

УДК 579.695; 546.85; 502.55; 661.63

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ПОЛЛЮТАНТОВ

A.З. Миндубаев¹, Э.В. Бабынин²

¹*Казанский национальный исследовательский технологический университет (КНИТУ КХТИ), г. Казань. E-mail: mindubaev-az@yandex.ru*

²*Татарский ФИЦ КазНЦ РАН. E-mail: edward.b67@mail.ru,*

Впервые в мире осуществлена биологическая детоксикация элементного – белого и красного – фосфора. Получены культуры плесневых грибов, превращающие вещество первого класса опасности белый фосфор в безвредный фосфат. В перспективе результаты исследований могут стать основой эффективных методов предотвращения и ликвидации загрязнений токсичными соединениями фосфора.

Ключевые слова: биодеградация, токсичные соединения фосфора, *Aspergillus niger*

Уже пятнадцать лет, с 2009 года нашим коллективом ведется работа по исследованию биодеградации - в первую очередь, фосфорсодержащих соединений. Впервые в мире осуществлена биологическая детоксикация элементного – белого и красного – фосфора. Получены культуры плесневых грибов, превращающие вещество первого класса опасности белый фосфор в безвредный фосфат. Это первый пример включения белого фосфора в биосферный круговорот элемента фосфора. В перспективе результаты исследований могут стать основой эффективных методов предотвращения и ликвидации загрязнений токсичными соединениями фосфора.

Десять лет назад, в октябре 2014 года нами выделена экстремотолерантная культура гриба черного аспергилла, превращающая токсичные соединения фосфора в фосфат, который может служить подкормкой для растений [1]. Мы впервые в мире наблюдали биодеградацию аллотропных модификаций элементного фосфора, белого, и красного (рис. 1).



Рисунок 1. Посев *A. niger* AM1, устойчивых к белому фосфору. Варианты: 1 – среда без источников фосфора; 2 – с фосфатом; 3 – с белым фосфором (0.2%); 4 – с 0.2% P₄ и фосфатом.

На 12 сутки после посева *A. niger* AM1 в четыре варианта среды, наблюдалась следующая картина. В средах без источников фосфора рост практически не наблюдается (вариант 1). В средах с фосфатом аспергилл хорошо растет и спороносит (вариант 2). В средах с 0.2% белого фосфора колонии аспергилла имеют бледно-серый цвет (пониженная фертильность) (вариант 3). Снимок на цифровой фотоаппарат Samsung, 9 03 2016 г.

При воздействии белого фосфора наблюдается резкое изменение морфологии и протеома

исследуемых грибов, позволяющее им более эффективно защищаться от токсического воздействия, существовать в загрязненной среде и превращать токсичные загрязнители в компоненты фосфорных удобрений.

Происхождение штамма *Aspergillus niger*, выделенного из емкости с кусковым белым фосфором, воспроизведена с построением филогенетического дерева по базе *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Роль контролей выполняют внешние группы - штаммы других видов: аспергилл атласный *A. bombycis* и аспергилл дымящийся *A. fumigatus*. Штаммы из одного кластера, состоящие в близком родстве друг с другом, должны быть сходны по характеристикам. Филогенетический анализ позволяет приблизительно оценивать потенциальные токсичность, патогенность и аллергенность штаммов, а также ряд параметров, интересных для биотехнологов. В наибольшем родстве со штаммом AM1 состоят штаммы черного аспергилла FP1 и NJDL-12 из Китая, способные к переводу нерастворимых в воде фосфатных минералов в биологически доступную форму.

Таким образом, AM1 относится к кластеру штаммов, распространенному в Южной Азии и адаптированному к существованию в условиях нехватки биодоступного фосфора. Китай производит свыше 70% белого фосфора в мире, поэтому вещество (а с ним и споры микроорганизмов) могли быть импортированы в Россию из этой страны.

Для того, чтобы подтвердить родство с известными солюбилизаторами фосфатов, мы исследовали способность *Aspergillus niger* AM1 метаболизировать ортофосфат кальция $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ – наиболее распространенную форму фосфора в природе, но при этом малодоступную для живых организмов из-за практической нерастворимости в воде. Оказалось, что штамм потребляет нерастворимый фосфат так же легко, как растворимые фосфаты, входящие в состав культуральных сред. То есть, действительно является солюбилизатором фосфата, как следует из теоретических результатов анализа базы NCBI, представленных в работе [1].

Интересно, что в декабре 2016 года мы получили дочерний штамм гриба *A. niger* AM2, еще более адаптированный к росту в среде с белым фосфором. Утолщенная клеточная стенка и увеличенные митохондрии у него наблюдаются и в контроле, в отсутствии этого токсичного вещества [2].

Мы впервые в мире обнаружили у белого фосфора генотоксическое, ДНК повреждающее свойство. Причем на нескольких объектах: прокариотическом организме - бактерии *Salmonella typhimurium* и эукариотическом – растении *Allium sera*. Наши исследования показали, что белый фосфор является сильным мутагеном и даже в низкой концентрации 0.008% вызывает резкое увеличение частоты генных и геномных перестроек. То есть, является еще более опасным для окружающей среды и людей, чем считалось до сих пор [3].

Для фосфорных соединений велики перспективы биодеградации по причине того, что опасность фосфатов для окружающей среды существенно ниже, чем восстановленных соединений фосфора. Элемент фосфор в виде простых веществ и восстановленных соединений является опаснейшим загрязнителем окружающей среды, поскольку эти вещества сильно ядовиты, а некоторые, к тому же, огнеопасны. Однако живые клетки всегда накапливают окисленную форму фосфора – фосфат, в составе самых разнообразных органических и неорганических молекул. Если доля фосфора в земной коре составляет 0.12%, то в биомассе живых организмов концентрация этого элемента составляет уже 3%, т.е. в 25 раз выше! Для фосфорорганических соединений биодеградация уже применяется [4]. Но для элементного (белого и красного) фосфора она стала известна только из наших работ.

Начаты исследования активности лектинов *A. niger* AM1 и AM2. Показано, что у обоих штаммов, несмотря на их близкое родство, активность лектинов заметно различается [5]. Исследована гемагглютинирующая активность лектинов, их влияние на клетки одноклеточной водоросли хлореллы. Планируется исследование влияния лектинов на бактерии, грибы, а в более отдаленной перспективе - культуры раковых клеток.

В настоящее время продолжается исследование биодеградации при помощи исследуемых штаммов грибов пестицидов, содержащих фосфор, а также другие элементы, например, бор. Также, показана биодеградация лигнинсульфоната - отхода целлюлозно-бумажной промышленности [6].

В нашем ООО ИнТехТокс ведутся прикладные научные исследования по созданию биопрепараторов, способных очищать почвы и сточные воды от фосфорсодержащих загрязнителей. В настоящее время мы исследуем биодеградацию при помощи AM1 и AM2 веществ, не содержащих фосфор – нефтелей и нефтепродуктов [7], древесины и продуктов ее переработки. Также, планируем изучать переработку полимерных материалов данными штаммами, извлечение редких элементов из минералов.

Впоследствии мы предполагаем внедрить технологию на шламонакопителях ПАО Новочебоксарский Химпром, ВОАО Волгоградский Химпром, Камтэкс Химпром г. Пермь (Россия), ООО Химпром Технология (г. Дзержинск), Леонидовском химическом арсенале (Пензенская область).

Нашей разработкой уже заинтересовались партнеры из Самарского Политеха (СамГТУ), планирующие ликвидацию очагов загрязнения желтым фосфором территории бывшего ОАО "Фосфор" в рамках Стратегии социально-экономического развития Самарской области до 2030 года.

Библиографический список

1. Mindubaev A.Z., Babynin E.V., Bedeeva E.K., Minzanova S.T., Mironova L.G., Akosah Y.A. Biological Degradation of Yellow (White) Phosphorus, a Compound of First Class Hazard // Russian Journal of Inorganic Chemistry. 2021. Volume 66. № 8. P. 1239-1244. DOI: 10.1134/S0036023621080155
2. Mindubaev A.Z., Kuznetsova S.V., Evtyugin V.G., Daminova A.G., Grigoryeva T.V., Romanova Y.D., Romanova V.A., Babaev V.M., Buzyurova D.N., Babynin E.V., Badeeva E.K., Minzanova S.T., Mironova L.G. Effect of White Phosphorus on the Survival, Cellular Morphology, and Proteome of *Aspergillus niger* // Applied Biochemistry and Microbiology. 2020. Vol.56. No.2. P.194-201. DOI: 10.1134/S0003683820020118
3. Mindubaev A., Babynin E., Minzanova S., Badeeva E., Akosah Y. White phosphorus genotoxicity. Bio web of conference. 2021. Vol.31. No.00018. P.1-3. DOI: 10.1051/bioconf/20213100018
4. Singh B.K., Walker A. Microbial degradation of organophosphorus compounds /--// FEMS Microbiology Reviews. 2006. Vol. 30. № 3. P. 428-471. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2006.00018.x
5. Миндубаев А.З., Клементьев С.В., Кобелев А.В., Минзанова С.Т., Миронова Л.Г., Бабынин Э.В., Антех Д.Д. Активность лектинов *Aspergillus niger* AM1 и AM2 // Бутлеровские сообщения. - 2022. – Т.72. - №12. – С. 117-129. DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/22-72-12-117
6. Миндубаев А.З., Бабынин Э.В., Тимофеева С.С., Камалов Р.Ф., Антех Д.Д. Биодеградация лигнинсульфоната при помощи *Aspergillus niger* AM1 // Бутлеровские сообщения. - 2023. – Т.73. - №2. – С.83-91. DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/23-73-2-83
8. Миндубаев А.З., Бабынин Э.В., Минзанова С.Т., Миронова Л.Г. Способ детоксикации нефти с применением штамма *Aspergillus niger* AM1BKM F-4815D // Патент РФ № 2791735 от 13.03.2023. Бюлл. изобр. № 8.