

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 579.26+579.222

doi: 10.26907/2542-064X.2024.3.459-475

ОСОБЕННОСТИ РАЗЛОЖЕНИЯ МОНОГИДРОКСИБИФЕНИЛОВ АЭРОБНЫМИ ШТАММАМИ, ИЗОЛИРОВАННЫМИ ИЗ БАКТЕРИАЛЬНЫХ АССОЦИАЦИЙ–ДЕСТРУКТОРОВ АРОМАТИЧЕСКИХ ПОЛЛЮТАНТОВ

Т.Д. Кирьянова, Д.О. Егорова

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН,
г. Пермь, 614081, Россия

Аннотация

Штаммы *Micrococcus* sp. PNS1, *Ochrobactrum* sp. PNS5, *Stenotrophomonas* sp. PNS6, *Pseudomonas* sp. PNB3, *Brevibacterium* sp. PNB5, *Achromobacter* sp. PNB6 и *Bosea* sp. PNB7, выделенные из ассоциаций PN2 и PN2-B, осуществляют разложение моно-гидроксилированных бифенилов, содержащих в качестве заместителя гидрокси-группу у 3 или 4 атома в молекуле бифенила. Максимальная эффективность деструкции 3-гидрокси-бифенила составляла 98 %, а 4-гидроксибифенила – 100 % у разных штаммов. У всех исследуемых штаммов был амплифицирован фрагмент гена *bphA*, кодирующего биосинтез бифенил-2,3-диоксигеназы. Показано, что последовательности гена *bphA*, полученные в настоящем исследовании, формируют самостоятельную ветвь на графической модели, отображающей их уровень сходства с известными последовательностями данного гена. У штамма *Pseudomonas* sp. PNB3 выявлено наличие гена *benA*, кодирующего биосинтез бензоат-1,2-диоксигеназы, и располагающегося в одной ветви эволюционного дерева с геном *benA* известного штамма-деструктора *Pseudomonas putida* KT2440. Анализ полученных результатов показал, что трансформация 3-гидрокси- и 4-гидроксибифенилов исследуемыми штаммами происходит в результате диоксигенирования незамещенного кольца молекулы бифенила с последующим расщеплением на 3- и 4-гидроксибензойные кислоты соответственно. Таким образом, исследованные штаммы являются перспективными для применения в технологиях разложения не только хлорбифенилов, но и гидроксилированных бифенилов.

Ключевые слова: гидроксибифенил, полихлорбифенилы, аэробные бактерии, штаммы.

Введение

Полихлорированные бифенилы (ПХБ) широко использовались в промышленности как самостоятельная группа веществ для заполнения конденсаторов и трансформаторов, а также в качестве сырья для производства лаков, красок, пластиков [1–5]. Исследования, проведенные в рамках международного сотрудничества, показали, что полихлорированные бифенилы являются особо опасными поллютантами для окружающей среды и человека [6–11]. В связи с этим

в 2001 г. принята Стокгольмская конвенция о запрете производства и применения данных соединений [12]. Несмотря на реализацию международной программы странами, ратифицировавшими Стокгольмскую конвенцию, ПХБ остаются в значительном количестве в объектах окружающей среды (почвы, донные отложения) [1, 3, 13, 14].

Установлено, что ПХБ могут подвергаться трансформации под действием абиотических и биотических факторов. В результате такого воздействия формируются гидроксिलированные и/или метоксильированные производные хлорбифенилов [15–19]. Гидроксипроизводные ПХБ образуются в незначительных количествах в результате фотохимических реакций, протекающих в объектах окружающей среды, в результате окисления в донных отложениях и воде, а также в результате ферментативного окисления в живых организмах [16–22]. В результате воздействия ферментов подклассов моно- и диоксигеназ образуются моно- и дигидроксипроизводные бифенила/полихлорированных бифенилов. Ферменты данных подклассов выявлены в организмах животных, растений, грибов и бактерий [16, 18, 20, 22–24]. При этом часть образовавшихся гидроксифенилов попадает в окружающую среду, так как не подвергается дальнейшей трансформации имеющимися ферментативными системами. Кроме того, гидроксифенилы оказываются в объектах окружающей среды как конечные метаболиты ряда сложных органических соединений [22, 25]. В литературе встречаются немногочисленные сведения о том, что гидроксильированные бифенил/ПХБ под действием ферментативных комплексов ряда бактерий, таких как *Achromobacter* sp. NBTU2 и *Bacillus subtilis* VCIB 3610, трансформируются в метоксипроизводные, при этом находясь в природных резервуарах гидрокси- и метоксифенил/ПХБ могут превращаться друг в друга [18, 26].

В ряде работ показано, что гидроксильированные бифенилы/ПХБ оказывают негативное воздействие на метаболические процессы как в прокариотических, так и в эукариотических клетках [15–17, 27–29]. В эукариотических клетках гидрокси-ПХБ ингибируют митохондриальную и АТФ-азную активность, в прокариотических клетках вызывают токсические процессы. Таким образом, гидроксильированные бифенилы являются в настоящий момент вторичными поллютантами, а вопросы, связанные с их уничтожением в объектах окружающей среды, приобретают актуальность.

Цель настоящего исследования – установить возможность разложения 3-гидроксифенила и 4-гидроксифенила аэробными штаммами бактерий, проявляющих деградационную активность к хлорированным бифенилам.

1. Материалы и методы

1.1. Бактериальные штаммы. Штаммы *Micrococcus* sp. PNS1, *Ochrobactrum* sp. PNS5, *Stenotrophomonas* sp. PNS6, *Pseudomonas* sp. PNB3, *Brevibacterium* sp. PNB5, *Achromobacter* sp. PNB6 и *Bosea* sp. PNB7 выделены из бактериальных ассоциаций, полученных на основе образцов почв, загрязненных алифатическими и ароматическими поллютантами [30].

1.2. Среда культивирования, реактивы. Минеральная среда K1, состава (г/л): $K_2HPO_4 \times 3H_2O$ – 3.2, $NaH_2PO_4 \times 2H_2O$ – 0.4, $(NH_4)_2SO_4$ – 0.5, $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 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 %), 3-гидроксифенил (>98 %), 4-гидроксифенил (>98 %), 3-гидроксibenзойную кислоту (>98 %), 4-гидроксibenзойную кислоту (>98 %), 3,4-дигидроксibenзойную кислоту (>98 %), катехол (>98 %) фирмы Sigma-Aldrich (Германия).

1.3. Деструкция гидроксилированных бифенилов. Разложение моногидроксилированных бифенилов осуществляли в экспериментах с отмытыми клетками. Бактериальную культуру, предварительно выращенную в минеральной среде K1 с бифенилом в качестве источника углерода до оптической плотности 1.0–1.05 о.е. (длина волны 600 нм, длина кюветы 10 мм), центрифугировали (9660 g, 3 мин, центрифуга MiniSpin (Eppendorf, Германия)). Клетки бактериальной культуры, отмытые от бифенила в среде K1, концентрировали до $A_{600} = 2.0$ о.е. и помещали по 1 мл во флаконы с закручивающимися крышками. Моногидроксифенилы вносили в виде ацетонового раствора до конечной концентрации 0.5 г/л. Образцы для анализа отбирали на 3, 7, 10 и 14 сут, а также сразу после внесения субстрата.

1.4. Аналитические методы. Количественный анализ гидроксифенилов проводили в условиях газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием на газовом хроматографе 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 [31]. Расчет содержания гидроксифенила в каждом исследуемом образце проводили методом внутренней нормализации. На основании полученных расчетных площадей пиков оценивали содержание гидроксифенила после процесса биодеструкции. Наличие гидроксibenзойных кислот, бензойной кислоты и катехола определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для анализа культуральную жидкость отделяли от бактериальных клеток центрифугированием (9660 g в течение 3 мин на центрифуге miniSpin (Eppendorf, Германия)). Наличие в надосадочной жидкости бензойной и гидроксibenзойных кислот, катехола определяли на хроматографе 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, а также на хроматографе LicArt («Лабконцепт», Россия) с колонкой Inspire C18 (5 мкм, 250 × 4.6 мм) (Dicma Technologies Inc., Китай) и детектором UV-62 при 205 нм. В качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрил–0.1%-ная H_3PO_4 (70:30). Идентификацию проводили путем сравнения времен удерживания на колонке исследуемых и стандартных соединений.

1.5. Удельная скорость деструкции гидроксифенилов. Удельная скорость деструкции субстрата рассчитывали по формуле

$$V = \frac{\ln c_0 - \ln c_i}{t_i - t_0},$$

где c_0 – концентрация гидроксифенила в начальный момент времени, мг/л, c_i – концентрация гидроксифенила в конечный момент времени, мг/л, t_i – конечный момент времени, сут, t_0 – начальный момент времени, сут.

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

1.7. Выделение ДНК. Тотальную ДНК из бактериальных культур выделяли с использованием коммерческого набора реактивов FastDNA Spin Kit (MP Biomedicals, USA). Концентрацию ДНК определяли на приборе Qubit™ Fluorometer (Invitrogen, США) с использованием реактивов производителя.

1.8. Амплификация функциональных генов. Амплификацию гена *bphA*, кодирующего биосинтез α -субъединицы бифенил диоксигеназы (праймеры: F: 5'-AAGGCCGCGCACTTCATGAC-3'; R: 5'-TGCTCCGCTGCGAACTTCC-3'), и гена *benA*, кодирующего биосинтез α -субъединицы бензоат диоксигеназы (праймеры: F: 5'-GCCCCACGAGAGCCAGATTCCC-3' и R: 5'-GGTGGCGGCGTAGTTCCAGTG-3'), проводили на матрице ДНК, выделенной из бактериальных штаммов [32, 33]. Протокол исследования подробно описан в [34].

1.9. Визуализация амплифицированных фрагментов ДНК. Продукты ПЦР разделяли электрофоретически в 0.8%-ном агарозном геле в 1× Трис-боратном буферном растворе (Thermo scientific, Литва) при напряжении 10 В/см и визуализировали в проходящем УФ-свете с использованием системы Gel Doc XR™ («Bio-Rad Laboratories», США) после окрашивания в растворе бромистого этидия.

1.10. Определение нуклеотидных последовательностей амплифицированных фрагментов ДНК. Определение нуклеотидных последовательностей генов *bphA* и *benA* осуществляли на автоматическом секвенаторе Genetic Analyzer 3500xl (Applied Biosystems, США), с применением реактивов Big Dye Terminator Ready Reaction Kit v 3.1 (Applied Biosystems, США) согласно рекомендациям производителя в молекулярно-генетической лаборатории кафедры ботаники и генетики растений Пермского государственного национального исследовательского университета.

1.11. Анализ нуклеотидных последовательностей амплифицированных фрагментов функциональных генов. Поиск гомологичных последовательностей был произведен по базе данных GenBank. С применением пакета программ Mega 7.0 выявленные по базе данных и секвенированные в настоящем исследовании нуклеотидные последовательности были выровнены с последующим расчетом их сходства, которое было отображено в виде графической модели эволюционного дерева.

1.12. Размещение нуклеотидных последовательностей в международных базах данных. Нуклеотидные последовательности фрагментов генов *bphA* и *benA*, полученные в настоящем исследовании, депонированы в международной базе данных GenBank. Номера, присвоенные данным последовательностям, представлены в разделе «Результаты и обсуждение».

1.13. Моделирование пути деструкции гидроксибифенилов. Построение схемы пути деструкции гидроксибифенилов выполнено с применением программы ChemSketch на основании анализа полученных данных, а также баз данных Brenda (<http://www.brenda-enzymes.info>), KEGG (<http://www.genome.jp>), ExplorEnz (<http://www.enzyme-database.org>), GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

2. Результаты и обсуждение

2.1. Бактериальная деструкция моногидроксилированных бифенилов. Бактериальные штаммы *Micrococcus* sp. PNS1, *Ochrobactrum* sp. PNS5, *Stenotrophomonas* sp. PNS6, *Pseudomonas* sp. PNB3, *Brevibacterium* sp. PNB5, *Achromobacter* sp. PNB6 и *Bosea* sp. PNB7, выделенные в результате селекции из почв, загрязненных углеводородами различных химических групп, осуществляют разложение моно- и дихлорированных бифенилов [30]. В настоящем исследовании установлено, что данные штаммы также способны осуществлять деструкцию моногидроксилированных бифенилов (рис. 1).

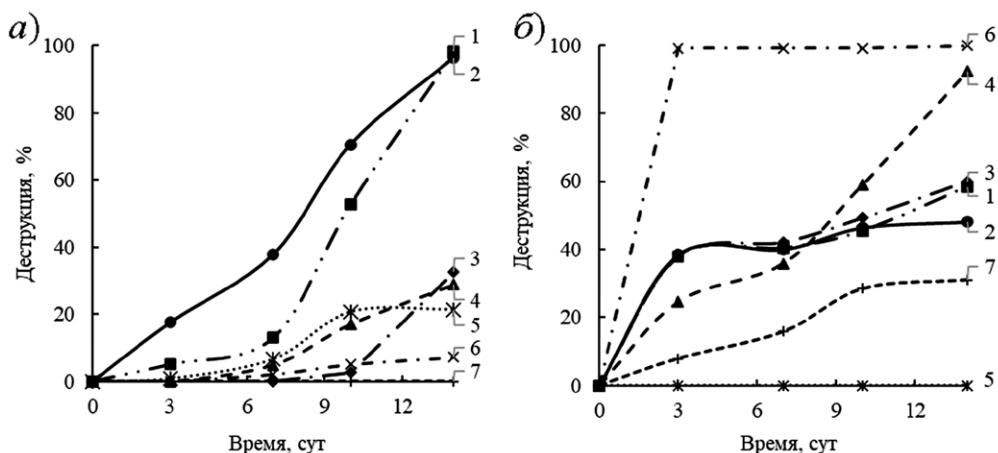


Рис. 1. Динамика деструкции 3-гидрокси- (а) и 4-гидрокси- (б) бифенилов исследуемыми штаммами: 1 – *Brevibacterium* sp. PNB5, 2 – *Micrococcus* sp. PNS1, 3 – *Pseudomonas* sp. PNB3, 4 – *Stenotrophomonas* sp. PNS6, 5 – *Achromobacter* sp. PNB6, 6 – *Bosea* sp. PNB7, 7 – *Ochrobactrum* sp. PNS5

Как видно из рис. 1, штаммы проявляли разную активность к субстрату, в зависимости от расположения гидроксильного заместителя в молекуле бифенила. В случае, когда гидроксильная группа находилась у C_3 атома молекулы бифенила, наибольшую активность с достижением 96–98 % деструкции проявляли штаммы *Brevibacterium* sp. PNB5 и *Micrococcus* sp. PNS1, в то время как уровень деструкции 4-гидроксибифенила у данных штаммов составлял 48–58 %. Обратный результат показывает штамм *Bosea* sp. PNB7 (рис. 1). Эффективность деструкции 3-гидроксибифенила у данного штамма составляла 7 % за 14 сут, тогда как аналогичный показатель в случае использования в качестве субстрата 4-гидроксибифенила достигал 99 % уже на 3 сутки культивирования. Штаммы *Ochrobactrum* sp. PNS5 и *Achromobacter* sp. PNB6 не проявили деградационную активность по отношению к 3-гидрокси- и 4-гидроксибифенилам соответственно.

На основании результатов настоящего исследования, а также представленных в [30], рассчитана удельная скорость деструкции монозамещенных бифенилов (табл. 1). В результате анализа расчетных данных установлено, что удельная скорость деструкции гидроксибифенилов у штаммов *Micrococcus* sp. PNS1, *Stenotrophomonas* sp. PNS6, *Pseudomonas* sp. PNB3, *Brevibacterium* sp. PNB5 и *Bosea* sp. PNB7 выше аналогичного показателя при деструкции моноклорированных бифенилов данными штаммами в 1.8–65.9 раза. Можно предположить, что наличие гидроксильного радикала делает молекулу замещенного бифенила более доступной для ферментативных

систем исследуемых штаммов. Исключение составляют штаммы *Ochrobactrum* sp. PNS5 и *Achromobacter* sp. PNB6. Для данных штаммов подобная закономерность не выявлена. Напротив, штамм PNS5 осуществлял разложение 3-хлорбифенила, но не 3-гидроксибифенила, а штамм PNB6 не проявлял активности к 4-гидроксибифенилу, но осуществлял деструкцию 4-хлорбифенила [30].

Табл. 1

Удельная скорость деструкции(сут⁻¹) монозамещенных бифенилов

Субстрат	PNS1	PNS5	PNS6	PNB3	PNB5	PNB6	PNB7
3-гидроксибифенил	6.88	0	2.05	2.32	7.01	1.52	0.51
4-гидроксибифенил	3.42	2.21	6.59	4.28	4.17	0	7.13
3-хлорбифенил	0.36	0.16	0.69	0.57	2.27	2.03	0.26
4-хлорбифенил	0.47	0.08	0.10	1.05	2.27	0.82	0.44

2.2. Основные продукты метаболизма моногидроксилированных бифенилов у исследуемых штаммов. Известно, что за деструктивную активность по отношению к ароматическим углеводородам у аэробных бактерий отвечают ферменты подклассов ди- и монооксигеназ [23, 24, 27, 35]. В зависимости от того, какое кольцо молекулы моногидроксибифенила (замещенное или не замещенное) подвергается окислению под действием оксигеназ, в качестве метаболитов образуются бензойная или гидроксибензойные кислоты с последующей их трансформацией до соединений основного обмена клетки. В настоящем исследовании проведен качественный анализ метаболитов, образующихся при деструкции 3-гидрокси и 4-гидроксибифенилов (табл. 2, 3).

Табл. 2

Основные метаболиты биодеструкции 3-гидроксибифенила

Штамм	Бензойная кислота	3-гидроксибензойная кислота	катехол
PNS1	—	+	+
PNS5	—	+	—
PNS6	—	+	—
PNB3	—	+	+
PNB5	—	+	—
PNB6	—	+	—
PNB7	—	+	—

Табл. 3

Основные метаболиты биодеструкции 4-гидроксибифенила

Штамм	Бензойная кислота	4-гидроксибензойная кислота	3,4-дигидроксибензойная кислота	катехол
PNS1	—	+	+	—
PNS5	—	+	+	—
PNS6	—	+	+	—
PNB3	—	+	+	—
PNB5	—	+	+	—
PNB6	—	—	—	—
PNB7	—	+	+	—

Как видно из полученных результатов, разложение моногидрокси-бифенилов идет с образованием моногидроксибензойных кислот и их последующим окислением. Бензойная кислота не зарегистрирована ни в одном из вариантов экспериментов. Полученные результаты позволяют предположить, что происходит окисление незамещенного кольца исследуемых гидрокси- бифенилов. Однако остается открытым вопрос о том, моно- или диоксигеназы участвуют в процессе трансформации гидроксибифенилов у исследуемых штаммов.

2.3. Генетическая основа биодеградативной активности исследуемых штаммов к монозамещенным бифенилам. В результате проведенных генетических исследований установлено, что все штаммы несут ген *bphA*, кодирующий биосинтез классической бифенил-2,3-диоксигеназы (рис. 2).

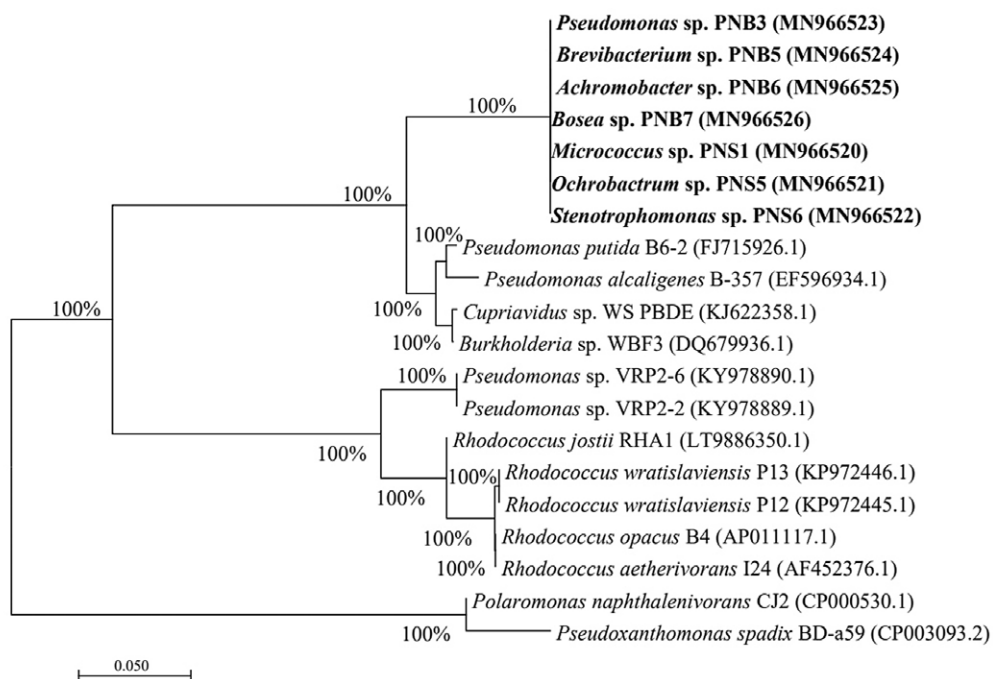


Рис. 2. Дерево сходства генов α -субъединицы бифенил-2,3-диоксигеназ, построенное с использованием метода Neighbor-Joining. Показано оптимальное дерево с суммой длин ветвей = 2.92. Дерево отображено в масштабе, длина ветвей выражена в тех же единицах, что и эволюционные расстояния, используемые для построения филогенетического дерева. Эволюционные расстояния рассчитаны с использованием метода максимального полного правдоподобия и выражены в единицах количества замен оснований на сайт. Доля сайтов, где хотя бы одно однозначное основание присутствует хотя бы в одной последовательности для каждой потомковой клады, показана рядом с каждым внутренним узлом дерева. В анализе использовано 20 нуклеотидных последовательностей. 1-й+2-й+3-й+Некодирующий – включенные позиции кодонов. Все позиции, содержащие пробелы и недостающие данные, исключены. Всего в окончательном наборе данных было 112 позиций.

Следует отметить, что гены *bphA* у исследуемых в настоящей работе штаммов формируют отдельную ветвь на филогенетическом дереве (рис. 2). Уровень сходства нуклеотидных последовательностей выявленных генов с генами

bphA штаммов *Pseudomonas* sp. VRP2-6, *Pseudomonas* sp. VRP2-2, *Rhodococcus wratislaviensis* P13 и *Rhodococcus wratislaviensis* P12, изолированных ранее из территориально близких экотопов, составил 82.32–99.76 %.

Так как среди промежуточных соединений биodeградации моногидрокси-бифенилов выявлен катехол, который может образоваться из гидроксibenзойных кислот под действием фермента бензоат-1,2-диоксигеназы, нами проведен скрининг исследуемых штаммов на наличие гена *benA*, кодирующего биосинтез α -субъединицы бензоат-1,2-диоксигеназы (рис. 3).

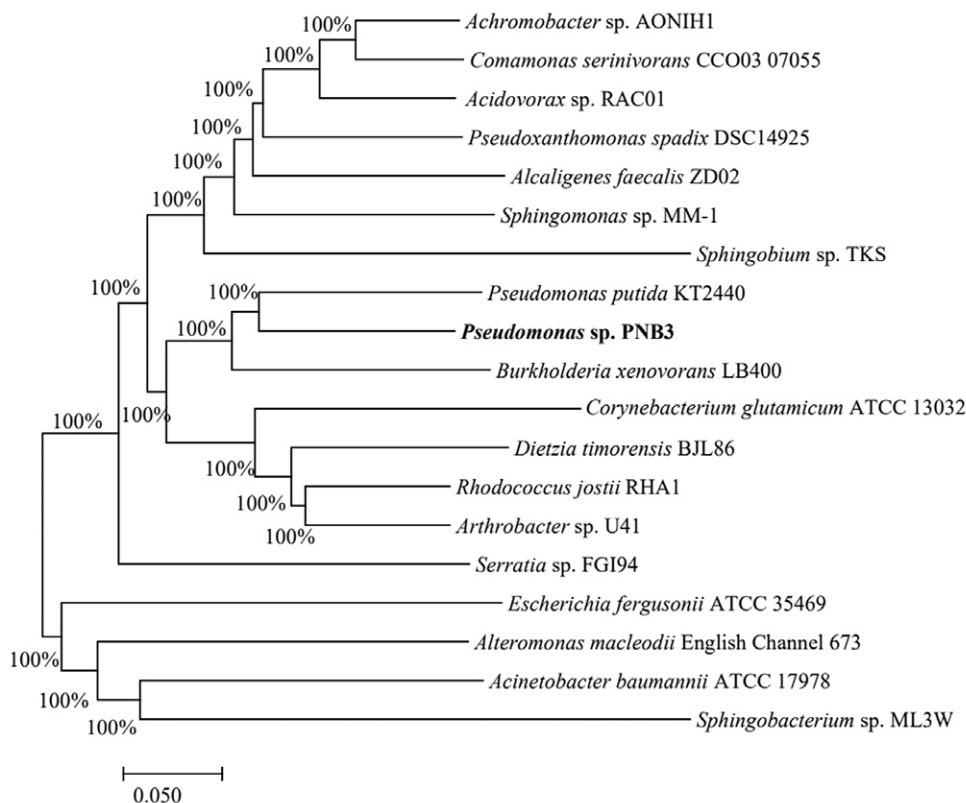


Рис. 3. Дерево сходства генов α -субъединицы бензоат-1,2-диоксигеназ, построенное с использованием метода Neighbor-Joining. Показано оптимальное дерево с суммой длин ветвей = 2.92. Дерево отображено в масштабе, длина ветвей выражена в тех же единицах, что и эволюционные расстояния, используемые для построения филогенетического дерева. Эволюционные расстояния рассчитаны с использованием метода максимального полного правдоподобия и выражены в единицах количества замен оснований на сайт. Доля сайтов, где хотя бы одно однозначное основание присутствует хотя бы в одной последовательности для каждой потомковой клады, показана рядом с каждым внутренним узлом дерева. В анализе использовано 19 нуклеотидных последовательностей. 1-й+2-й+3-й+Некодирующий – включенные позиции кодонов. Все позиции, содержащие пробелы и недостающие данные, исключены. Всего в окончательном наборе данных было 485 позиций

Положительная амплификация с праймерами к гену *benA* была получена только с ДНК штамма *Pseudomonas* sp. PNB3 (на рис. 3 выделено жирным шрифтом). Следует отметить, что нуклеотидная последовательность *benA*_{PNB3} при по-

строении филогенетического дерева была расположена в одной ветви с геном *benA* известного штамма-деструктора ароматических соединений *Pseudomonas putida* KT2440 [36, 37]. Таким образом, можно предположить, что у штаммов *Micrococcus* sp. PNS1, *Ochrobactrum* sp. PNS5, *Stenotrophomonas* sp. PNS6, *Brevibacterium* sp. PNB5, *Achromobacter* sp. PNB6 и *Bosea* sp. PNB7 трансформация гидроксibenзойных кислот до соединений основного обмена клетки происходит под действием иных ферментов.

2.4. Метаболический путь биодеструкции 3-гидрокси- и 4-гидроксиби-фенилов. На основании полученных результатов и известных путей бактериальной трансформации ароматических соединений составлена схема метаболического пути 3-гидрокси- и 4-гидроксиби-фенилов у штаммов *Micrococcus* sp. PNS1, *Ochrobactrum* sp. PNS5, *Stenotrophomonas* sp. PNS6, *Pseudomonas* sp. PNB3, *Brevibacterium* sp. PNB5, *Achromobacter* sp. PNB6 и *Bosea* sp. PNB7 (рис. 4).

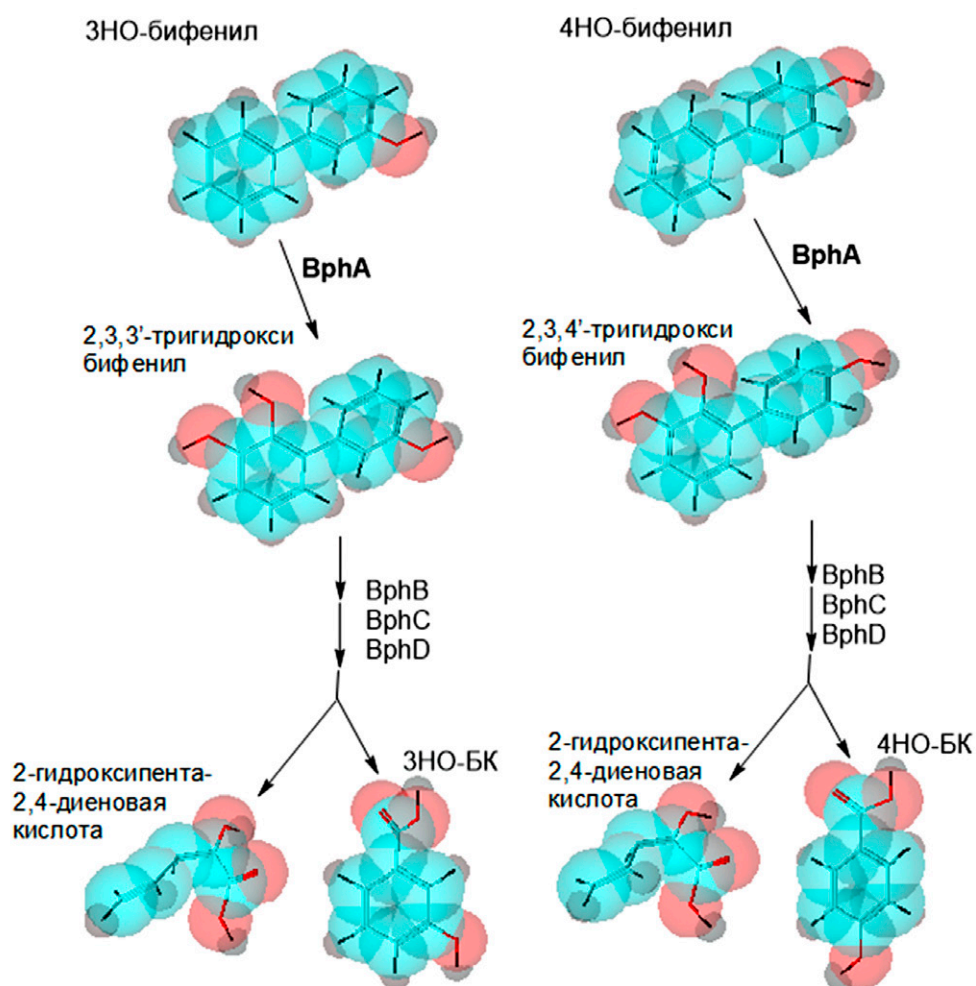


Рис. 4. Схема биодеструкции 3-гидрокси- (3НО-бифенил) и 4-гидроксиби-фенила (4НО-бифенил). Жирным шрифтом обозначена бифенил-2,3-диоксигеназа (BphA), идентифицированная на генетическом уровне у исследуемых бактериальных штаммов; BphB, BphC, BphD – ферменты классического пути бактериальной деструкции бифенила, 3НО-БК и 4НО-БК – 3-гидрокси- и 4-гидроксибензойная кислоты соответственно

Бифенил-2,3-диоксигеназа исследуемых штаммов осуществляет окисление незамещенного кольца моногидроксилированных бифенилов, в результате чего образуется молекула, содержащая две гидроксильные группы в одном кольце и одну гидроксильную группу в другом кольце молекулы бифенила. Дальнейшая трансформация происходит по классическому пути бактериального разложения бифенила с образованием соответствующих моногидроксибензойных кислот. Полученные результаты позволяют предположить, что 3-гидрокси- и 4-гидроксибензойные кислоты не являются конечными метаболитами, а подвергаются дальнейшей трансформации до соединений основного обмена клетки.

Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что штаммы *Micrococcus* sp. PNS1, *Ochrobactrum* sp. PNS5, *Stenotrophomonas* sp. PNS6, *Pseudomonas* sp. PNB3, *Brevibacterium* sp. PNB5, *Achromobacter* sp. PNB6 и *Bosea* sp. PNB7 эффективно разлагают моно-гидроксилированные бифенилы до соединений, безопасных для окружающей среды и человека.

Благодарности. Исследование по изучению генетических детерминант (*bph*- и *ben*-генов) выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 24-24-00498). В исследовании использовано оборудование ЦКП «Исследование материалов и вещества».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Треггер Ю. СОЗ – стойкие и очень опасные // Chem. J. 2013. № 1–2. P. 30–34.
2. Erickson M.D., Kaley R.G., II Application of polychlorinated biphenyls // Environ. Sci. Pollut. Res. 2011. V. 18, No 2. P. 135–151. <https://doi.org/10.1007/s11356-010-0392-1>.
3. Zhang P., Ge L., Gao H., Yao T., Fang X., Zhou C., Na G. Distribution and transfer pattern of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) among the selected environmental media of Ny-Ålesund, the Arctic: As a case study // Mar. Pollut. Bull. 2014. V. 89, No 1–2. P. 267–275. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.09.050>.
4. Xu Y., Yu M., Shen A. Complete genome sequence of the polychlorinated biphenyl degrader *Rhodococcus* sp. WB1 // Genome Announce. 2016. V. 4, No 5. Art. e00996-16. <https://doi.org/10.1128/genomea.00996-16>.
5. Zhao Q., Bai J., Lu Q., Gao Z., Jia J., Cui B., Liu X. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in sediments/soils of different wetlands along 100-year coastal reclamation chronosequence in the Pearl River Estuary, China // Environ. Pollut. 2016. V. 213. P. 860–869. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.03.039>.
6. Nam I.-H., Chon C.-M., Jung K.-Y., Kim J.-G. Biodegradation of biphenyl and 2-chlorobiphenyl by a *Pseudomonas* sp. KM-04 isolated from PCBs-contaminated coal mine soil // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2014. V. 93, No 1. P. 89–94. <https://doi.org/10.1007/s00128-014-1286-6>.
7. Serdar B., LeBlanc W.G., Norris J.M., Dickinson L.M. Potential effects of polychlorinated biphenyls (PCBs) and selected organochlorine pesticides (OCPs) on immune cells and blood biochemistry measures: A cross-sectional assessment of the NHANES 2003-2004 data // Environ. Health. 2014. V. 13, No 1. Art. 114. <https://doi.org/10.1186/1476-069x-13-114>.

8. Hu J., Qian M., Zhang Q., Cui J., Yu C., Su X., Shen C., Hashmi M.Z., Shi J. *Sphingobium fuliginis* HC3: A novel and robust isolated biphenyl-and polychlorinated biphenyls-degrading bacterium without dead-end intermediates accumulation // PloS One. 2015. V. 10, No 4. Art. e0122740. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122740>.
9. Shuai J., Yu X., Zhang J., Xiong A.-S., Xiong F. Regional analysis of potential polychlorinated biphenyl degrading bacterial strains from China // Braz. J. Microbiol. 2016. V. 47, No 3. P. 536–541. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2014.12.001>.
10. Murugan K., Vasudevan N. Intracellular toxicity exerted by PCBs and role of VBNC bacterial strains in biodegradation // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2018. V. 157. P. 40–60. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.014>.
11. Devi N.L. Persistent organic pollutants (POPs): Environmental risks, toxicological effects, and bioremediation for environmental safety and challenges for future research // Saxena G., Bharagava R. (Eds.) Bioremediation of Industrial Waste for Environmental Safety. V. I: Industrial waste and its management. Singapore: Springer, 2023. P. 53–76. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1891-7_4.
12. Final Act of the Conference of Plenipotentiaries on the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (Stockholm, 22–23 May 2001) // United Nations Environment Programme. Geneva, 2001. 44 p.
13. Zhu L., Zhou J., Zhang R., Tang X., Wang J., Li Y., Zhang Q., Wang W. Degradation mechanism of biphenyl and 4,4'-dichlorobiphenyl *cis*-dihydroxylation by non-heme 2,3 dioxygenases BphA: A QM/MM approach // Chemosphere. 2020. V. 247. Art. 125844. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.125844>.
14. Negret-Bolagay D., Zamora-Ledezma C., Chuya-Sumba C., De Sousa F.B., Whitehead D., Alexis F., Guerrero V.H. Persistent organic pollutants: The trade-off between potential risks and sustainable remediation methods // J. Environ. Manage. 2021. V. 300. Art. 113737. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113737>.
15. Cámara B., Herrera C., González M., Couve E., Hofer B., Seeger M. From PCBs to highly toxic metabolites by the biphenyl pathway // Environ. Microbiol. 2004. V. 6, No 8. P. 842–850. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00630.x>.
16. Passatore L., Rossetti S., Juwarkar A.A., Massacci A. Phytoremediation and bioremediation of polychlorinated biphenyls (PCBs): State of knowledge and research perspectives // J. Hazard. Mater. 2014. V. 278. P. 189–202. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.05.051>.
17. Tehrani R., Lyv M.M., Kaveh R., Schnoor J.L., Van Aken B. Biodegradation of mono-hydroxylated PCBs by *Burkholderia xenovorans* // Biotechnol. Lett. 2012. V. 34, No 12. P. 2247–2252. <https://doi.org/10.1007/s10529-012-1037-x>.
18. Sun J., Pan L., Zhu L. Formation of hydroxylated and methoxylated polychlorinated biphenyls by *Bacillus subtilis*: New insights into microbial metabolism // Sci. Total Environ. 2018. V. 613–614. P. 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.063>.
19. Li C., Liu J., Wu N., Pan X., Feng J., Al-Basher G., Allam A.A., Qu R., Wang Z. Photochemical formation of hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) from decachlorobiphenyl (PCB-209) on solids/air interface // J. Hazard. Mater. 2019. V. 378. Art. 120758. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120758>.
20. Macková M., Vrchotová B., Francová K., Sylvestre M., Tomaniová M., Lovecká P., Demnerová K., Macek T. Biotransformation of PCBs by plant and bacteria – consequences of plant-microbe interactions // Eur. J. Soil Biol. 2007. V. 43, No 4. P. 233–241. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2007.02.006>.
21. Moody J., Doerge D., Freeman J., Cerniglia C. Degradation of biphenyl by *Mycobacterium* sp. strain PYP-1 // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2002. V. 58, No 3. P. 364–369. <https://doi.org/10.1007/s00253-001-0878-3>.

22. Yoo M., Kim D., Zylstra G.J., Kang B.S., Kim E. Biphenyl hydroxylation enhanced by an engineered *o*-xylene dioxygenase from *Rhodococcus* sp. strain DK17 // Res. Microbiol. 2011. V. 162, No 7. P. 724–728. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2011.04.013>.
23. Kanteev M., Bregman-Cohen A., Deri B., Shahar A., Adir N., Fishman A. A crystal structure of 2-hydroxybiphenyl 3-monooxygenase with bound substrate provides insights into the enzymatic mechanism // Biochim. Biophys. Acta, Proteins Proteomics. 2015. V. 1854, No 12. P. 1906–1913. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2015.08.002>.
24. Suman J., Sredlova K., Fraraccio S., Jerabkova M., Strejcek M., Kabickova H., Cajthaml T., Uhlik O. Transformation of hydroxylated polychlorinated biphenyls by bacterial 2-hydroxybiphenyl 3-monooxygenase // Chemosphere. 2024. V. 349. Art. 140909. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140909>.
25. Bordoloi N.K., Rai S.K., Chaudhuri M.K., Mukherjee A.K. Deep-desulfurization of dibenzothiophene and its derivatives present in diesel oil by a newly isolated bacterium *Achromobacter* sp. to reduce the environmental pollution from fossil fuel combustion // Fuel Process. Technol. 2014. V. 119. P. 236–244. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2013.10.014>.
26. Sun J., Zhu L., Pan L., Wei Z., Song Y., Zhang Y., Qu L., Zhan Y. Detection of methoxylated and hydroxylated polychlorinated biphenyls in sewage sludge in China with evidence for their microbial transformation // Sci. Rep. 2016. V. 6, No 1. Art. 29782. <https://doi.org/10.1038/srep29782>.
27. Sondossi M., Sylvestre M., Ahmad D., Massé R. Metabolism of hydroxybiphenyl and chloro-hydroxybiphenyl by biphenyl/chlorobiphenyl degrading *Pseudomonas testosteroni*, strain B-356 // J. Ind. Microbiol. 1991. V. 7, No 2. P. 77–88. <https://doi.org/10.1007/BF01576069>.
28. Yamada T., Shimomura Y., Hiraoka Y., Kimbara K. Oxidative stress by biphenyl metabolites induces inhibition of bacterial cell separation // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2006. V. 73, No 2. P. 452–457. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0472-9>.
29. Bhalla R., Tehrani R., Van Aken B. Toxicity of hydroxylated polychlorinated biphenyls (HO-PCBs) using the bioluminescent assay Microtox® // Ecotoxicology. 2016. V. 25, No 7. P. 1438–1444. <https://doi.org/10.1007/s10646-016-1693-z>.
30. Egorova D., Kyr'yanova T., Pyankova A., Anan'ina L., Plotnikova E. Selective pressure of biphenyl/polychlorinated biphenyls on the formation of aerobic bacterial associations and their biodegradative potential // Folia Microbiol. 2021. V. 66, No 4. P. 659–676. <https://doi.org/10.1007/s12223-021-00873-1>.
31. Hernandez B.S., Koh S.-C., Chial M., Focht D.D. Terpene-utilizing isolates and their relevance to enhanced biotransformation of polychlorinated biphenyls in soil // Biodegradation. 1997. V. 8, No 3. P. 153–158. <https://doi.org/10.1023/A:1008255218432>.
32. Baggi G., Bernasconi S., Zangrossi M., Cavalca L., Andreoni V. Co-metabolism of di- and trichlorobenzoates in a 2-chlorobenzoate-degrading bacterial culture: Effect of the position and number of halo-substituents // Int. Biodeterior. Biodegrad. 2008. V. 62, No 1. P. 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2007.12.002>.
33. Baldwin B.R., Nakatsu C.H., Nies L. Detection and enumeration of aromatic oxygenase genes by multiplex and real-time PCR // Appl. Environ. Microbiol. 2003. V. 69, No 6. P. 3350–3358. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.6.3350-3358.2003>.
34. Егорова Д.О., Пьянкова А.А. Скрининг гена альфа-субъединицы бензоат диоксигеназы в бактериальных ассоциациях, полученных в результате селекции на (хлор)ароматических соединениях // Вестник Пермского Университета. Сер. Биология. 2019. Вып. 4. С. 464–470. <https://doi.org/10.17072/1994-9952-2019-4-464-470>.
35. Francova K., Macková M., Macek T., Sylvestre M. Ability of bacterial biphenyl dioxygenases from *Burkholderia* sp. LB400 and *Comamonas testosteroni* B-356 to catalyze oxygenation

- of *ortho*-hydroxychlorobiphenyls formed from PCBs by plants // Environ. Pollut. 2004. V. 127, No 1. P. 41–48. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(03\)00257-4](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(03)00257-4).
36. van Duuren J.B.J.H., Wijte D., Leprince A., Karge B., Puchalka J., Wery J., Martins dos Santos V.A.P., Eggink G., Mars A.E. Generation of a *catR* deficient mutant of *P. putida* KT2440 that produces *cis,cis*-muconate from benzoate at high rate and yield // J. Biotechnol. 2011. V. 156, No 3. P. 163–172. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.08.030>.
37. Kahlon R.S. (Ed.) *Pseudomonas: Molecular and Applied Biology*. Springer Int. Publ., 2016. 519 p. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-31198-2>.

Поступила в редакцию 06.03.2024

Принята к публикации 25.04.2024

Кириянова Татьяна Денисовна, аспирант

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН

ул. Голева, д. 13, г. Пермь, 614081, Россия

E-mail: kitadi2101@gmail.com

Егорова Дарья Олеговна, доктор биологических наук, доцент, старший научный сотрудник

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН

ул. Голева, д. 13, г. Пермь, 614081, Россия

E-mail: daryao@rambler.ru

ISSN 2542-064X (Print)

ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2024, vol. 166, no. 3, pp. 459–475

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.3.459-475

Degradation of Mono-Hydroxybiphenyls by Aerobic Strains Isolated from the Bacterial Associations Breaking Down Aromatic Pollutants

T.D. Kir'yanova *, D.O. Egorova **

*Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms,
Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, 614081 Russia*

E-mail: *kitadi2101@gmail.com, **daryao@rambler.ru

Received March 6, 2024; Accepted April 25, 2024

Abstract

Micrococcus sp. PNS1, *Ochrobactrum* sp. PNS5, *Stenotrophomonas* sp. PNS6, *Pseudomonas* sp. PNB3, *Brevibacterium* sp. PNB5, *Achromobacter* sp. PNB6, and *Bosea* sp. PNB7 were isolated from the PN2 and PN2-B associations and screened for their ability to degrade mono-hydroxylated biphenyls with hydroxyl groups at the C₃ or C₄ atoms in the biphenyl molecule. The maximum degradation efficiency was 98 % for 3-hydroxybiphenyl and up to 100 % for 4-hydroxybiphenyl with various strains. All strains showed amplification of a fragment of the *bphA* gene encoding biphenyl-2,3-dioxygenase biosynthesis. Sequence analysis of the *bphA* gene revealed a distinct branch on the tree topology, indicating its similarity level with known sequences of this gene. *Pseudomonas* sp. PNB3 was found to possess the *benA* gene encoding benzoate-1,2-dioxygenase biosynthesis and positioned on the same evolutionary branch as the *benA* gene from the well-known biphenyl degrader *Pseudomonas putida* KT2440. The re-

sults obtained demonstrate that the transformation of 3-hydroxy- and 4-hydroxybiphenyls by the isolated strains occurs through dioxygenation of the unsubstituted ring of the biphenyl molecule, with subsequent cleavage into 3- and 4-hydroxybenzoic acids, respectively. Therefore, the strains that were examined are promising for potential application in technologies aimed at degrading both chlorobiphenyls and hydroxylated biphenyls.

Keywords: hydroxybiphenyl, polychlorinated biphenyls, aerobic bacteria, strains

Acknowledgments. The investigation of genetic determinants (*bph* and *ben* genes) was supported by the Russian Science Foundation (project no. 24-24-00498). The study was carried out with the equipment of the Research Center for Materials and Substances.

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure Captions

Fig. 1. Dynamics of the degradation of 3-hydroxy- (a) and 4-hydroxybiphenyls (b) by the studied strains: 1 – *Brevibacterium* sp. PNB5, 2 – *Micrococcus* sp. PNS1, 3 – *Pseudomonas* sp. PNB3, 4 – *Stenotrophomonas* sp. PNS6, 5 – *Achromobacter* sp. PNB6, 6 – *Bosea* sp. PNB7, 7 – *Ochrobactrum* sp. PNS5.

Fig. 2. Genetic similarity tree for the α -subunit of biphenyl-2,3-dioxygenases, which was inferred using the neighbor-joining method. The optimal tree with sum of branch lengths = 2.92 is shown. The tree is drawn to scale, with the branch lengths expressed in the same units as those of the evolutionary distances used to infer the phylogenetic tree. Evolutionary distances were calculated using the maximum likelihood method and expressed as the number of base substitutions per site. The proportion of sites where at least one unambiguous base is present in at least one sequence for each descendant clade is shown next to each internal tree node. The analysis involved 20 nucleotide sequences. The codon positions included were 1st+2nd+3rd+noncoding. All positions containing gaps and missing data were eliminated. There was a total of 112 positions in the final data set.

Fig. 3. Genetic similarity tree for the α -subunit of benzoate-1,2-dioxygenases, which was inferred using the neighbor-joining method. The optimal tree with sum of branch lengths = 2.92 is shown. The tree is drawn to scale, with the branch lengths expressed in the same units as those of the evolutionary distances used to infer the phylogenetic tree. Evolutionary distances were calculated using the maximum likelihood method and expressed as the number of base substitutions per site. The proportion of sites where at least one unambiguous base is present in at least one sequence for each descendant clade is shown next to each internal tree node. The analysis involved 19 nucleotide sequences. The codon positions included were 1st+2nd+3rd+noncoding. All positions containing gaps and missing data were excluded. There was a total of 485 items in the final data set.

Fig. 4. Scheme of biodegradation of 3-hydroxy- (3HO-byphenyl) and 4-hydroxybiphenyls (4HO-byphenyl). The enzyme biphenyl-2,3-dioxygenase (BphA), identified at the genetic level in the investigated bacterial strains, is indicated in bold. BphB, BphC, BphD are the enzymes of the classical pathway of bacterial biphenyl degradation. 3HO-BA and 4HO-BA are 3-hydroxybenzoic and 4-hydroxybenzoic acids, respectively.

References

1. Treger Yu. POPs are persistent and very dangerous. *Chem. J.*, 2013, nos. 1–2, pp. 30–34. (In Russian)
2. Erickson M.D., Kaley R.G., II Application of polychlorinated biphenyls. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2011, vol. 18, no. 2, pp. 135–151. <https://doi.org/10.1007/s11356-010-0392-1>.
3. Zhang P., Ge L., Gao H., Yao T., Fang X., Zhou C., Na G. Distribution and transfer pattern of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) among the selected environmental media of Ny-Ålesund, the Arctic: As a case study. *Mar. Pollut. Bull.*, 2014, vol. 89, nos. 1–2, pp. 267–275. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.09.050>.
4. Xu Y., Yu M., Shen A. Complete genome sequence of the polychlorinated biphenyl degrader *Rhodococcus* sp. WB1. *Genome Announce*, 2016, vol. 4, no. 5, art. e00996-16. <https://doi.org/10.1128/genomea.00996-16>.

5. Zhao Q., Bai J., Lu Q., Gao Z., Jia J., Cui B., Liu X. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in sediments/soils of different wetlands along 100-year coastal reclamation chronosequence in the Pearl River Estuary, China. *Environ. Pollut.*, 2016, vol. 213, pp. 860–869. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.03.039>.
6. Nam I.-H., Chon C.-M., Jung K.-Y., Kim J.-G. Biodegradation of biphenyl and 2-chlorobiphenyl by a *Pseudomonas* sp. KM-04 isolated from PCBs-contaminated coal mine soil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2014, vol. 93, no. 1, pp. 89–94. <https://doi.org/10.1007/s00128-014-1286-6>.
7. Serdar B., LeBlanc W.G., Norris J.M., Dickinson L.M. Potential effects of polychlorinated biphenyls (PCBs) and selected organochlorine pesticides (OCPs) on immune cells and blood biochemistry measures: A cross-sectional assessment of the NHANES 2003-2004 data. *Environ. Health*, 2014, vol. 13, no. 1, art. 114. <https://doi.org/10.1186/1476-069x-13-114>.
8. Hu J., Qian M., Zhang Q., Cui J., Yu C., Su X., Shen C., Hashmi M.Z., Shi J. *Sphingobium fuliginis* HC3: A novel and robust isolated biphenyl-and polychlorinated biphenyls-degrading bacterium without dead-end intermediates accumulation. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 4, art. e0122740. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122740>.
9. Shuai J., Yu X., Zhang J., Xiong A.-S., Xiong F. Regional analysis of potential polychlorinated biphenyl degrading bacterial strains from China. *Braz. J. Microbiol.*, 2016, vol. 47, no. 3, pp. 536–541. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2014.12.001>.
10. Murugan K., Vasudevan N. Intracellular toxicity exerted by PCBs and role of VBNC bacterial strains in biodegradation. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2018, vol. 157, pp. 40–60. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.014>.
11. Devi N.L. Persistent organic pollutants (POPs): Environmental risks, toxicological effects, and bioremediation for environmental safety and challenges for future research. In: Saxena G., Bharagava R. (Eds.) *Bioremediation of Industrial Waste for Environmental Safety*. Vol. I: Industrial waste and its management. Singapore, Springer, 2023, pp. 53–76. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1891-7_4.
12. Final Act of the Conference of Plenipotentiaries on the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (Stockholm, 22–23 May 2001). *United Nations Environment Programme*. Geneva, 2001. 44 p.
13. Zhu L., Zhou J., Zhang R., Tang X., Wang J., Li Y., Zhang Q., Wang W. Degradation mechanism of biphenyl and 4,4'-dichlorobiphenyl *cis*-dihydroxylation by non-heme 2,3 dioxygenases BphA: A QM/MM approach. *Chemosphere*, 2020, vol. 247, art. 125844. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.125844>.
14. Negret-Bolagay D., Zamora-Ledezma C., Chuya-Sumba C., De Sousa F.B., Whitehead D., Alexis F., Guerrero V.H. Persistent organic pollutants: The trade-off between potential risks and sustainable remediation methods. *J. Environ. Manage.*, 2021, vol. 300, art. 113737. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113737>.
15. Cámara B., Herrera C., González M., Couve E., Hofer B., Seeger M. From PCBs to highly toxic metabolites by the biphenyl pathway. *Environ. Microbiol.*, 2004, vol. 6, no. 8, pp. 842–850. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00630.x>.
16. Passatore L., Rossetti S., Juwarkar A.A., Massacci A. Phytoremediation and bioremediation of polychlorinated biphenyls (PCBs): State of knowledge and research perspectives. *J. Hazard. Mater.*, 2014, vol. 278, pp. 189–202. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.05.051>.
17. Tehrani R., Lyv M.M., Kaveh R., Schnoor J.L., Van Aken B. Biodegradation of mono-hydroxylated PCBs by *Burkholderia xenovorans*. *Biotechnol. Lett.*, 2012, vol. 34, no. 12, pp. 2247–2252. <https://doi.org/10.1007/s10529-012-1037-x>.
18. Sun J., Pan L., Zhu L. Formation of hydroxylated and methoxylated polychlorinated biphenyls by *Bacillus subtilis*: New insights into microbial metabolism. *Sci. Total Environ.*, 2018, vols. 613–614, pp. 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.063>.
19. Li C., Liu J., Wu N., Pan X., Feng J., Al-Basher G., Allam A.A., Qu R., Wang Z. Photochemical formation of hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) from decachlorobi-

- phenyl (PCB-209) on solids/air interface. *J. Hazard. Mater.*, 2019, vol. 378, art. 120758. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120758>.
20. Macková M., Vrchotová B., Francová K., Sylvestre M., Tomaniová M., Lovecká P., Demnerová K., Macek T. Biotransformation of PCBs by plant and bacteria – consequences of plant-microbe interactions. *Eur. J. Soil Biol.*, 2007, vol. 43, no. 4, pp. 233–241. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2007.02.006>.
 21. Moody J., Doerge D., Freeman J., Cerniglia C. Degradation of biphenyl by *Mycobacterium* sp. strain PYP-1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2002, vol. 58, no. 3, pp. 364–369. <https://doi.org/10.1007/s00253-001-0878-3>.
 22. Yoo M., Kim D., Zylstra G.J., Kang B.S., Kim E. Biphenyl hydroxylation enhanced by an engineered *o*-xylene dioxygenase from *Rhodococcus* sp. strain DK17. *Res. Microbiol.*, 2011, vol. 162, no. 7, pp. 724–728. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2011.04.013>.
 23. Kanteev M., Bregman-Cohen A., Deri B., Shahar A., Adir N., Fishman A. A crystal structure of 2-hydroxybiphenyl 3-monooxygenase with bound substrate provides insights into the enzymatic mechanism. *Biochim. Biophys. Acta, Proteins Proteomics*, 2015, vol. 1854, no. 12, pp. 1906–1913. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2015.08.002>.
 24. Suman J., Sredlova K., Fraraccio S., Jerabkova M., Strejcek M., Kabickova H., Cajthaml T., Uhlik O. Transformation of hydroxylated polychlorinated biphenyls by bacterial 2-hydroxybiphenyl 3-monooxygenase. *Chemosphere*, 2024, vol. 349, art. 140909. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140909>.
 25. Bordoloi N.K., Rai S.K., Chaudhuri M.K., Mukherjee A.K. Deep-desulfurization of dibenzothiophene and its derivatives present in diesel oil by a newly isolated bacterium *Achromobacter* sp. to reduce the environmental pollution from fossil fuel combustion. *Fuel Process. Technol.*, 2014, vol. 119, pp. 236–244. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2013.10.014>.
 26. Sun J., Zhu L., Pan L., Wei Z., Song Y., Zhang Y., Qu L., Zhan Y. Detection of methoxylated and hydroxylated polychlorinated biphenyls in sewage sludge in China with evidence for their microbial transformation. *Sci. Rep.*, 2016, vol. 6, no. 1, art. 29782. <https://doi.org/10.1038/srep29782>.
 27. Sondossi M., Sylvestre M., Ahmad D., Massé R. Metabolism of hydroxybiphenyl and chloro-hydroxybiphenyl by biphenyl/chlorobiphenyl degrading *Pseudomonas testosteroni*, strain B-356. *J. Ind. Microbiol.*, 1991, vol. 7, no. 2, pp. 77–88. <https://doi.org/10.1007/BF01576069>.
 28. Yamada T., Shimomura Y., Hiraoka Y., Kimbara K. Oxidative stress by biphenyl metabolites induces inhibition of bacterial cell separation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, vol. 73, no. 2, pp. 452–457. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0472-9>.
 29. Bhalla R., Tehrani R., Van Aken B. Toxicity of hydroxylated polychlorinated biphenyls (HO-PCBs) using the bioluminescent assay Microtox®. *Ecotoxicology*, 2016, vol. 25, no. 7, pp. 1438–1444. <https://doi.org/10.1007/s10646-016-1693-z>.
 30. Egorova D., Kyr'yanova T., Pyankova A., Anan'ina L., Plotnikova E. Selective pressure of biphenyl/polychlorinated biphenyls on the formation of aerobic bacterial associations and their biodegradative potential. *Folia Microbiol.*, 2021, vol. 66, no. 4, pp. 659–676. <https://doi.org/10.1007/s12223-021-00873-1>.
 31. Hernandez B.S., Koh S.-C., Chial M., Focht D.D. Terpene-utilizing isolates and their relevance to enhanced biotransformation of polychlorinated biphenyls in soil. *Biodegradation*, 1997, vol. 8, no. 3, pp. 153–158. <https://doi.org/10.1023/A:1008255218432>.
 32. Baggi G., Bernasconi S., Zangrossi M., Cavalca L., Andreoni V. Co-metabolism of di- and trichlorobenzoates in a 2-chlorobenzoate-degrading bacterial culture: Effect of the position and number of halo-substituents. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 2008, vol. 62, no. 1, pp. 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2007.12.002>.
 33. Baldwin B.R., Nakatsu C.H., Nies L. Detection and enumeration of aromatic oxygenase genes by multiplex and real-time PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, vol. 69, no. 6, pp. 3350–3358. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.6.3350-3358.2003>.

34. Egorova D.O., Pjankova A.A. Alpha-subunit benzoate dioxygenase gene screening in bacterial associations obtained by selection on (chlorine) aromatic compounds. *Vestn. Permsk. Univ. Ser. Biol.*, 2019, no. 4, pp. 464–470. <https://doi.org/10.17072/1994-9952-2019-4-464-470>. (In Russian)
35. Francova K., Macková M., Macek T., Sylvestre M. Ability of bacterial biphenyl dioxygenases from *Burkholderia* sp. LB400 and *Comamonas testosteroni* B-356 to catalyze oxygenation of *ortho*-hydroxychlorobiphenyls formed from PCBs by plants. *Environ. Pollut.*, 2004, vol. 127, no. 1, pp. 41–48. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(03\)00257-4](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(03)00257-4).
36. van Duuren J.B.J.H., Wijte D., Leprince A., Karge B., Puchalka J., Wery J., Martins dos Santos V.A.P., Eggink G., Mars A.E. Generation of a *catR* deficient mutant of *P. putida* KT2440 that produces *cis,cis*-muconate from benzoate at high rate and yield. *J. Biotechnol.*, 2011, vol. 156, no. 3, pp. 163–172. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.08.030>.
37. Kahlon R.S. (Ed.) *Pseudomonas: Molecular and Applied Biology*. Springer Int. Publ., 2016. 519 p. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-31198-2>.

Для цитирования: Кирьянова Т.Д., Егорова Д.О. Особенности разложения моногидроксибифенилов аэробными штаммами, изолированными из бактериальных ассоциаций–деструкторов ароматических поллютантов // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 3. С. 459–475. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.3.459-475>.

For citation: Kir'yanova T.D., Egorova D.O. Degradation of mono-hydroxybiphenyls by aerobic strains isolated from the bacterial associations breaking down aromatic pollutants. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 3, pp. 459–475. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.3.459-475>. (In Russian)