

## СПОСОБНОСТЬ БАКТЕРИЙ РОДА *AZOSPIRILLUM* К ДЕКОЛОРИЗАЦИИ СИНТЕТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ

© 2020 г. М. А. Купряшина<sup>а</sup>, \*, Е. Г. Пономарева<sup>а</sup>, В. Е. Никитина<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов  
Российской академии наук, Саратов, 410049 Россия

\*e-mail: kupryashina\_m@mail.ru

Поступила в редакцию 23.01.2020 г.

После доработки 11.03.2020 г.

Принята к публикации 13.03.2020 г.

Получены приоритетные данные о способности бактерий рода *Azospirillum* к обесцвечиванию синтетических красителей. В результате скрининга бактерий выявлен штамм *A. brasilense* SR80 с наиболее высокой эффективностью деколоризации. В отношении ремазола ярко-голубого максимальный процент обесцвечивания составил 50%, малахитового зеленого более 90%. Установлены условия культивирования бактерий, влияющие на эффективность деструкции изучаемых красителей.

**Ключевые слова:** *Azospirillum*, деколоризация, малахитовый зеленый, ремазол ярко-голубой

**DOI:** 10.31857/S0026365620040084

Современными темпами индустриализации обусловлены ежегодно растущие объемы производства синтетических красителей, которые находят свое применение в текстильной, косметической, полиграфической, фармацевтической и пищевой промышленности (Liu et al., 2004; Jamee, Siddique, 2019). Вследствие недостаточной эффективности процессов окраски, большой процент красителей попадает в сточные воды предприятий в неизменном виде, что является причиной активного загрязнения окружающей среды данными соединениями (Pearce et al., 2003; Mourid et al., 2017). К сожалению, обычные физико-химические методы обработки промышленных стоков, включающие сорбцию, химическую флокуляцию, фильтрацию или коагуляцию, малоэффективны (Forgacs et al., 2004; Jadhav et al., 2010). В целях минимизации экологических рисков в последние годы активно ведется поиск и разработка новых методов биоредукции синтетических красителей (Rai et al., 2005; Jadhav et al., 2010). Биодеколоризация осуществляется либо путем адсорбции на микробной биомассе, либо ферментативной деструкцией (Forgacs et al., 2004; Agarry et al., 2011; Asgher et al., 2014). До 60% от производимых красителей это азокрасители, в связи с этим наибольший пласт работ, посвящен изучению деколоризации именно этой группы (Guo et al., 2014). Исследований по биодеградации трифенилметановых и антрахиноновых красителей значительно меньше, однако они представляют серьезную опасность для окружающей

среды и здоровья человека, так как многие из них обладают канцерогенными, мутагенными и даже тератогенными свойствами (Bhatt et al., 2000; Srivastava et al., 2004; Shedbalkar et al., 2011; Gopinathan et al., 2015).

В последнее десятилетие появились факты и доказательства участия ферментов фенолоксидазного комплекса грибов и бактерий в деградации красителей (Kariminiaae-Namedaani et al., 2007; Lewañczuk et al., 2015; Munir et al., 2015; Shaheen et al., 2017). Учитывая обнаруженную ранее способность почвенных ассоциативных микроорганизмов рода *Azospirillum* к продукции фенолоксилирующих ферментов (Никитина и соавт., 2010; Купряшина и соавт., 2012; Петров и соавт., 2014), была предпринята данная работа.

Целью настоящей работы явилось исследование способности бактерий рода *Azospirillum* к деколоризации малахитового зеленого и ремазола ярко-голубого.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Организмы и условия их культивирования.** В работе использовали штаммы бактерий рода *Azospirillum*: *A. brasilense* Sp245, Sp107, Sp7, SR80, *A. lipoferum* Sp59b и *A. thiophilum* Vv-S из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН (<http://collection.ibppm.ru>). Культивирование бактерий проводили в колбах Эрленмейера (250 мл) на жидкой малатно-солевой среде следующего состава (г/л):  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0.1;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0.4; NaCl –

0.1;  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0.002,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0.2;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0.02; яблочная кислота – 5.0;  $\text{NaOH}$  – 1.7;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  – 1.0;  $\text{CaCl}_2$  – 0.02; pH 6.8. Среду стерилизовали в течение 30 мин при 121°C. Посевным материалом служила 12-часовая культура, выращенная на среде того же состава. Бактерии для исследования культивировали в термостате при температуре 30°C.

В условиях эксперимента культивирование проводилось при внесении красителей в конечной концентрации 1, 0.1, 0.05 и 0.01 мМ.

**Определение эффективности деградации красителей.** Способность азоспирилл к деколоризации исследовали в отношении малахитового зеленого (“Вектон”, Россия) и ремазола ярко-голубого (“Sigma-Aldrich”, США). Бактериальную культуру осаждали центрифугированием, а супернатант использовали для анализа.

Степень обесцвечивания анализировали спектрофотометрически на приборе Specord 250 (“Analytik Jena, Германия”) при длине волны 600 и 595 нм для малахитового зеленого и ремазола ярко-голубого соответственно. Степень разрушения красителя выражали в процентах и рассчитывали по формуле:

$$\% \text{ деградации} = 100 \times \frac{A_{\text{нач}} - A_{\text{кон}}}{A_{\text{нач}}},$$

где  $A_{\text{нач}}$  – начальное поглощение,  $A_{\text{кон}}$  – конечное поглощение красителя после культивирования (Nidadavolu et al., 2013; Joshi and Mhatre, 2015).

**Статистическая обработка результатов.** Все эксперименты проводились минимум в трех повторностях в трех независимых экспериментах. При оценке полученных результатов пользовались методом расчета стандартного отклонения среднего арифметического с использованием программы Microsoft Office Excel 2010; данные имеют соответствующие доверительные интервалы при уровне доверительной вероятности 0.95.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

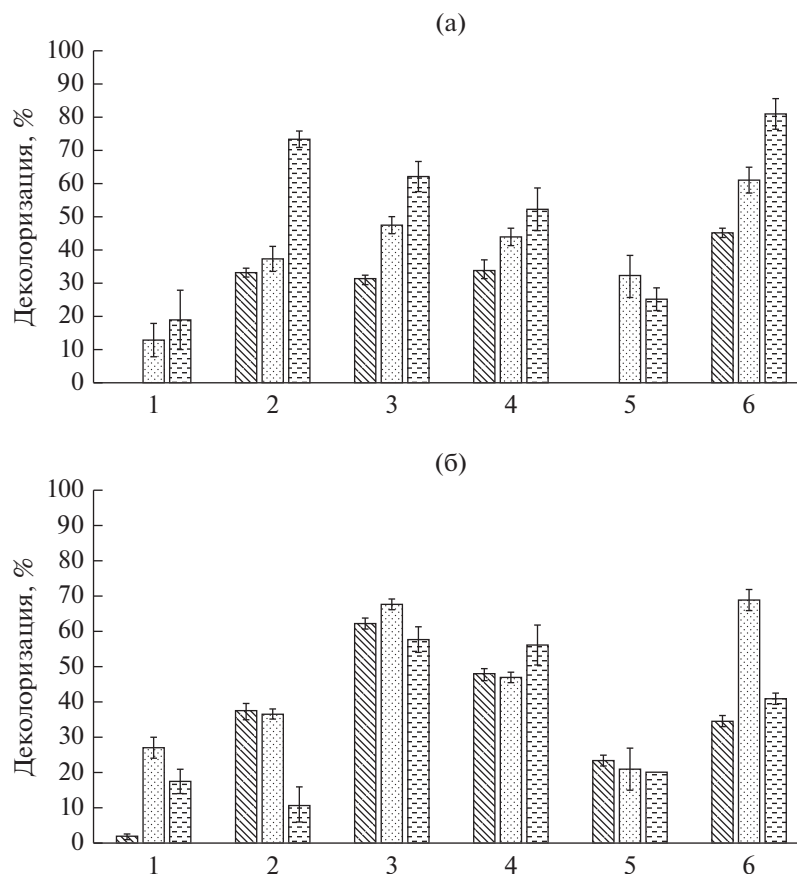
**Исследование способности бактерий рода *Azospirillum* к деколоризации синтетических красителей.** В эксперимент были взяты 7 штаммов бактерий рода *Azospirillum*: *A. brasilense* Sp245, Sp107, Sp7, SR80, *A. lipoferum* Sp59b и *A. thiophilum* Bv-S, с высоким уровнем продукции фенолоксиляющих ферментов (Купряшина и соавт., 2015). Культивирование бактерий проводилось в присутствии в среде ремазола ярко-голубого и малахитового зеленого в конечной концентрации 1, 0.1, 0.05 и 0.01 мМ. В водном растворе малахитовый зеленый обесцвечивается при pH 11.6–13.6 из-за присоединения гидроксила с образованием трифенилкарбинола (Теренин, 2013). Для того чтобы исключить влияние pH среды на обесцвечивание красителя на всех этапах исследования проводи-

лось измерение pH опытных растворов, и их диапазон pH составил от 6.8 до 8.

Все взятые в эксперимент штаммы оказались способны в той или иной степени деколоризировать модельные соединения красителей (рис. 1, 2). Однако внесение красителей в среду культивирования в конечной концентрации 1 мМ оказывало ингибирующее действие на рост всех исследуемых штаммов. Малахитовый зеленый уже в концентрации 0.1 мМ снижал рост и развитие бактерий, что обусловлено токсическим действием данного соединения. Известно, что реакционно-способные группы сульфоновой кислоты ( $\text{SO}_3\text{H}$ ) на ароматических кольцах синтетических красителей значительно ингибируют рост микроорганизмов (Gopinathan et al., 2010). Как видно из рис. 1, штаммы *A. brasilense* Sp245, Sp107, Sp7, SR80 оказались способны к обесцвечиванию малахитового зеленого в концентрации от 0.01 до 0.1 мМ. При этом отмечалось снижение эффективности деколоризации красителя с увеличением концентрации вносимого вещества, что объясняется либо возрастанием концентрации красящего вещества по отношению к обесцвечивающим агентам, либо блокированием активных центров окислительных ферментов, участвующих в деструкции молекулы красителя (Jadhav et al., 2008; Saratale et al., 2009). Для *A. thiophilum* Bv-S, *A. lipoferum* 59b установлено снижение роста при культивировании в присутствии малахитового зеленого даже в концентрации 0.01 мМ, поэтому данные штаммы обесцвечивали краситель не выше 30%. Максимальная степень деградации малахитового зеленого отмечалась для штамма *A. brasilense* SR80, и составила 80% (рис. 1а).

Наиболее эффективное обесцвечивание ремазола ярко-голубого осуществлялось в концентрациях 0.1 и 0.05 мМ (рис. 2). Для большинства штаммов деколоризация красителя в концентрации 0.05 мМ была максимальна. Наибольшая способность к обесцвечиванию ремазола ярко-голубого отмечалась для штаммов *A. brasilense* Sp7 и SR80, превышающая 65%. Минимальная потеря цвета красителя в данной концентрации наблюдалась у *A. lipoferum* 59b, не превышающая 21%. Штаммы *A. brasilense* Sp107 и Sp245 обесцвечивали ремазол примерно в равной степени, причем независимо от концентрации. По-видимому, присутствие красителя в среде выращивания в концентрации от 0.1 и 0.05 мМ не оказывало угнетающего воздействия на рост бактерий. Возможно, это можно объяснить тем, что данные концентрации являлись менее токсичными для бактерии и не вызывали активации механизмов резистентности.

Образцы, содержащие 0.05 мМ ремазол ярко-голубой и 0.01 мМ малахитовый зеленый, после 48 ч культивирования со штаммами *A. brasilense* Sp245 и SR80 были проанализированы методом



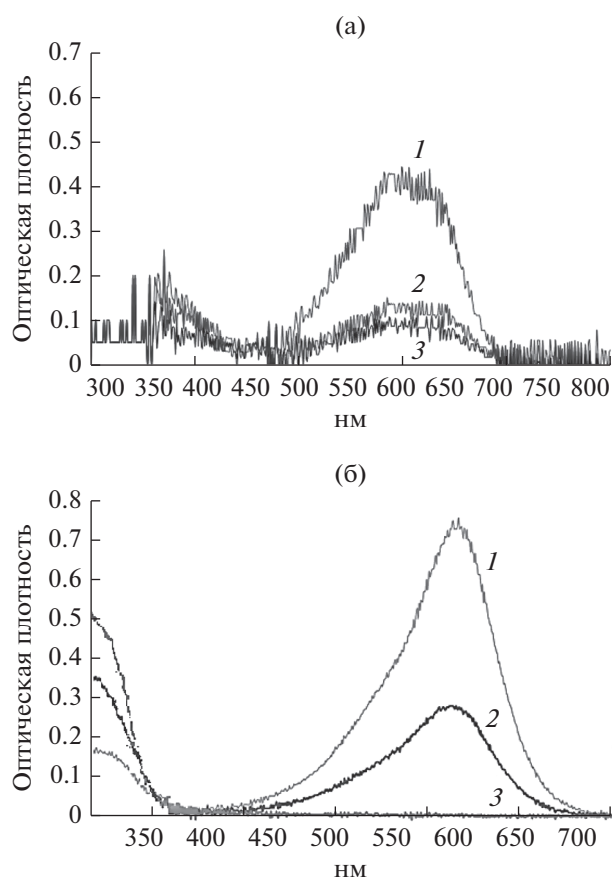
**Рис. 1.** Деколоризация малахитового зеленого (а) и ремазола ярко-голубого (б) (▨ – 0.1 мМ; ▤ – 0.05 мМ; ▥ – 0.01 мМ) азоспириллами: 1 – *A. thiophilum*; 2 – *A. brasilense* Sp107; 3 – *A. brasilense* Sp7; 4 – *A. brasilense* Sp245; 5 – *A. li-poferum* Sp59b; 6 – *A. brasilense* SR80.

УФ-видимой спектроскопии на приборе Specord 250 (“Analytik Jena”, Германия) в диапазоне длин волн от 200 до 1000 нм. Было детектировано снижение основного максимума поглощения ремазола ярко-голубого (рис. 3), однако полученные данные выявили, что обесцвечивание красителя вероятнее всего не связано с деструкцией молекулы красителя, а скорее опосредовано адсорбцией ремазола микробными клетками. В случае адсорбции пики поглощения ультрафиолетового и видимого излучения уменьшаются примерно пропорционально друг другу. Однако по данным литературы при биодegradации красителя основной пик в видимой области поглощения полностью исчезает, и появляется новый пик в ультрафиолетовой области (Asad et al., 2007). Стоит отметить, УФ-видимая спектроскопия образцов, содержащих 0.01 мМ малахитовый зеленый, до и после культивирования в присутствии азоспирилл показала снижение основного максимума поглощения красителя при 550–650 нм, при этом другие пики в видимом диапазоне не появлялись, но возникали в УФ области при 220–260 нм (рис. 4). Эта

абсорбция, скорее всего, объясняется образованием метаболитов деструкции молекулы красителя.

**Влияние состава среды и условий культивирования азоспирилл на обесцвечивание малахитового зеленого и ремазола ярко-голубого.** Была показана эффективность лигнинолитических ферментов грибов в биодegradации малахитового зеленого и ремазола ярко-голубого (Palmieri et al., 2005; Shedbalkar et al., 2011; Sumandono et al., 2015). Предполагается, что в энзимологии бактериальной дegradации синтетических красителей ведущую роль играют ферменты, аналогичные грибным лигнинолитикам (Kalyani et al., 2008, 2012; Du et al., 2011). Известно, что состав среды и условия культивирования оказывают большое влияние на метаболизм микроорганизмов и, соответственно, на активность ферментов (Pollegioni et al., 2015).

Нами оценено влияние на процесс деколоризации красителей таких параметров, как время и температура культивирования. В условиях эксперимента культивирование проводилось в течение 2–10 сут при внесении красителей в конечной концентрации 0.05 мМ (ремазол ярко-голубой) и



**Рис. 2.** УФ-видимые спектры образцов, содержащих ремазол ярко-голубой (а) и малахитовый зеленый (б) до и после культивирования в присутствии азоспирилл: 1 – краситель; 2 – *A. brasilense* Sp245; 3 – *A. brasilense* SR80.

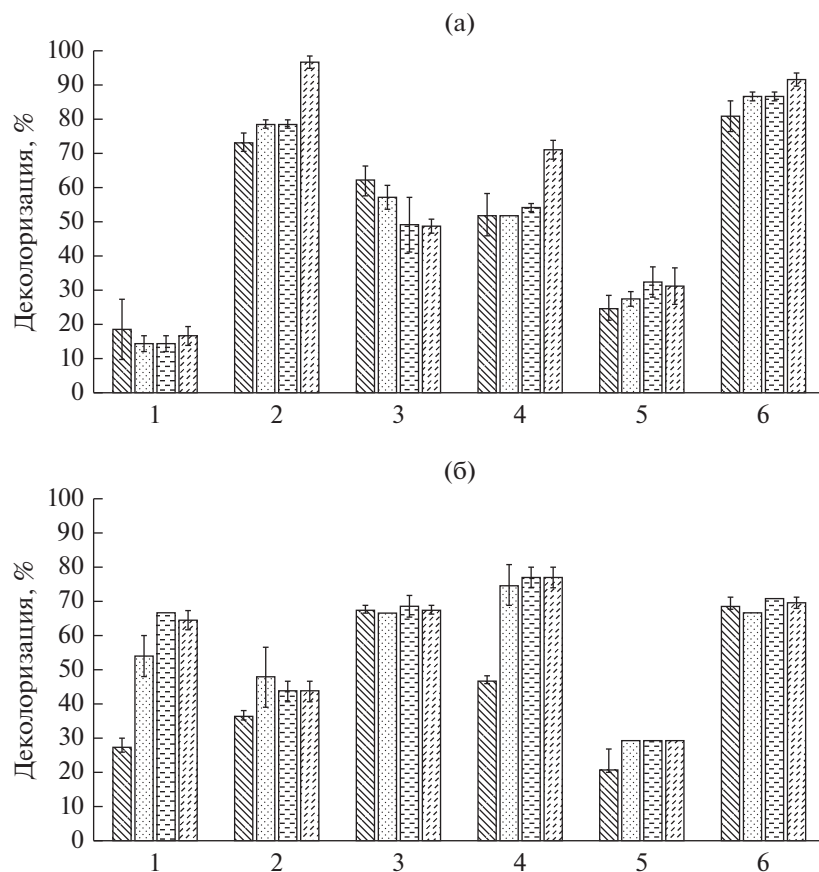
0.01 мМ (малахитовый зеленый), в температурном диапазоне от 25 до 45°C с шагом в 5°C. Степень обесцвечивания оценивали как описано ранее.

Для всех взятых в эксперимент штаммов было характерно увеличение уровня деколоризации красителей с течением времени (рис. 3). Обесцвечивание малахитового зеленого началось уже через 18 ч культивирования штаммов *A. brasilense* Sp245, Sp107, Sp7, SR80. На 8 сут выращивания штаммы *A. brasilense* Sp107 и *A. brasilense* SR 80 обесцвечивали среду на 90%, в то время как для *A. thiophilum* Vv-S и *A. lipoferum* 59b и через 8 сут культивирования обесцвечивание составило всего 30%. При изучении влияния времени культивирования на деколоризацию ремазола было установлено, что максимум обесцвечивания у большинства штаммов наблюдался на 6 сут, среди них самые высокие показатели, более 77%, отмечены у *A. brasilense* Sp245 и SR80. Минимальную эффективность в обесцвечивании ремазола показал штамм *A. lipoferum* Sp59b, достигнувший

своего максимума в 30% на 4 сут культивирования.

Нами обнаружено статистически значимое влияние температуры культивирования на эффективность биодеколоризации синтетических красителей азоспириллами (диапазон от 20–50°C с шагом в 5°C). Максимальный процент деградации малахитового зеленого от 50 до 80% (для разных штаммов) отмечался при культивировании при 30–35°C. Стоит отметить, что в эксперимент были взяты эндофитные и эпифитные представители рода, т.к. мы предполагали, что их физиологическая активность будет различаться: обычно энзиматические системы эпифитов более толерантны к изменению температур. Однако, как представители эпифитов, так и эндофитов по-разному реагировали на изменение температуры. Обнаружено, что исследуемые штаммы обесцвечивали ремазол ярко-голубой, также как и малахитовый зеленый, наиболее эффективно при температуре 35°C. При повышении температуры культивирования деградация обоих красителей снижалась. Культивирование бактерий при 20°C, также приводило к снижению биодеградации, что связано с угнетением метаболической активности азоспирилл при температурах ниже оптимальных для активного наращивания биомассы. Полученные результаты согласуются с данными, представленными в литературе для других микроорганизмов. Так, рядом исследователей отмечается возрастание скорости обесцвечивания синтетических красителей при приближении температуры культивирования к оптимальной для роста бактерий с последующим понижением активности обесцвечивания при дальнейшем повышении температуры. Предполагается, что подобный эффект может быть связан либо с потерей жизнеспособности клетками микроорганизмов, либо с денатурацией окисляющих краситель ферментов (Chang et al., 2001; Saratale et al., 2009).

Известно, что для ферментов фенолоксидазного комплекса, как бактерий, так и грибов, характерно увеличение активности ферментов при культивировании на бедной по азоту и углероду среде, при этом присутствие в среде культивирования сложных органических соединений, например, дрожжевого экстракта, несмотря на увеличение биомассы, существенно снижает активность фенолоксидаз (Ахмедова, 1996; Ахаммед, Према, 2002). На следующем этапе работы, мы исследовали влияние источников азота и углерода в среде культивирования на эффективность обесцвечивания азоспириллами малахитового зеленого и ремазола ярко-голубого. В качестве объектов были выбраны штаммы *A. brasilense* SR80, проявляющий наибольший деструктивный потенциал в отношении красителей, и *A. brasilense* Sp245, как типичный представитель рода. В условиях эксперимента культивирование бактерий проводилось



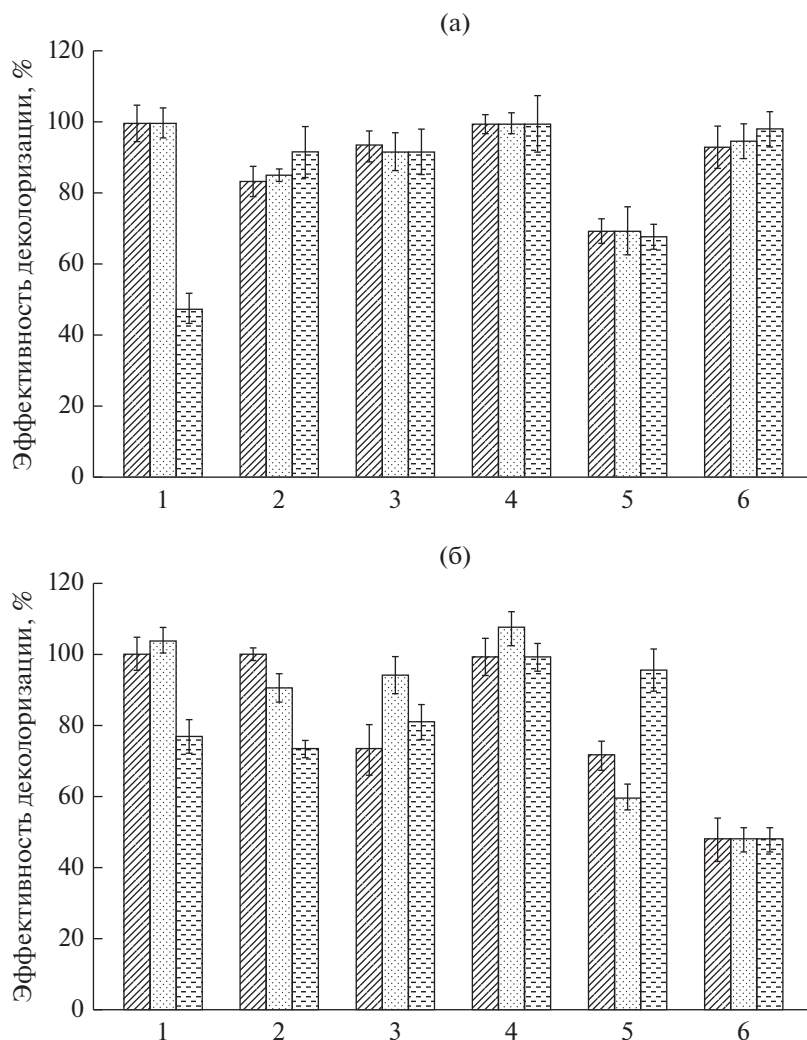
**Рис. 3.** Зависимости деколоризации малахитового зеленого (а) и ремазола ярко-голубого (б) от времени культивирования (▨ – 24 ч; ▩ – 48 ч; ▧ – 144 ч; ▦ – 192 ч) азоспирилл: 1 – *A. thiophilum*; 2 – *A. brasilense* Sp107; 3 – *A. brasilense* Sp7; 4 – *A. brasilense* Sp245; 5 – *A. lipoferum* Sp59b; 6 – *A. brasilense* SR80.

при внесении малахитового зеленого и ремазола ярко-голубого в конечной концентрации 0.01 и 0.05 мМ соответственно. В качестве источников углерода в среду культивирования вносили малат натрия, глюкозу или фруктозу в концентрации 5, 10, 25 г/л, а в качестве источников азота – хлорид аммония, нитрат калия и дрожжевой экстракт в концентрации 1, 2, 5 г/л. Изменение эффективности биodeградации выражали в процентах от контроля (биodeградация при выращивании на стандартной малатно-солевой среде) (рис. 4).

Эффективность биodeградации малахитового зеленого *A. brasilense* SR80 снижалась при использовании в качестве источника углерода глюкозы примерно на 20% и фруктозы на 10%, при этом концентрация сахаров не оказывала влияния на процесс обесцвечивания. На среде с малатом натрия деградирующий потенциал бактерии был максимальным, но в тоже время увеличение концентрации до 15 г/л приводило к снижению эффективности биodeградации малахитового зеленого в два раза. Для штамма *A. brasilense* Sp245 отмечалось снижение эффективности деколоризации красителя

при внесении в среду культивирования дрожжевого экстракта. Ранее нами было показано, что выращивание *A. brasilense* Sp245 на среде с дрожжевым экстрактом приводит к снижению активности ферментов фенолоксидазного комплекса (Купряшина и соавт., 2012). Также уменьшение степени обесцвечивания малахитового зеленого вызывало присутствие нитрата калия, что интересно, так как нитрат калия является специфическим ингибитором активности фенолоксидаз, в частности, лакказ *Aureobasidium pullulans* (Hui, Khachatourians, 1995). Однако качественное и количественное изменение источников азота и углерода в составе среды выращивания не оказывало значимых эффектов на обесцвечивание ремазола ярко-голубого.

**Анализ эффективности обесцвечивания синтетических красителей бесклеточными экстрактами.** Основываясь на нашем предположении об участии фенолоксидаз в деколоризации синтетических красителей, мы решили проанализировать способность бесклеточных экстрактов *A. brasilense* Sp245, Sp107, Sp7, SR80, *A. lipoferum* Sp59b и



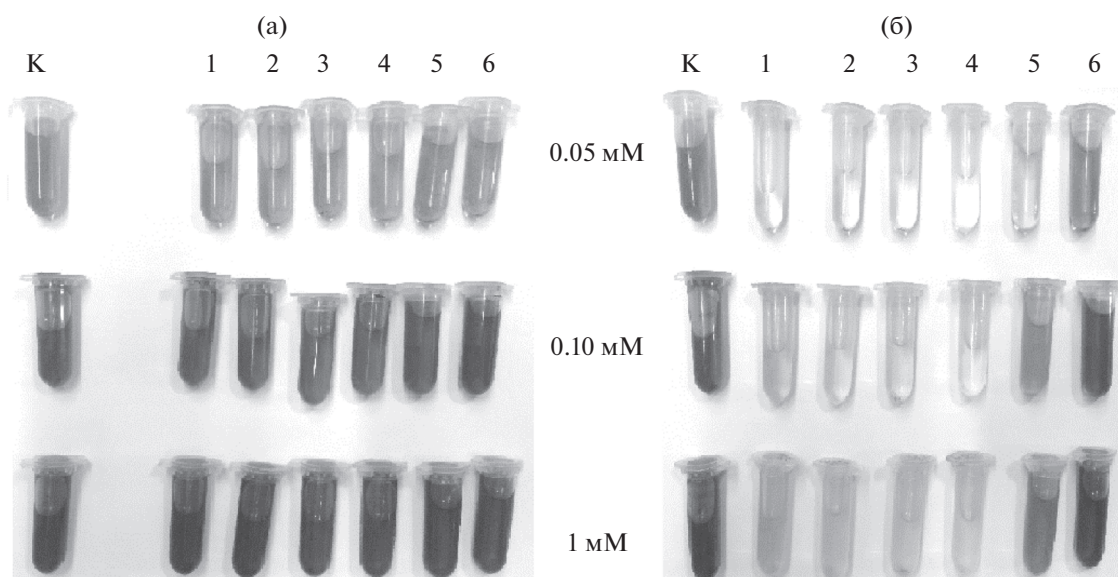
**Рис. 4.** Влияние источников азота и углерода на эффективность биодеградации малахитового зеленого штаммом *A. brasilense* SR80 (а) и *A. brasilense* Sp245 (б): 1 – малат натрия; 2 – глюкоза; 3 – фруктоза; 4 – хлорид аммония; 5 – нитрат калия; 6 – дрожжевой экстракт.

*A. thiophilum* Bv-S к обесцвечиванию малахитового зеленого и ремазола ярко-голубого. Бактерии выращивали на малатно-солевой среде в течение 48 ч, далее клетки осаждали центрифугированием, а в супернатант вносили красители в конечной концентрации 1, 0.1, 0.05 мМ. Эффективность деколоризации оценивали спектрофотометрически (как описано ранее).

Эффективность обесцвечивания ремазола ярко-голубого бесклеточными экстрактами всех взятых в эксперимент штаммов была низкой и не превышала порог в 5% даже с увеличением времени инкубации. Однако для малахитового зеленого мы отмечали иную тенденцию. Уже спустя 1 ч инкубации, степень обесцвечивания малахитового зеленого составляла 80% для штаммов *A. brasilense* Sp245, Sp107, Sp7 и SR80. Увеличив концентрацию красителя до 1 мМ, мы обнаружили, что малахито-

вый зеленый через 5 ч инкубации обесцвечивается полностью (рис. 5). Отметим, что данная концентрация была токсичной для бактерии, и при выращивании азоспирилл в присутствии 1 мМ малахитового зеленого в среде культивирования степень его деградации составила 0%.

Таким образом, на примере нескольких штаммов обнаружена способность азоспирилл к обесцвечиванию ремазола ярко-голубого и малахитового зеленого. В ходе проведенного скрининга выявлен штамм *A. brasilense* SR80 с высокой эффективностью деколоризации исследуемых красителей. Максимальный процент обесцвечивания ремазола ярко-голубого составил около 50%, малахитового зеленого более 90%. Установлено, что присутствие высоких концентраций красителей в среде культивирования вызывает угнетение роста микроорганизмов. Однако способность не-



**Рис. 5.** Деградация малахитового зеленого через 5 мин (а) и 5 ч (б) инкубации с бесклеточными экстрактами: 1 – *A. brasilense* Sp7; 2 – *A. brasilense* Sp 245; 3 – *A. brasilense* Sp107; 4 – *A. brasilense* SR80; 5 – *A. lipoferum* 59b; 6 – *A. tiophilum*; К – контроль (краситель в среде культивирования).

которых штаммов переносить повышенные концентрации красителей делает их использование перспективным в биоремедиации. Изучено влияние условий культивирования бактерий на эффективность обесцвечивания. Установлена деколоризация высоких концентраций малахитового зеленого (1 мМ) с использованием бесклеточных экстрактов азоспирилл. Вероятнее всего, обесцвечивание азоспириллами среды, содержащей ремазол ярко-голубой, идет за счет сорбции красителя бактериальными клетками. Косвенно данный факт, наряду с данными УФ-видимой спектроскопии, подтверждает отсутствие обесцвечивания растворов красителя бесклеточными экстрактами азоспирилл, обладающими Мп-пероксидазной, лакказной и лигнин-пероксидазной активностями (Купряшина и соавт., 2015). Полученные результаты являются значимыми как в фундаментальном, так и прикладном аспектах и могут быть использованы при разработке новых технологий для минимизации экологических рисков от загрязнений синтетическими красителями.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-316-00008 мол\_а.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ахмедова З.Р. Лигнинолитические ферменты базидиальных грибов. Лигнин-пероксидазы гриба *Pleurotus ostreatus* УзБИ–ZAX 108. I. Оптимизация ферментообразования и получение препаратов лигниназ // Биохимия. 1996. Т. 61. С. 1375–1384.
- Купряшина М.А., Петров С.В., Пономарева Е.Г., Никитина В.Е. Лигнинолитическая активность бактерий родов *Azospirillum* and *Niveispirillum* // Микробиология. 2015. Т. 84. С. 691–696.
- Купряшина М.А., Петров С.В., Пономарева Е.Г., Никитина В.Е. Ligninolytic activity of bacteria of the genera *Azospirillum* and *Niveispirillum* // Microbiology (Moscow). 2015. V. 84. P. 791–795.
- Купряшина М.А., Селиванов Н.Ю., Никитина В.Е. Выделение и очистка Мп-пероксидазы *Azospirillum brasilense* Sp245 // Прикл. биохимия и микробиология. 2012. Т. 48. С. 23–26.
- Купряшина М.А., Селиванов Н.Ю., Никитина В.Е. Isolation and purification of Mn-peroxidase from *Azospirillum brasilense* Sp245 // Appl. Biochem. Microbiol. 2012. V. 48. P. 17–20.
- Никитина В.Е., Ветчинкина Е.П., Пономарева Е.Г., Гоголева Ю.В. Фенолоксидазная активность бактерий рода *Azospirillum* // Микробиология. 2010. Т. 79. С. 344–351.
- Никитина В.Е., Ветчинкина Е.П., Пономарева Е.Г., Гоголева Ю.В. Phenol oxidase activity in bacteria of the genus *Azospirillum* // Microbiology (Moscow). 2010. V. 79. P. 327–333.

- Петров С.В., Купряшина М.А., Глинская Е.В., Никутина В.Е. Лигнин-пероксидаза фенолоксидазного комплекса ассоциативных бактерий *Azospirillum brasilense* // Вестн. Оренбургского гос. ун-та. 2014. № 13(174). С. 88–91.
- Теренин А.Н. Фотохимия красителей и родственных органических соединений. М.: Рипол Классик, 2013. 364 с.
- Agarry S.E., Ayobami O. Evaluation of microbial systems for biotreatment of textile waste effluents in Nigeria: biodecolorization and biodegradation of textile dye // J. Appl. Sci. Environ. Manag. 2011. V. 15. P. 79–86.
- Ahmed S., Prema P. Influence of media nutrients on synthesis of lignin peroxidase from *Aspergillus* sp. // Appl. Biochem. Biotechnol. 2002. V. 102–103. P. 327–336.
- Asad S., Amoozegar M.A., Pourbabaee A.A., Sarbolouki M.N., Dastgheib S.M. Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria // Bioresour. Technol. 2007. V. 98. P. 2082–2088.
- Asgher M., Yasmeen Q., Iqbal H.M.N. Development of novel enzymatic bioremediation process for textile industry effluents through response surface methodology // Ecol. Eng. 2014. V. 63. P. 1–11.
- Bhatt M., Patel M., Rawal B., Novotny C., Molitoris H., Sasek V. Biological decolorization of the synthetic dye RBBR in contaminated soil // World J. Microbiol. Biotechnol. 2000. V. 16. P. 195–198.
- Chang J.S., Chou Y.P., Chen S.Y. Decolorization of azo dyes with immobilized *Pseudomonas luteola* // Process Biochem. 2001. V. 36. P. 757–763.
- Du L., Wang S., Li G., Wang B., Jia X.M., Zhao Y.H., Chen Y.L. Biodegradation of malachite green by *Pseudomonas* sp. strain DY1 under aerobic condition: characteristics, degradation products, enzyme analysis and phytotoxicity // Chen. Ecotoxicol. 2011. V. 20. P. 438–446.
- Forgacs E., Cserhati T., Oros G. Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review // Environ. Int. 2004. V. 30. P. 953–971.
- Gopinathan R., Kanhere J., Banerjee J. Effect of malachite green toxicity on non target soil organisms // Chemosphere. 2015. V. 120. P. 637–644.
- Guo M., Jia R., Yang X. Decolorization of the azo dye acid red 18 by crude manganese peroxidase: Effect of system parameters and kinetic study // Biocatal. Biotransform. 2014. V. 32. P. 276–284.
- Hui Y.H., Khachatourians G.G. Food Biotechnology: Microorganisms. N.Y.: Wiley-VCH, 1995. 596 p.
- Jadhav J.P., Kalyani D.C., Telke A.A., Phugare S.S., Govindwar S.P. Evaluation of the efficacy of a bacterial consortium for the removal of color, reduction of heavy metals, and toxicity from textile dye effluent // Bioresour. Technol. 2010. V. 101. P. 165–173.
- Jamee R., Siddique R. Biodegradation of synthetic dyes of textile effluent by microorganisms: an environmentally and economically sustainable approach // Eur. J. Microbiol. Immunol. 2019. V. 9. P. 114–118.
- Joshi P.A., Mhatre K.J. Microbial efficiency to degrade carbol fuchsin and malachite green dyes // Adv. Appl. Sci. Res. 2015. V. 6. P. 85–88.
- Kalyani D.C., Telke A.A., Dhanve R.S., Jadhav J.P. Ecofriendly biodegradation and detoxification of reactive red 2 textile dye by newly isolated *Pseudomonas* sp. SUK1 // J. Hazard. Mater. 2008. V. 163. P. 735–742.
- Kalyani D.C., Telke A.A., Surwase S.N., Jadhav S.B., Lee J.-K., Jadhav J.P. Effectual decolorization and detoxification of triphenylmethane dye malachite green (MG) by *Pseudomonas aeruginosa* NCIM 2074 and its enzyme system // Clean. Techn. Environ. Policy. 2012. V. 14. P. 989–1001.
- Karimniae-Hamedani H., Sakurai A., Sakakibara M. Decolorization of synthetic dyes by a new manganese peroxidase-producing white rot fungus // Dyes and Pigments. 2007. V. 72. P. 157–162.
- Lewañczuk M., Bryjak J. Continuous decolorization of acid blue 62 solution in an enzyme membrane reactor // Appl. Biochem. Biotechnol. 2015. V. 177. P. 237–252.
- Liu W., Chao Y., Yang X., Bao H., Qian S. Biodecolorization of azo, anthraquinonic and triphenylmethane dyes by white-rot fungi and a laccase-secreting engineered strain // Ind. Microbiol. Biotechnol. 2004. V. 31. P. 127–132.
- Mourid E., Lakraimi M., Khattabi E. El., Benaziz L., Beraho M. Removal of remazol brilliant blue R from aqueous solution by adsorption using a calcined layered double hydroxide [Zn<sub>2</sub>-Al-CO<sub>3</sub>] // J. Mater. Environ. Sci. 2017. V. 8. P. 921–930.
- Munir N., Asgher M., Tahir I.M., Riaz M., Bilal M., Shah S.M.A. Utilization of agro-wastes for production of ligninolytic enzymes in liquid state fermentation by *Phanerochaete chrysosporium* IBL-03 // Int. J. Chem. Biochem. Sci. 2015. V. 7. P. 9–14.
- Nidavadolu S.B., Gudikandula K., Pabba S.K., Maringanti Ch.S. Decolorization of triphenyl methane dyes by *Fomitopsis feei* // Natural Science. 2013. V. 5. P. 30–35.
- Palmieri G., Cennamo G., Sannia G. Remazol Brilliant Blue R decolorisation by the fungus *Pleurotus ostreatus* and its oxidative enzymatic system // Enz. Microbiol. Technol. 2005. V. 36. P. 17–24.
- Pearce C.I., Lloyd J.R., Guthrie J.T. The removal of color from textile wastewater using whole bacterial cells: a review // Dyes Pigments. 2003. V. 58. P. 179–196.
- Pollegioni L., Tonin F., Rosini E. Lignin-degrading enzymes // FEBS J. 2015. V. 282. P. 1190–1213.
- Rai H.S., Bhattacharya M.S., Singh J., Bansal T.K., Vats P., Banerjee U.C. Removal of dyes from the effluent of textile and dyestuff manufacturing industry: a review of emergin techniques with reference to biological treatment // Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. 2005. V. 35. P. 219–238.
- Saratale R.G., Saratale G.D., Chang J.S., Govindwar S.P. Ecofriendly decolorization and degradation of reactive green 19A using *Micrococcus glutamicus* NCIM-2168 // Bioresour. Technol. 2009. V. 110. P. 3897–3901.
- Shaheen A., Asgher M., Hussain F., Bhatti N. Immobilized lignin peroxidase from *Ganoderma lucidum* IBL-05 with improved dye decolorization and cytotoxicity reduction properties // Int. J. Biol. Macromol. 2017. V. 103. P. 57–64.
- Shedbalkar U., Jadhav J. Detoxification of malachite green and textile industrial effluent by *Penicillium ochrochloron* // Biotechnol. Bioproc. Engin. 2011. V. 16. P. 196–204.
- Srivastava S., Sinha R., Roy D. Toxicological effects of malachite green // Aquat. Toxicol. 2004. V. 66. P. 319–329.
- Sumandono T., Saragiha H., Watanabeb T., Amirta R. Decolorization of remazol brilliant blue R by new isolated white rot fungus collected from tropical rain forest in East Kalimantan and its ligninolytic enzymes activity // Proc. Environ. Sci. 2015. V. 28. P. 45–51.



**Ability of Bacteria of the Genus *Azospirillum* to Decolorize Synthetic Dyes****M. A. Kupryashina<sup>1</sup>, \*, E. G. Ponomareva<sup>1</sup>, and V. E. Nikitina<sup>1</sup>**<sup>1</sup>*Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Saratov, 410049 Russia**\*e-mail: kupryashina\_m@mail.ru*

Received January 23, 2020; revised March 11, 2020; accepted March 13, 2020

**Abstract**—This is the first report on ability of bacteria of the genus *Azospirillum* to degrade synthetic dyes. Screening revealed *A. brasilense* strain SR80 to exhibit the highest decoloration activity. The decoloration degree was as high as 50% for remazol brilliant blue and over 90% for malachite green. The cultivation conditions affecting the efficiency of degradation of the studied dyes were determined.

**Keywords:** *Azospirillum*, decolorization, malachite green, remazol brilliant blue