

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.222

doi: 10.17072/1994-9952-2022-3-218-225

Разложение хлорбензойных кислот штаммами *Rhodococcus ruber* P25 и *Microbacterium oxydans* B51 в условиях кометаболизма

Дарья Олеговна Егорова^{1, 2}

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия, daryao@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8018-4687>

² Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

Аннотация. Штаммы-деструкторы полихлорированных бифенилов (ПХБ) *Rhodococcus ruber* P25 и *Microbacterium oxydans* B51 осуществляют разложение основных интермедиатов аэробной бактериальной деструкции ПХБ – хлорбензойных кислот (ХБК). Установлено, что при культивировании штамма *M. oxydans* B51 на бифениле в качестве источника углерода происходит увеличение колониеобразующих единиц на четыре порядка за 4 сут., а при культивировании на 2ХБК – на три порядка за 3 сут. Уровень деструкции субстрата при этом составил 99.0–99.5%. При культивировании в условиях кометаболизма (в среде присутствуют ХБК и бифенил) удельная скорость роста штаммов *M. oxydans* B51 и *R. ruber* P25 увеличивалась в 1.53–1.58 раза, а эффективность деструкции 2ХБК и 4ХБК составляла 98.9–99.2%. Основные метаболиты бактериальной трансформации бифенила и ХБК в среде не зафиксированы, однако установлено накопление ионов хлора (через 5 сут. культивирования концентрация составляла 64.98–98.05% от максимально возможного). Полученные результаты свидетельствуют об эффективной деструкции ХБК штаммами *M. oxydans* B51 и *R. ruber* P25 в присутствии дополнительного источника углерода.

Ключевые слова: хлорбензойные кислоты, *Rhodococcus*, *Microbacterium*, бифенил, кометаболизм

Для цитирования: Егорова Д. О. Разложение хлорбензойных кислот штаммами *Rhodococcus ruber* P25 и *Microbacterium oxydans* B51 в условиях кометаболизма // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 3. С. 218–225. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-3-218-225>.

Благодарности: исследование выполнено в рамках госзаданий № АААА-А19-119112290009-1 Молекулярные механизмы адаптации микроорганизмов к факторам среды и № FZWG-2020-0021 Адаптивные реакции микроорганизмов: теоретические аспекты.

MICROBIOLOGY

Original article

Degradation of chlorobenzoic acids by strains *Rhodococcus ruber* P25 and *Microbacterium oxydans* B51 under cometabolism

Darya O. Egorova^{1, 2}

¹ Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch RAS, Perm, Russia, daryao@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8018-4687>

² Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

Abstract. The destructor strains of polychlorinated biphenyls (PCBs) *Rhodococcus ruber* P25 and *Microbacterium oxydans* B51 decompose the main intermediates of aerobic bacterial destruction of PCBs - chlorobenzoic acids (CBC). It was found that when cultivating the *M. oxydans* B51 strain on biphenyl as a carbon source, colony-forming units increase by four orders of magnitude in 4 days, and when cultured on 2XBC - by three orders of magnitude in three days. The level of destruction of the substrate was 99.0–99.5%. When cultured under cometabolism conditions (CBC and biphenyl are present in the medium), the specific growth rate of *M. oxydans* strains B51 and *R. ruber* P25 increased by 1.53–1.58 times, and the destruction efficiency of 2XBC and 4XBC was 98.9–99.2%. The main metabolites of bacterial transformation of biphenyl and CBC in the medium have not been recorded, but the accumulation of chlorine ions has been established (after 5 days. the cultivation concentration was 64.98–98.05% of the maximum possible). The results obtained indicate the effective destruction of CKD by *M. oxydans* strains B51 and *R. ruber* P25 in the presence of an additional carbon source.

Keywords: chlorobenzoic acids, *Rhodococcus*, *Microbacterium*, biphenyl, cometabolism

For citation: Egorova D. O. [Degradation of chlorobenzoic acids by strains *Rhodococcus ruber* P25 and *Microbacterium oxydans* B51 under cometabolism]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 3 (2022): pp. 218-225. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-3-218-225>.

Acknowledgments: the study was carried out within the framework of state assignment AAAA-A19-119112290009-1 Molecular mechanisms of adaptation of microorganisms to environmental factors and grant of the Ministry of Higher Education and Science FZWG-2020-0021 Adaptive reactions of microorganisms: theoretical aspects.

Введение

Хлорбензойные кислоты (ХБК) являются химически стабильными соединениями и оказывают токсический, тератогенный, мутагенный и канцерогенный эффекты при проникновении в организм животных и человека [Федоров, 1993]. Данные свойства ХБК послужили основанием для их включения в перечень вредных и опасных соединений, утвержденный министерством здравоохранения и медицинской промышленности РФ¹ Однако производство и применение ХБК не запрещены, в связи с чем хлорбензоаты продолжают использоваться при создании пластмасс, растворителей и некоторых гербицидов. Проникновение ХБК в окружающую среду происходит как с продукцией, так и с отходами производств. Следует отметить, что хлорбензойные кислоты являются основным интермедиатом аэробной бактериальной деструкции полихлорированных бифенилов (ПХБ), что приводит к их накоплению на территориях, загрязнённых ПХБ. Основой биохимической трансформации ПХБ является ферментативный комплекс аэробного окисления незамещенного бифенила. В результате поэтапного действия бифенил 2,3-диоксигеназы, дигидро-дигидрокси-бифенил дегидрогеназы, 2,3-дигидрокси 1,2-диоксигеназы и гидролазы происходит окисление молекулы бифенила/ПХБ до образования бензойной/ХБК кислот [Parales, Resnik, 2006; Kolar et al., 2007; Pori et al., 2008; Chang et al., 2013; Agulló, 2019; Jia et al., 2019]. Накопление ХБК в среде приводит к ингибированию процесса бактериальной утилизации полихлорированных бифенилов [Statford et al., 1996; Cho et al., 2002].

Бензойная и хлорбензойные кислоты подвержены аэробной бактериальной деструкции, однако их трансформация обусловлена действием специализированных ферментных систем. Начальное окисление бензойной кислоты осуществляет фермент бензоат 1,2-диоксигеназа, кодируемый геном *benA* [Parales, Resnik, 2006]. Анализ международной базы GenBank показал, что данный ген широко распространен у представителей родов *Acinetobacter*, *Burkholderia*, *Corynebacterium*, *Kokuria*, *Rhodococcus* и *Pseudomonas*, в том числе описан у штаммов-деструкторов ПХБ [Denef, 2006]. Разложение ХБК обусловлено действием различных групп ферментов, кодируемых специфическими генами: 4ХБК – разложение осуществляют ферменты, кодируемые *fcb*-генами; 3ХБК – генами *tfd*, *cba*, *cbn*, 2ХБК – генами *clc* и *ohb* [Tsoi et al., 1999; Hickey et al., 2001; Providenti, Wyndham, 2001; Radice et al., 2007; Xu et al., 2017]. Результаты проведенного анализа доступных баз данных и литературы свидетельствуют о том, что данные гены менее распространены, чем *benA*, а у штаммов-деструкторов ПХБ практически не встречаются.

В ранее проведенных исследованиях установлено, что штамм *Rhodococcus ruber* P25 осуществляет деструкцию ПХБ и 4ХБК, содержит гены деструкции бифенила, а также гены деструкции бензойной кислоты и 4ХБК [Плотникова и др., 2012; Shumkova et al., 2015]. Штамм *Microbacterium oxydans* B51 осуществляет разложение хлорированных бифенилов и обладает ферментативным комплексом, позволяющим утилизировать 2ХБК [Рыбкина и др., 2003; Solyanikova et al., 2015]. Известно, что в присутствии в среде нескольких источников углерода бактериальные штаммы разлагают наиболее доступный субстрат, а остальные соединения используются для метаболизма по остаточному принципу. В случае штаммов-деструкторов ПХБ, бифенил и образующая в результате его окисления бензойная кислота являются предпочтительным субстратом в сравнении с хлорбензойными кислотами. Однако, как было сказано выше, накопление ХБК может иметь негативные последствия для процесса аэробной бактериальной деструкции ПХБ. В связи с этим представляет научный и практический интерес изучение процессов разложения бифенила и ХБК при их одновременном присутствии в среде культивирования штаммов-деструкторов ПХБ.

Цель настоящего исследования – изучить возможность использования хлорбензойных кислот в качестве источника углерода штаммами *Rhodococcus ruber* P25 и *Microbacterium oxydans* B51 в присутствии бифенила.

¹ Об утверждении временных перечней вредных, опасных веществ и производственных факторов, а также работ, при выполнении которых производятся предварительные и периодические медицинские осмотры работников: приказ Минздравмедпрома Рос. Федерации № 280, Госкомсанэпиднадзора Рос. Федерации № 88 от 5 окт. 1995 г. // Российские вести. № 218. 16 нояб. 1995 г.

Материалы и методы исследований

Бактериальные штаммы

Штамм *Rhodococcus ruber* P25 (=ИЭГМ 896) выделен из загрязненной почвы химического производства (г. Пермь, Россия). Характеризуется способностью разлагать широкий спектр ароматических соединений, в том числе полихлорированных бифенилов [Плотникова и др., 2012]. Штамм *Microbacterium oxydans* B51 выделен из почвы, загрязненной отходами соледобывающего производства (г. Березники, Пермский край, Россия), и осуществляет разложение моно-, ди- и трихлорированных бифенилов, а также ряда хлорбензойных кислот [Рыбкина и др., 2003; Solyanikova et al., 2015].

Среда культивирования, реактивы

Минеральная среда K1, состава (г/л): $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ – 3.2, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ – 0.4, $(NH_4)_2SO_4$ – 0.5, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0.15, $Ca(NO_3)_2$ – 0.01. Для получения плотных питательных сред вносили агар-агар до конечной концентрации 1.5%.

В работе использовали аналитически чистые химические реактивы, бифенил (>98%), 4ХБК (>98%), 2ХБК (>98%) фирмы Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany).

Периодическое культивирование, анализ ростовых параметров

Бактериальную культуру помещали в колбы Эрленмейера объемом 250 мл, содержащих 90 мл среды K1. В качестве источника углерода в колбы вносили: бифенил до конечной концентрации 0.5 г/л; 2ХБК – 0.5 г/л; бифенил и 2ХБК или 4ХБК – 0.5 г/л; бифенил и 2ХБК или 4ХБК – 0.75 г/л. Культивирование проводили на термостатируемой круговой качалке (Environmental Shaker-Incubator ES 20/60, “BioSan”, Латвия) при 120 об/мин и температуре 28°C в течение 5 сут. Каждые 24 ч. измеряли оптическую плотность культуры на спектрофотометре BioSpec-mini (Shimadzu, Япония) при длине волны 600 нм; высевали на агаризованную среду K1 с соответствующим субстратом для подсчета колониеобразующих единиц (КОЕ/мл), а также отбирали образцы культуральной среды для анализа концентрации субстрата и возможных метаболитов. Удельную скорость роста рассчитывали по классической формуле

$$\mu = (\ln C_x - \ln C_0) / (t_x - t_0),$$

где C_x – концентрация культуры в высшей точке роста, C_0 – концентрация культуры в начальный момент роста, t_0 и t_x – время в начале и в конце логарифмической фазы роста культуры.

Аналитические исследования

Количественный анализ бифенила выполняли с помощью газового хроматографа “Agilent 6890N” с масс-селективным детектором и кварцевой капиллярной колонкой HP-5MS (длина 30 м, диаметр 0.25 мм) (Agilent Technology, США) при программировании температуры согласно [Hernandez et al., 1997].

Расчет содержания бифенила в каждом исследуемом образце осуществляли методом внутренней нормализации. На основании полученных расчетных площадей пиков оценивали содержание бифенила после процесса биодеструкции.

Наличие ХБК, бензойной кислоты и ионов хлора определяли спектрофотометрически и методом ВЭЖХ. Культуральную жидкость очищали от бактериальных клеток центрифугированием (9660 g в течение 3 мин. на центрифуге miniSpin (Eppendorf, Германия). Наличие ионов хлора в супернатанте определяли на спектрофотометре UV-Visible BioSpec-mini (Shimadzu, Япония) при $\lambda_{\text{макс}}$ от 460 до 540 нм через 5 мин. после внесения в супернатант 5%-ного азотнокислого серебра. Количественную оценку проводили согласно калибровочной кривой. Содержание в супернатанте бензойной и хлорбензойных кислот определяли с помощью хроматографа LC-20A (Shimadzu, Япония) с колонкой Discovery C18 (150 × 4.6 мм или 250 × 4.6 мм) (Supelco, Sigma-Aldrich, США) и УФ-детектором при 205 нм. Анализ проводили в системе ацетонитрил : 0.1%-ый H_3PO_4 (70:30), идентификацию веществ осуществляли с помощью сравнения времени удержания на колонке исследуемых и стандартных соединений. Количество образовавшихся продуктов оценивали по величине площади и высоты пиков на хроматограмме относительно данных величин стандартных соединений.

Скорость деструкции ХБК

Скорость деструкции субстрата рассчитывали по формуле

$$V = (C_0 - C_i) / (t_i - t_0),$$

где C_0 – концентрация ХБК в начальный момент времени, мг/л, C_i – концентрация ХБК в конечный момент времени, мг/л, t_i – конечный момент времени, сут, t_0 – начальный момент времени, сут.

Статистический анализ

Все эксперименты проводили в трехкратной повторности. Полученные данные обрабатывали с использованием стандартных пакетов компьютерных программ Microsoft Excel и Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что штамм *M. oxydans* B51, эффективно использует в качестве ростового субстрата бифенил и 2ХБК (рис. 1).

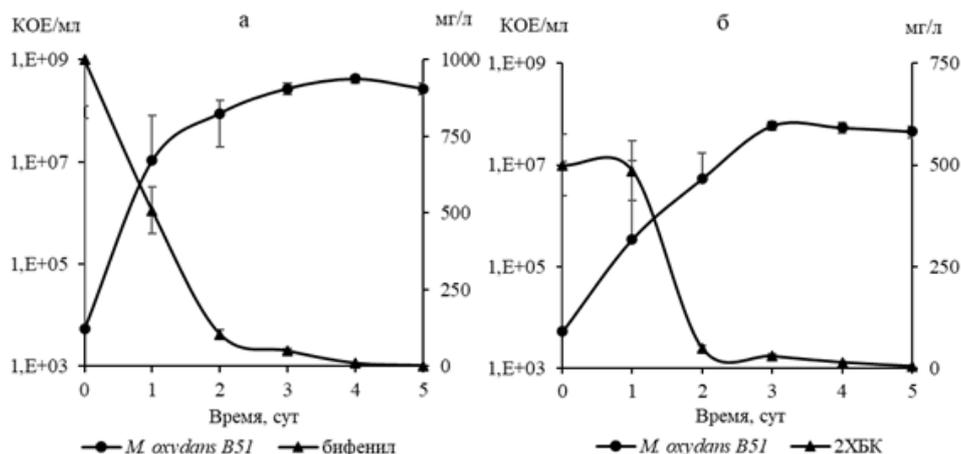


Рис. 1. Рост штамма *M. oxydans* B51 и изменение концентрации субстрата при культивировании на бифениле (а) и 2ХБК (б)

[Growth of *M. oxydans* B51 strain and change in substrate concentration during cultivation on biphenyl (a) and 2CBA (б)]

Рост бактериальной культуры коррелировал с убывью субстрата (коэффициент корреляции 0.967–0.981). Следует отметить, что в обоих случаях в среде не были зафиксированы аналитически значимые количества возможных интермедиатов. На основании полученных данных можно утверждать, что штамм *M. oxydans* B51 осуществляет полную утилизацию бифенила и 2ХБК без накопления промежуточных соединений в случае, если данные субстраты являются единственным источником углерода.

Ранее было показано, что штамм *R. ruber* P25 способен расти на бифениле или 4ХБК [Плотникова и др., 2012].

В результате проведенных экспериментов по периодическому культивированию установлено, что штаммы *M. oxydans* B51 и *R. ruber* P25 осуществляют разложение 2ХБК и 4ХБК в присутствии в среде бифенила (рис. 2, 3).

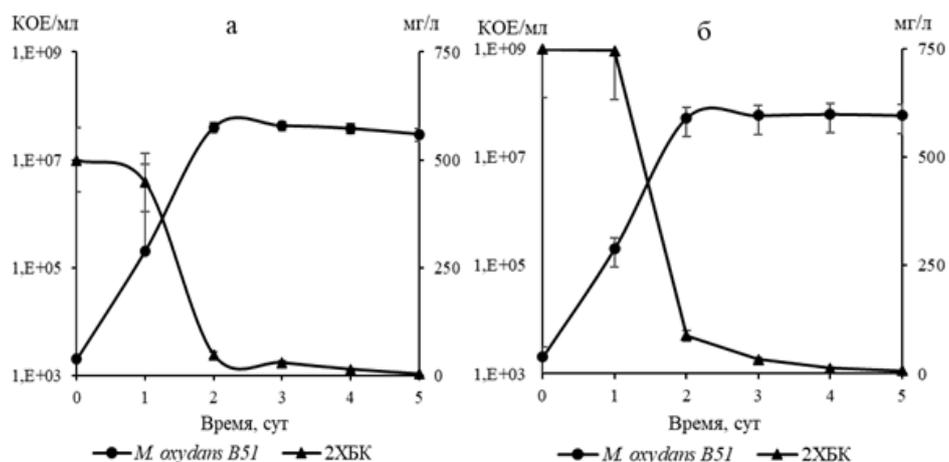


Рис. 2. Рост штамма *M. oxydans* B51 на бифениле и 2ХБК при начальной концентрации 500 мг/л (а) и 750 мг/л (б)

[Growth of the *M. oxydans* B51 strain on biphenyl and 2CBA at an initial concentration of 500 mg/L (a) and 750 mg/L (б)]

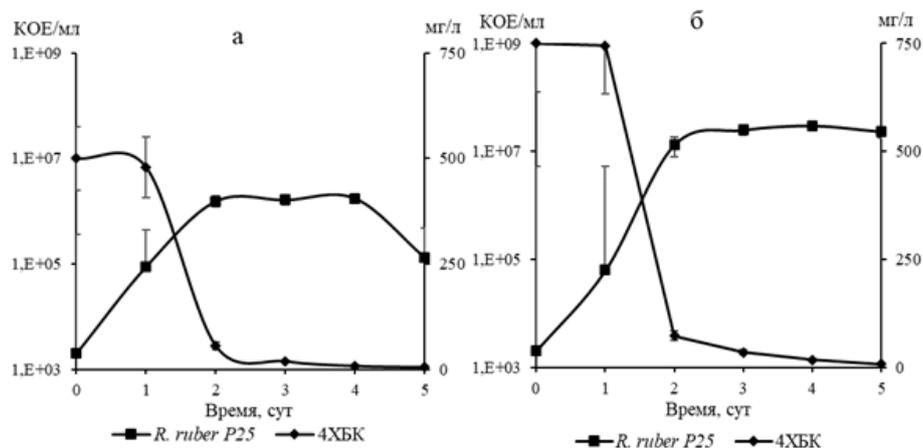


Рис. 3. Рост штамма *R. ruber* P25 на бифениле и 4ХБК при начальной концентрации 500 мг/л (а) и 750 мг/л (б)

[Growth of the strain *R. ruber* P25 on biphenyl and 4CBA at an initial concentration of 500 mg/l (a) and 750 mg/l (b)]

Наблюдалась обратная линейная корреляция между ростом бактериальных культур и изменением концентрации присутствовавших в среде хлорбензойных кислот (коэффициент корреляции составлял 0.989–0.992). Увеличение начальной концентрации 2ХБК в полтора раза не приводило к повышению максимальной плотности культуры штамма *M. oxydans* B51, тогда как в случае штамма *R. ruber* P25 аналогичное увеличение концентрации 4ХБК привело к разнице в максимальной концентрации колониеобразующих единиц на один порядок. Эффективность деструкции ХБК в присутствии бифенила составляла 98.9–99.2%. Достоверных различий по данному параметру в случае, когда ХБК являлись единственным источником углерода в ростовой среде, не выявлено. Следует отметить, что несмотря на присутствие в среде бифенила, накопление бензойной кислоты, как его метаболита, зафиксировано не было.

Анализ литературных данных показал, что штаммы *M. oxydans* B51 и *R. ruber* P25 осуществляют деструкцию 2ХБК и 4ХБК как в присутствии бифенила, так и без него, эффективнее, чем ранее описанные штаммы-деструкторы ХБК родов *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Hydrogenophaga*, *Microbacterium*, *Ralstonia*, *Pseudoaminobacteria*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* [Pori et al., 2008; Adebusoye, Miletto, 2011; Xu et al., 2017].

Рост штаммов сопровождался выделением ионов хлора (табл. 1). Высокие значения ионов хлора в среде свидетельствуют об активно протекавшем процессе дехлорирования молекул хлорбензойных кислот.

Таблица 1

Выделение ионов хлора в процессе роста штаммов на ХБК в присутствии бифенила
[Release of chlorine ions during the growth of strains on CBA in the presence of biphenyl]

ХБК	Концентрация, г/л	Время, сут.	Концентрация хлора, %
<i>Rhodococcus ruber</i> P25			
4ХБК	0.5	0	0
		5	98.05
	0.75	0	0
		5	64.98
<i>Microbacterium oxydans</i> B51			
2ХБК	0.5	0	0
		2	75.5
		5	83.9
	0.75	0	0
		2	58.4
		5	75.5

Расчет ростовых параметров показал, что в присутствии бифенила и хлорбензойной кислоты удельная скорость роста штаммов повышается (табл. 2).

При культивировании на одинаковых концентрациях ХБК внесение бифенила в среду приводит к повышению удельной скорости роста бактериальных клеток в 1.53–1.58 раза. Изменение концентрации

ХБК в присутствии бифенила оказывает влияние только на ростовые процессы штамма *R. ruber* P25, удельная скорость роста которого увеличивается в 1.32 раза. Можно предположить, что присутствие двух субстратов способствует увеличению скорости роста штаммов за счет большей концентрации доступного углерода.

Таблица 2

**Удельная скорость роста (сут⁻¹) штаммов *M. oxydans* B51 и *R. ruber* P25
[Specific growth rate (day⁻¹) of strains *M. oxydans* B51 and *R. ruber* P25]**

Субстрат	<i>M. oxydans</i> B51	<i>R. ruber</i> P25
Бифенил (500 мг/л)	2.81	2.30
ХБК (500 мг/л)	3.11	2.16
ХБК (500 мг/л) + бифенил (500 мг/л)	4.94	3.32
ХБК (750 мг/л) + бифенил (500 мг/л)	5.08	4.39

Проанализирована скорость деструкции хлорбензоатов исследуемыми штаммами как в присутствии бифенила, так и без внесения бифенила в среду культивирования (табл. 3). Установлено, что наличие бифенила не влияет на скорость деструкции 2ХБК штаммом *M. oxydans* B51, но оказывает положительный эффект на скорость деструкции 4ХБК штаммом *R. ruber* P25.

Таблица 3

**Скорость деструкции ХБК ((мг/л)сут⁻¹) штаммами *M. oxydans* B51 и *R. ruber* P25
[The rate of destruction of CBA ((mg/l) day⁻¹) by strains *M. oxydans* B51 and *R. ruber* P25]**

Субстрат	<i>M. oxydans</i> B51	<i>R. ruber</i> P25
ХБК	99.1±0.1	87.5±0.1
ХБК (500 мг/л) + бифенил	99.3±0.2	98.9±0.1
ХБК (750 мг/л) + бифенил	148.6±0.2	148.5±0.2

В работе [Yasir et al., 2021] отмечается, что бифенил может оказывать положительный эффект на биодеградативную активность штаммов в отношении ПХБ. Однако сведений о стимулирующем эффекте бифенила в отношении бактериальной деструкции ХБК в литературе не выявлено.

Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что штаммы *M. oxydans* B51 и *R. ruber* P25 используют в качестве источника углерода 2ХБК и 4ХБК соответственно в присутствии в среде дополнительного субстрата – незамещенного бифенила. Анализ ростовых параметров культур показал, что в условиях кометаболизма не происходит снижения эффективности деструкции хлорбензойных кислот. Таким образом, штаммы *M. oxydans* B51 и *R. ruber* P25 могут быть использованы в качестве агентов в природоподобных технологиях, направленных на удаление хлорбензоатов из окружающей среды, в том числе в районах, загрязнённых бифенилом и его производными.

Список источников

1. Плотникова Е.Г. и др. Особенности разложение 4-хлорбифенила и 4-хлорбензойной кислоты штаммом *Rhodococcus ruber* P25 // Микробиология. 2012. Т. 81, № 2. С. 159–170. DOI: 10.1134/S0026261712020117.
2. Рыбкина Д.О. и др. Новый аэробный грамположительный микроорганизм с уникальными свойствами деструкции *орто*- и *пара*-хлорированных бифенилов // Микробиология. 2003. Т. 72, № 6. С. 759–765.
3. Федоров Л.А. Диоксины как экологическая опасность: ретроспектива и перспективы. М.: Наука, 1993. 266 с.
4. Adebusoye S.A., Miletto M. Characterization of multiple chlorobenzoic acid-degrading organisms from pristine and contaminated system: mineralization of 2,4-dichlorobenzoic acid // Bioresource Technology. 2011. Vol. 102. P. 3041–3048. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.026>.
5. Agulló L. Genetics and biochemistry of biphenyl and PCB biodegradation // Rojo F. (ed.) Aerobic Utilization of Hydrocarbons, Oils, and Lipids. Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology. Springer, 2019. P. 595–622.
6. Chang Y.-C. et al. Isolation of biphenyl and polychlorinated biphenyl-degrading bacteria and their degradation pathway // Applied Biochemistry and Biotechnology. 2013. Vol. 170. P. 381–398. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0191-5>.

7. Cho Y.-C. et al. Enhancement of microbial PCB dechlorination by chlorobenzoates, chlorophenols and chlorobenzenes // *FEMS Microbiology Ecology*. 2002. Vol. 42. P. 51–58. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2002.tb00994.x>.
8. Denev V.J. Genetic and genomic insights into the role of benzoate-catabolic pathway redundancy in *Burkholderia xenovorans* LB400 // *Applied and Environmental Microbiology*. 2006. Vol. 72. P. 585–595. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.1.585-595.2006>.
9. Hernandez B.S. et al. Terpene-utilizing isolates and their relevance to enhanced biotransformation of polychlorinated biphenyls in soil // *Biodegradation*. 1997. Vol. 8. P. 153–158. <https://doi.org/10.1023/A:1008255218432>.
10. Hickey W.J. et al. Cloning, nucleotide sequencing, and functional analysis of a novel, mobile cluster of biodegradation genes from *Pseudomonas aeruginosa* strain JB2 // *Applied and Environmental Microbiology*. 2001. Vol. 67. P. 4603–4609. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.10.4603-4609.2001>.
11. Ilori M.O. et al. Aerobic mineralization of 4,4'-dichlorobiphenyl and 4-chlorobenzoic acid by a novel natural bacterial strain that grows poorly on benzoate and biphenyl // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2008. Vol. 24. P. 1259–1265. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9597-y>.
12. Jia Y. et al. Identification and characterization of a meta-cleavage product hydrolase involved in biphenyl degradation from *Arthrobacter* sp. YC-RL1 // *Applied Microbiol Biotechnology*. 2019. Vol. 103, No 16. P. 6825–6836. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09956-z>.
13. Kolar A.B. et al. PCB-degrading potential of aerobic bacteria enriched from marine sediments // *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2007. Vol. 60. P. 16–24. <https://doi.org/10.16/j.ibiod.2006.11.004>.
14. Parales R.E., Resnick S.M. Aromatic Ring Hydroxylating Dioxygenases // Ramos JL., Levesque R.C. (Eds) *Pseudomonas*. Boston: Springer, 2006. P. 287–340. https://doi.org/10.1007/0-387-28881-3_9_2.
15. Providenti M.A., Wyndham R.C. Identification and functional characterization of CbaR, a MarR-like modulator of the *cbaABC*-encoded chlorobenzoate catabolism pathway // *Applied and Environmental Microbiology*. 2001. Vol. 67. P. 3530–3541. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.8.3530-3541.2001>.
16. Radice F. et al. Cloning of the *Arthrobacter* sp. FG1 dehalogenase genes and construction of hybrid pathways in *Pseudomonas putida* strains // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2007. Vol. 75. P. 1111–1118. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-0906-z>.
17. Shumkova E.S. et al. Draft genome sequence of *Rhodococcus ruber* strain P25, an active polychlorinated biphenyl degrader // *Genome Announcements*. 2015. Vol. 3. Article e00990-15. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00990-15>.
18. Solyanikova I.P. et al. Peculiarities of the degradation of benzoate and its chloro- and hydroxy-substituted analogs by actinobacteria // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2015. Vol. 100. P. 155–164. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.02.028>.
19. Stratford J. et al. Influence of chlorobenzoates on the utilisation of chlorobiphenyls and chlorobenzoate mixtures by chlorobiphenyl/chlorobenzoate-mineralising hybrid bacterial strains // *Archives of Microbiology*. 1996. Vol. 165. P. 213–218. <https://doi.org/10.1007/BF01692864>.
20. Tsoi T.V. et al. Cloning and expression of the *Arthrobacter globiformis* KZT1 *pcbA* gene encoding dehalogenase (4-chlorobenzoate-4-hydroxylase) in *Escherichia coli* // *FEMS Microbiology Letters*. 1991. Vol. 81. P. 165–170. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(91\)90298-o](https://doi.org/10.1016/0378-1097(91)90298-o).
21. Xu C. et al. Degradation of three monochlorobenzoate isomers by different bacteria isolated from a contaminated soil // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2017. Vol. 120. P. 192–202. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.02.020>.
22. Yasir M.W. et al. Biotreatment potential of co-contaminants hexavalent chromium and polychlorinated biphenyls in industrial wastewater: individual and simultaneous prospects // *Science of the Total Environment*. 2021. Vol. 779. Article 146345. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146345>.

References

1. Plotnikova E.G., Egorova D.O., Shumkova E.S., Solyanikova I.P., Golovleva L.A. [Degradation of 4-chlorobiphenyl and 4-chlorobenzoic acid by the strain *Rhodococcus ruber* P25]. *Microbiology (Mikrobiologiya)*. V. 81, No 2. (2012): pp. 143-153. <https://doi.org/10.1134/S0026261712020117>.
2. Rybkina D.O., Plotnikova E.G., Demakov V.A., Dorofeeva L.V., Mironenko Yu.L. A new aerobic gram-positive bacterium with a unique ability to degrade ortho- and para-chlorinated biphenyls. *Microbiology (Mikrobiologiya)*. V. 72, No 6 (2003): pp. 672-677. <https://doi.org/10.1023/B:MICI.0000008367.24540.6c>.
3. Fedorov L.A. *Dioksiny kak èkologičeskaja opasnost': retrospektiva i perspektivy* [Dioxins as an environmental hazard: retrospective and prospects]. Moscow, Nauka Publ., 1993. 266 p. (In Russ.).
4. Adebusoje S.A., Miletto M. Characterization of multiple chlorobenzoic acid-degrading organisms from pristine and contaminated system: mineralization of 2,4-dichlorobenzoic acid. *Bioresource Technology*. V. 102 (2011): pp. 3041-3048. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.026>.
5. Agulló L. Genetics and Biochemistry of Biphenyl and PCB Biodegradation. In: Rojo F. (ed.) *Aerobic*

Utilization of Hydrocarbons, Oils, and Lipids. Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology. Springer, Cham, 2019, pp. 595-622.

6. Chang Y.-C. et al. Isolation of biphenyl and polychlorinated biphenyl-degrading bacteria and their degradation pathway. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. V. 170 (2013): pp. 381-398 <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0191-5>.

7. Cho Y.-C. et al. Enhancement of microbial PCB dechlorination by chlorobenzoates, chlorophenols and chlorobenzenes. *FEMS Microbiology Ecology*. V. 42 (2002): pp. 51-58. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2002.tb00994.x>

8. Denev V.J. Genetic and genomic insights into the role of benzoate-catabolic pathway redundancy in *Burkholderia xenovorans* LB400. *Applied and Environmental Microbiology*. V. 72 (2006): pp. 585-595. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.1.585-595.2006>

9. Hernandez B.S. et al. Terpene-utilizing isolates and their relevance to enhanced biotransformation of polychlorinated biphenyls in soil. *Biodegradation*. V. 8 (1997): pp. 153-158. <https://doi.org/10.1023/A:1008255218432>.

10. Hickey W.J. et al. Cloning, nucleotide sequencing, and functional analysis of a novel, mobile cluster of biodegradation genes from *Pseudomonas aeruginosa* strain JB2. *Applied and Environmental Microbiology*. V. 67 (2001): pp. 4603-4609. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.10.4603-4609.2001>.

11. Ilori M.O., Robinson G.K., Adebuseye S.A. Aerobic mineralization of 4,4'-dichlorobiphenyl and 4-chlorobenzoic acid by a novel natural bacterial strain that grows poorly on benzoate and biphenyl. *World Journal of Microbiology Biotechnology*. V. 24 (2008): pp. 1259-1265. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9597-y>.

12. Jia Y. et al. Identification and characterization of a meta-cleavage product hydrolase involved in biphenyl degradation from *Arthrobacter* sp. YC-RL1. *Applied Microbiol. Biotechnology*. V. 103, No 16 (2019): pp. 6825-6836. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09956-z>.

13. Kolar A.B. et al. PCB-degrading potential of aerobic bacteria enriched from marine sediments. *International Biodeterioration and Biodegradation*. V. 60 (2007): pp. 16-24. <https://doi.org/10.16/j.ibiod.2006.11.004>.

14. Parales R.E., Resnick S.M. Aromatic Ring Hydroxylating Dioxygenases. In: Ramos JL., Levesque R.C. (eds) *Pseudomonas*. Springer, Boston, MA, 2006, pp. 287-340. https://doi.org/10.1007/0-387-28881-3_9.

15. Providenti M.A., Wyndham R.C. Identification and functional characterization of CbaR, a MarR-like modulator of the *cbaABC*-encoded chlorobenzoate catabolism pathway. *Applied and Environmental Microbiology*. V. 67 (2001): pp. 3530-3541. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.8.3530-3541.2001>.

16. Radice F. et al. Cloning of the *Arthrobacter* sp. FG1 dehalogenase genes and construction of hybrid pathways in *Pseudomonas putida* strains. *Applied Microbiology and Biotechnology*. V. 75 (2007): pp. 1111-1118. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-0906-z>.

17. Shumkova E.S. et al. Draft genome sequence of *Rhodococcus ruber* strain P25, an active polychlorinated biphenyl degrader. *Genome Announcements*. V. 3 (2015): Article e00990-15. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00990-15>.

18. Solyanikova I.P. et al. Peculiarities of the degradation of benzoate and its chloro- and hydroxy-substituted analogs by actinobacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation*. V. 100 (2015): pp. 155-164. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.02.028>.

19. Stratford J. et al. Influence of chlorobenzoates on the utilization of chlorobiphenyls and chlorobenzoate mixtures by chlorobiphenyl/chlorobenzoate-mineralizing hybrid bacterial strains. *Archives of Microbiology*. V. 165 (1996): pp. 213-218. <https://doi.org/10.1007/BF01692864>

20. Tsoi T.V. et al. Cloning and expression of the *Arthrobacter globiformis* KZT1 *fcba* gene encoding dehalogenase (4-chlorobenzoate-4-hydroxylase) in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Letters*. V. 81 (1991): pp. 165-170. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(91\)90298-o](https://doi.org/10.1016/0378-1097(91)90298-o).

21. Xu C. et al. Degradation of three monochlorobenzoate isomers by different bacteria isolated from a contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*. V. 120 (2017): pp. 192-202. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.02.020>.

22. Yasir M.W. et al. Biotreatment potential of co-contaminants hexavalent chromium and polychlorinated biphenyls in industrial wastewater: individual and simultaneous prospects. *Science of the Total Environment*. V. 779 (2021): Article 146345. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146345>

Статья поступила в редакцию 05.07.2022; одобрена после рецензирования 09.09.2022; принята к публикации 29.09.2022.

The article was submitted 05.07.2022; approved after reviewing 09.09.2022; accepted for publication 29.09.2022.

Информация об авторах

Д. О. Егорова – кандидат биологических наук, доцент, ст. науч. сотр.

Information about the authors

D. O. Egorova – PhD of biology, associate professor, senior researcher.