

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО РАЗЛОЖЕНИЯ ПЕСТИЦИДА ЦИПЕРМЕТРИН

¹Косимов Диёрбек, ²Зайнитдинова Людмила, ³Мавжудова Азиза, ⁴Эргашев
Рустамбек

^{1,2,3,4}Институт микробиологии АН РУз

<https://doi.org/10.5281/zenodo.8366633>

Аннотация. В этой статье был изучен процесс бактериального разложения пестицида циперметрин. Выделены 9 бактериальных изолятов, среди них отобран один изолят, который накапливал высокую биомассу на среде с пестицидом. Данная бактерия была идентифицирована на основе метода Малди-Тоф как *Ochrobactrum intermedium*. Исследования по бактериальному разложению циперметрина проводились на стерильных почвах в течение месяца. Полученные результаты показали, что эта бактерия полностью разлагала исходный концентрации циперметрина (20 мг/кг и 40 мг/кг почвы).

Ключевые слова: *Ochrobactrum intermedium*, микроорганизмы, разложение, циперметрин, пестицид.

Abstract. In this article, the process of bacterial degradation of the pesticide cypermethrin was studied. 9 bacterial isolates were identified, among them one isolate was selected, which accumulated a high biomass in pesticide media. This bacterium was identified based on the Maldi-Toph method which belongs to the species *Ochrobactrum intermedium*. Studies on bacterial degradation of cypermethrin were carried out in sterile soils for a month. The results obtained showed that this bacterium completely decomposed the initial concentrations of cypermethrin (20 mg/kg and 40 mg/kg soil).

Keywords: *Ochrobactrum intermedium*, bacteria, degradation, cypermethrin, pesticide.

Введение. Серьезной экологической проблемой является загрязнение сельскохозяйственных почв пестицидами. Несмотря на то, что в последнее время стали в большинстве случаев применять новые поколения пестицидов, которые менее токсичны и разлагаются быстрее, проблема остается открытой.

Одним из пестицидов нового поколения является циперметрин – синтетический пиретроидный инсектицид. Пиретроиды представляют собой инсектициды широкого спектра действия [1]. Чрезмерное и широкое использование [2] пиретроидов подавляют функционирование канала хлорид-иона у бактерий, управляемого гамма-аминомасляной кислотой (ГАМК) [3]. Бактерии и грибы обладают большим потенциалом биоразложения широкого спектра пиретроидов [4]. Циперметрин является пиретроидом II типа [1], впервые он синтезирован в 1974 году [5]. В сравнении с пиретроидами I типа, циперметрин содержит цианогруппу, именно эта группа усиливает их инсектицидные свойства [6]. Он используется в сельском и личных приусадебных хозяйствах для борьбы вредными насекомыми, а также в практике медицинской, санитарной и бытовой дезинсекции для борьбы с вредными и синантропными насекомыми, в том числе для борьбы с муравьями и тараканами [7]. Интенсивное использование циперметрина может вызвать экологический ущерб и неблагоприятное воздействие на здоровье человека и окружающую среду [8]. Самым эффективным способом уменьшить количество ксенобиотиков, в том числе и циперметрина, на данный момент является микробная деградация [9]. Есть данные, что некоторые микроорганизмы, относящиеся к рр. *Pseudomonas* [10], *Micrococcus* [11], *Serratia* [12], *Streptomyces* [7] и *Ochrobactrum* [9] разлагают циперметрин.

Материалы и методы. *Характеристика почв:* в работе использовалась сероземная почва фермерского поля, на котором в течение многих лет проводили обработку пестицидами. Образцы почв отбирались с глубины около 0-15 см. Предварительно образцы почвы очищали от крупных включений, просеивали через сито из нержавеющей стали диаметром 2 мм и высушивали в лабораторных условиях.

Образцы и реактивы. Стандарт циперметрина (чистота 97%), ацетон хроматографической чистоты и все другие использованные химические вещества и реагенты были чистыми аналитическими и коммерчески доступными. В работе использовался pH-метр Mettler toledo.

Питательные среды. Для выращивания микроорганизмов использовали МПА, МПБ, Минеральную солевую среду (MSM) (pH 6,8-7,0), содержащую (г/л): K_2HPO_4 -1,5; KH_2PO_4 -0,5; NaCl 0,5; $(NH_4)_2SO_4$ - 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,2 и 1 мл раствора микроэлементов. Раствор микроэлементов состоял из (г/л): H_3BO_3 – 5,0; $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ –5,0; $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ – 3,0; KI – 0.5; NaBr – 0.5; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0.2; $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ – 0.3.

Хроматографическое определение. Исследование было выполнено на газовом хроматографе Agilent 8890В с испарителями с делением и без деления потока, который использовался вместе с ГХ-МС Agilent серии 5977В в режимах SIM, SCAN и ионизации электронным ударом (ЭУ).

Результаты и их обсуждение. В процессе исследований были выделены более 9 изолятов, способных к росту на среде с (10 мг/кг почвы) циперметрина. Методом постепенного увеличения концентрации для дальнейших исследований был отобран один чистый изолят который способен расти при концентрации циперметрина до 40 мг/кг почвы. В лабораторных условиях изучены морфолого-культуральные и физиолого-биохимические свойства (рисунок 1).

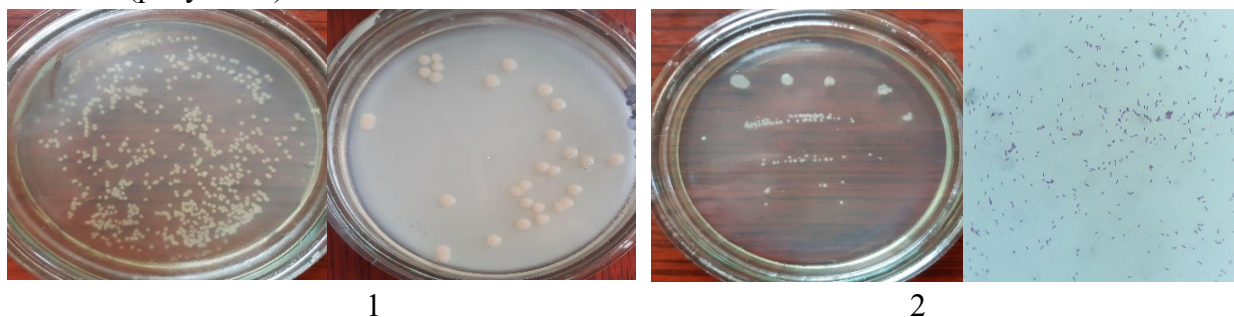


Рисунок 1. Рост на среде MSM с циперметрином (1) и Грамм окрашивание суточной культуры (2) (ув. x1000)

А также проведен анализ Малди-Тоф который показал, что данный штамм относится к виду *Ochrobactrum intermedium*.

Биоразложение пестицидов в почве. В процессе биодеградции пестицидов микроорганизмы-деструкторы используют субстрат в качестве единственного источника энергии. Благодаря биохимическому потенциалу микроорганизмов исходная молекула пестицида расщепляется до более простых соединений. Лабораторные эксперименты по биоразложению циперметрина проводились в течение 30 суток на стерильных почвах с добавлением штамма *Ochrobactrum intermedium*. Для поддержания влажности (60%) каждые 3-4 сутки образцы испытываемых почв орошались стерильной дистиллированной водой. Почвенные пробы отбирались на 0, 10, 20, 30 сутки для хроматографического анализа (рисунок 2).

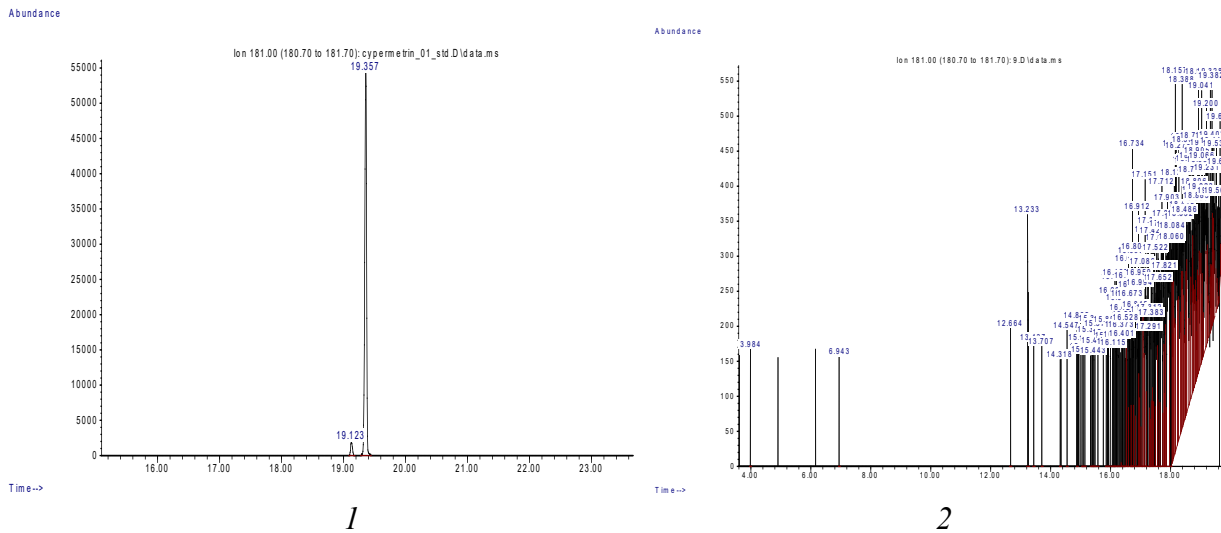


Рисунок 2. 1 – Хроматограммы циперметрина; а – исходная; б – через 30 дней
Результаты хроматографических анализов показывают, что концентрация пестицида в опытных вариантах со временем снижается и на 30 сутки падает до 0, тогда, как в контрольном варианте остается практически на одном уровне (рис.3).

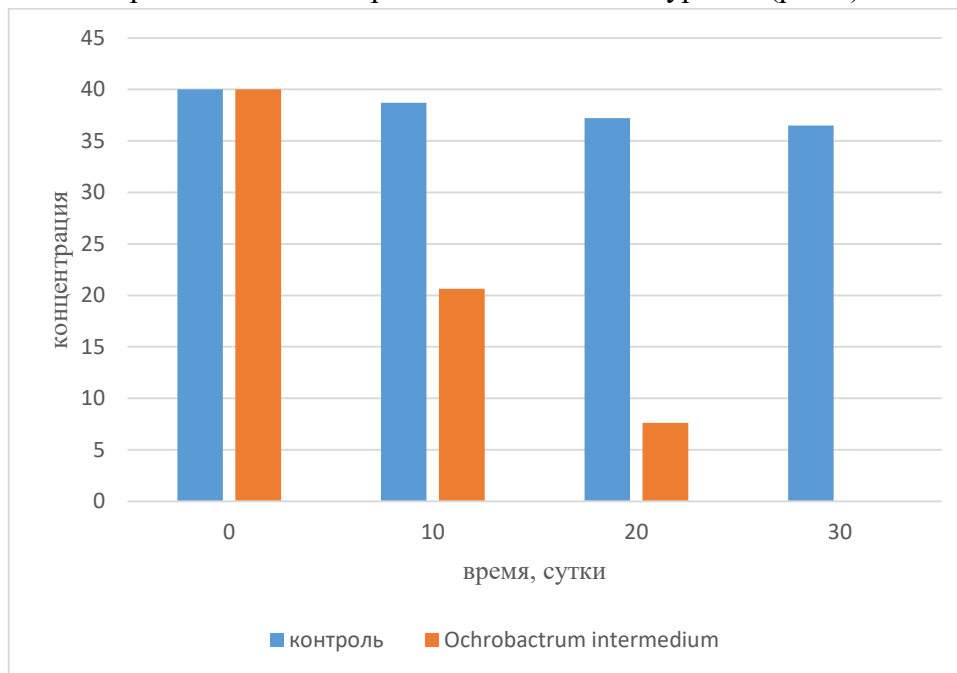


Рисунок 3. Динамика разложения циперметрина штаммом *Ochrobactrum intermedium*

Результаты лабораторных исследований по биоразложению циперметрина (до 40 мг/кг почвы) показали, что отобранный нами бактериальный штамм полностью разлагает этот пестицид. Эти данные свидетельствуют, что в дальнейшем можно использовать штамм *Ochrobactrum intermedium* для биоремедиации почв, загрязненных пестицидом циперметрин.

Закключение. Загрязнение почв пестицидами, помимо вреда для человека и окружающей среды, также приводит к ухудшению жизнедеятельности почвенных микроорганизмов, что значительно снижает способность почв к самоочищению за счет функционирования природных культур. В то же время, биodeградация пестицидов микроорганизмами представляет собой наиболее дешевый, эффективный и экологически

чистый способ удаления токсичных загрязнителей из окружающей среды [13, 14]. Известно также, что для некоторых микроорганизмов пестициды, а также продукты их распада являются смертельно опасными, тогда как другие обладают уникальной способностью использовать пестициды в качестве единственного источника углерода. Поиск и выделение таких микроорганизмов является сложным, но важным для ремедиации способом. В результате наших исследований получен активный штамм микроорганизмов, который способен за короткий период полностью разрушать такой пестицид, как циперметрин. Это открывает большие перспективы для использования данных микроорганизмов в целях биоремедиации почв, загрязненных пестицидами.

REFERENCES

1. Bhatt P, Huang Y, Zhan H and Chen S (2019) Insight into Microbial Applications for the Biodegradation of Pyrethroid Insecticides. *Front. Microbiol.* 10: 1778. doi: 10.3389/fmicb.2019.01778.
2. Kuivila, K. M., Hladik, M. L., Ingersoll, C. G., Kemble, N.E., Moran, P.W., Calhoun, D. L., et al. (2012). Occurrence and potential sources of pyrethroid insecticides in stream sediments from seven U.S. metropolitan areas. *Environ. Sci. Technol.* 46, 4297–4303. doi: 10.1021/es20448.
3. Bradberry, S. M., Cage, S. A., Proudfoot, A. T., and Vale, J. A. (2005). Poisoning due to pyrethroids. *Toxicol. Rev.* 24, 93–106. doi: 10.2165/00139709-200524020-00003.
4. Xu, H., Li, W., Schillmiller, A. L., Eekelen, H. V., de Vos, R. C. H., de Vos, R. C. H., et al. (2019). Pyrethric acid of natural pyrethrin insecticide: complete pathway elucidation and reconstitution in *Nicotiana benthamiana*. *New Phytol.* 223, 751–765. doi: 10.1111/nph.15821.
5. R. Balagurunathan et al /International Journal of ChemTech Research, 2018,11 (05): 509-520.
6. Proudfoot, A. T. (2005). Poisoning due to pyrethrins. *Toxicol. Rev.* 24, 107–113. doi: 10.2165/00139709-200524020-00003.
7. Lin Q., Chen, S., Hu, Yang, L., Li, H. 2011. Biodegradation of cypermethrin by a newly isolated actinomycetes HU-S-01 from wastewater sludge. *Int. J. Environ Sci. Tech.* 8: 45–56.
8. Pascual, J.A., Peris, S.J. 1992. Effects of forest spraying with two application rates of cypermethrin on food supply and on breeding success of the blue tit (*Parus caeruleus*). *Environ. Toxicol. Chem.* 11(9): 1271–1280. <http://dx.doi.org/10.1002/etc.5620110907>.
9. Indratin, et al Degradation of Cypermethrin by Indigenous Bacteria from Contaminated Soil *Makara Journal of Science*, 23/4 (2019), 210-216 doi: 10.7454/mss.v23i4.7998.
10. Jilani, S., Khan, M.A. 2006. Biodegradation of cypermethrin by *Pseudomonas* in a batch activated sludge process. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 3:371–380.
11. Tallur, P.N., Megadi, V.B., Ninnekar, H.Z. 2008. Biodegradation of cypermethrin by *Micrococcus* sp. strain CPN 1. *Biodegradation* 19: 77–82. <http://dx.doi.org/10.1007/s10532-007-9116-8>.
12. Zhang, C., Jia, L., Wang, S.H., Qu, J., Xu, L.L., Shi, H.H., Yan, Y.C. 2010. Biodegradation of beta-cypermethrin by two *Serratia* spp. with different cell surface hydrophobicity. *Bioresource Technol.* 101: 3423–3429.
13. Singh BK (2009) Organophosphorus-degrading bacteria: Ecology and industrial applications. *Nature Rev Microbiol* 7: 156–163.

14. Anwar S, Liaquat F, Khan QM, Khalid ZM, Iqbal S (2009) Biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolysis product 3,5,6-trichloro-2-pyridinol by *Bacillus pumilus* strain C2A1. *J Hazard Mater* 168: 400–405.