаки новых штаммов бактерий-деструкторов;

– разработаны методики количественного и качественного определения 2,4-Д 2- этилгексирового эфира и метсульфурон-метила (трибенурон-метила) в культуральной жидкости, в почве (метод ВЭЖХ-МС). Разработана методика определения 2,4-Д 2- этилгексирового эфира в культуральной жидкости (метод газовой хроматографии);

– определена динамика деградации пестицидов бактериями-деструкторами штамма М2 при совместном и раздельном внесении 2,4-Д 2- этилгексирового эфира и метсульфурон-метила в питательную среду в качестве единственных источников углерода в различных концентрациях;

– установлено, что одним из этапов деградации 2,4-Д 2-этилгексирового эфира бактериями-деструкторами является дегалогенирование, построена кинети-

ческая кривая дегалогенирования и определена удельная активность дегалогеназ. Удельная активность дегалогеназ рассчитанная в точке на кинетической кривой, соответствующей максимальной скорости дегалогенирования составила $A = (0,62 \pm 0,05) \cdot 10^{-5}$ моль·экв/ мин мг белка;

– интродукция свободно-сuspendedированных клеток бактерий-деструкторов позволила снизить концентрацию ксенобиотиков в почве до 19,70 % по 2,4-Д 2-этилгексиллового эфиру и до 37,5 % по МСМ (без косубстратов). Установлено, что наилучшими косубстратами в процессах деградации для штаммов-деструкторы метсульфурон-метила и этилгексиллового эфира 2,4-Д являются глюкоза и сапропель. Применение дополнительных субстратов увеличивает прирост биомассы и скорость деградации пестицидов, снижает период адаптации клеток к ксенобиотикам, при этом снижается остаточное количество токсичного субстрата в среде по сравнению с контрольными показателями. Использование косубстратов в экспериментах с модельно-загрязненной почвой и интродуцированными бактериями М2 позволило добиться остаточных количеств пестицидов на уровне 21,4 % по МСМ и полной деградации 2,4-Д 2- этилгексиллового эфира.

Рекомендации по практическому применению результатов исследований: полученные при выполнении настоящей работы результаты могут быть использованы для дальнейших исследований и разработок, направленных на создание препаратов для биоремедиации почв, загрязнённых такими пестицидами, как 2,4-Д 2-этилгексилловый эфир и пестициды на основе сульфонилмочевины (метсульфурон-метил, трибенурон-метил и др.).

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время численность населения планеты Земля стремительно растёт, приближаясь к новому рубежу – 8 млрд. Это вызывает необходимость увеличения количества продовольствия, что, в свою очередь, приводит к освоению человеком новых земель и к стремлению увеличить урожайности на уже эксплуатируемых территориях. Положительные результаты в этом направлении даёт использование пестицидов и устойчивых к пестицидам трансгенных культур, дают положительные результаты. Однако, несмотря на все преимущества, использование пестицидов, в частности, гербицидов, увеличение их дозировки и обрабатываемых площадей влечет за собой ряд отрицательных последствий, связанных с загрязнением природной среды. Поэтому важным условием рационального ведения сельского хозяйства является предупреждение нежелательных для биосферы последствий, связанных с применением ядохимикатов. Кроме того синтетические пестициды представляют потенциальную опасность не только для природы, но и для человека.

История широкого применения синтетических пестицидов началась с хлорорганического препарата ДДТ в 1939 г. Однако на фоне успехов, достигнутых благодаря использованию этого препарата, довольно быстро обозначился целый ряд проблем: он оказался очень устойчивым к разложению, задерживался в жировых тканях животных и человека, вызывая тяжелые заболевания и даже гибель [1]. Данный пример негативного действия хлорорганических пестицидов ярко демонстрирует необходимость не просто ликвидации, но, прежде всего, предупреждения отрицательных последствий связанных с применением ядохимикатов.

В настоящее время для уничтожения галогенсодержащих производных ароматического ряда используют метод сжигания остатков, накапливаемых в результате производственных процессов, а также обжигание загрязненных почв. Данные методы имеют существенные ограничения и недостатки, а также не исключают возможности вторичного загрязнения окружающей среды продуктами сжигания.

В настоящее время наиболее перспективным из альтернативных методов очистки является направленная биodeградация, основанная на использовании микроорганизмов, обладающих специальными системами акцептирования и превращения молекул ксенобиотиков в безопасные формы, а также способностью полно-

стью расщеплять опасные соединения. Использование микроорганизмов дает возможность осуществить переработку значительных объемов загрязнений без образования продуктов вторичного загрязнения. Следовательно, современный этап исследований микробиологического воздействия на ксенобиотики характеризуется выраженным практическим интересом к изучению физиологических, биохимических и генетических особенностей штаммов-деструкторов. Возникает необходимость исследовать биodeградацию пестицидов при совместном их применении, так как большинство микроорганизмов являются специфичными по отношению к разлагаемым пестицидам и их дозам. Вместе с тем, следует отметить, что число изученных и применяемых штаммов-деструкторов галогенорганических соединений ограничено. Неполны и представления, раскрывающие особенности практического применения бактерий-деструкторов для ремедиации природных сред.

В связи с вышеизложенным, особенно актуальны исследования, направленные на повышение активности бактерий-деструкторов галоген-содержащих ароматических соединений и ряда других пестицидов, которые зачастую присутствуют в почвах совместно. Наиболее выгодным и экологически безопасным приемом активации микроорганизмов, способных осуществлять биodeградацию пестицидов является применение легкодоступных субстратов и иммобилизация клеток на природных носителях. Однако, для решения этой задачи необходимо получение все-сторонней информации об условиях и скорости деградации ксенобиотиков, конкурентоспособности применяемых микроорганизмов, а также о факторах, обеспечивающих эффективность процесса биodeградации.