

The factors of adverse impact of rail transport on the environment include emissions of harmful substances into the atmosphere, soil contamination, etc. In the construction and operation of railways, the properties and structure of the soil change, this leads to a disruption of the existing equilibrium of the natural environment in the right-of-way. In addition, the soil is constantly exposed to pollution with various substances, which leads to the fact that their content is significantly higher than the corresponding maximum permissible concentration.

The aim is to study the effect of rail transport on the content of zinc (II) ions in the soils of the Vitebsk region's diversion zone.

The determination of zinc (II) ions was carried out by the titrimetric method on the basis of the formation of metal ion complexes with aminopolycarboxylic acids. The content of zinc ions (II) in the selected 10 places exceeds the value of the maximum permissible concentration.

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ
АНАЛИЗ ДЕТЕРМИНАНТ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ ДЕГРАДАЦИЮ
ШИРОКОГО СПЕКТРА УГЛЕВОДОРОДОВ НЕФТИ БАКТЕРИЯМИ
*RHODOCOCUS PYRIDINIVORANS***

Охремчук А.Э., Чернявская М.И.

*Белорусский государственный университет, Минск, пр-т Независимости,
4, 220030, Республика Беларусь,
okhrem4ukartur@yandex.by*

На данный момент проблема загрязнения почв и водоемов нефтью, продуктами ее переработки, а также отдельными углеводородами стоит достаточно остро. Например, для поликонденсированных ароматических соединений показана выраженная канцерогенная активность, а присутствие парафинов даже в низких концентрациях значительно ухудшает плодородные свойства почв. Одним из наиболее эффективных и безопасных методов биоремедиации является микробная деструкция.

Представители филогенетической актиномицетной ветви значительно преуспели в способности утилизировать различные сложные вещества, поэтому часто оказываются доминирующей группой на поздних стадиях почвенной сукцессии. Бактерии рода *Rhodococcus* известны как эффективные деструкторы углеводородов, эта способность обеспечивается высокой устойчивостью к абиотическим факторам среды и наличием соответствующих ферментных систем. При этом очень важную роль играют оксигеназные компоненты катаболических путей тех или иных гидрофобных соединений. На начальных этапах имеет место введение полярных группировок в молекулу ксенобиотика, что в значительной степени повышает ее растворимость в воде, а значит биодоступность.

Как известно, гены биodeградации часто локализованы в составе мобильных генетических элементов (e.g. плазмид, транспозонов), что, в свою очередь, обеспечивает взаимный обмен генетическими детерминантами между репликонами посредством транспозиции и

гомологичной рекомбинации и внутри- и межвидовой горизонтальный перенос. В этом плане особый интерес представляют крупные конъюгативные плазмиды биodeградации.

Целью работы являлся молекулярно-генетический и функциональный анализ генов, кодирующих ферменты деградации ароматических (*nar*) и алифатических углеводов нефти (*alkB*), у бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap.

Материалы и методы. Объектами исследования служили бактерии *R. pyridinivorans* 5Ap (БИМ В-986 Г), производные штаммы *R. pyridinivorans* 5Ap *alkB*⁻ (путем направленного инсерционного мутагенеза инактивирован ген, кодирующий алкан-1-монооксигеназу), *R. pyridinivorans* 5Ap *narAa*⁻ (путем направленного инсерционного мутагенеза инактивирован ген, кодирующий большую субъединицу нафталин-1,2-диоксигеназы), *R. pyridinivorans* 5Ap-6 (бесплазмидный дериват – в результате длительного культивирования в неселективных условиях утратил плазмиду биodeградации нафталина).

Для культивирования использовали минеральную среду М9. В качестве источников углерода использовали хлороформенные растворы антрацена, пирена, бифенила, флуорена, пары толуола, о-, м-, п-ксилола, бензола, этилбензола, нафталина, гексадекана, дизельного топлива, керосина, гексана, нонана, 2,2,4,4,6,8,8-гептаметилнонана.

Результаты исследований. Бактерии исследуемого штамма *R. pyridinivorans* 5Ap способны утилизировать широкий спектр парафиновых и ароматических углеводов (указаны в разделе Материалы и методы).

В ходе настоящего исследования установлено, что продукт плазмидного гена *narAa* (большая субъединица нафталин-1,2-диоксигеназного комплекса) способен осуществлять НАДН-зависимую оксигеназную реакцию с достаточно широким спектром ароматических субстратов (толуол, м-ксилол, нафталин, антрацен, пирен, бифенил, фенантрен). Об этом свидетельствует значительное ухудшение роста (вплоть до полного отсутствия роста) дефектных по этому гену *narAa*⁻ вариантов, а также бесплазмидных бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap-6 на соответствующих углеводородах. Слабый рост на некоторых субстратах может обеспечиваться ферментативной активностью оксигеназ, кодируемых генами, локализованными в хромосоме (например, катехол-1,2-диоксигеназа, катехол-2,3-диоксигеназа, 2,3-дигидроксибифенил-1,2-диоксигеназа) или на других плазмидных репликациях (например, дибензофурандиоксигеназа).

Инактивация гена, кодирующего алкан-1-монооксигеназу (вариант *alkB*⁻), в значительной степени сказывается на способности катаболизировать линейные углеводороды различной длины (керосин, дизельное топливо, гексан, гексадекан). Следует отметить, что рост