



DOI 10.23859/estr-230530

EDN SNZOVU

УДК 579.6: 579.222: 631.465

Научная статья

Биодеградация нонилфенола бактериальным штаммом *Pseudomonas umsongensis* в водной среде и почвенном микрокосме

Т.Б. Зайцева*^{id}, Н.Г. Медведева^{id}

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр Российской академии наук» (СПб ФИЦ РАН), Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности Российской академии наук, 197110, Россия, г. Санкт-Петербурге, ул. Корпусная, д. 18

*zaytseva.62@list.ru

Аннотация. Загрязнение окружающей среды нонилфенолами (НФ) является серьезной экологической проблемой вследствие их персистентности, токсичности и способности оказывать негативное влияние на эндокринную систему человека и животных. Биодеградация НФ является наиболее экологически безопасным и эффективным способом снижения их содержания в водных и почвенных экосистемах. Из дерново-подзолистой почвы, загрязненной НФ, выделен новый бактериальный штамм *Pseudomonas umsongensis* 16, способный деструктировать НФ в водных средах и почвенном микрокосме. Деструктивные свойства штамма 16 в отношении НФ проявляются в широких диапазонах температур (от +5 до +35°C), pH (5–9) и концентраций ксенобиотика – до 500 мг/л. Биоаугментация загрязненной нонилфенолом почвы клетками *P. umsongensis* 16 приводит к повышению эффективности деструкции НФ в почвенном микрокосме. Степень деструкции поллютанта возрастает в 1.9 раза при сокращении времени его полуудаления в 6.4 раза по сравнению с почвенным микрокосмом без внесения клеток штамма-деструктора. Установлено, что в результате биоаугментации в загрязненной НФ почве происходит восстановление активности почвенного фермента уреазы до уровня незагрязненной почвы. Полученные результаты могут быть использованы при разработке биотехнологии очистки объектов окружающей среды, загрязненных нонилфенолами.

Ключевые слова: эндокринные деструкторы, водные и почвенные экосистемы, биодеструкция, биоаугментация, ферментативная активность

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема №122041100086-5).

ORCID:

Т.Б. Зайцева, <https://orcid.org/0000-0003-1617-0971>

Н.Г. Медведева, <https://orcid.org/0000-0003-0588-8427>

Для цитирования: Зайцева, Т.Б., Медведева, Н.Г., 2024. Биодеградация нонилфенола бактериальным штаммом *Pseudomonas umsongensis* в водной среде и почвенном микрокосме. *Трансформация экосистем* 7 (4), 3–20. <https://doi.org/10.23859/estr-230530>

Поступила в редакцию: 30.05.2023

Принята к печати: 03.07.2023

Опубликована онлайн: 29.11.2024

DOI 10.23859/estr-230530

EDN SNZOVU

UDC 579.6: 579.222: 631.465

Article

Nonylphenol biodegradation by *Pseudomonas umsongensis* bacterial strain in aquatic medium and soil microcosm

T.B. Zaytseva*, N.G. Medvedeva

St. Petersburg Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences (SPC RAS), Scientific Research Centre for Ecological Safety of the Russian Academy of Sciences, 18 Korpusnaya st., St. Petersburg, 197110 Russia

*zaytseva.62@list.ru

Abstract. Environmental pollution with nonylphenols (NPs) is a serious environmental problem due to their persistence, toxicity and ability to have a negative impact on the endocrine system of humans and animals. Biodegradation of NPs is the most environmentally safe and effective way to reduce their content in water and soil ecosystems. A novel bacterial strain, *Pseudomonas umsongensis* 16, capable of degrading NP in aquatic media and soil microcosm, was isolated from soddy-podzolic soil contaminated with NP. The strain 16 exhibits the ability to degrade NP in a wide range of temperatures (from +5 to +35°C), pH (5–9), and xenobiotic concentrations up to 500 mg/l. Bioaugmentation of nonylphenol contaminated soil by cells of *P. umsongensis* 16 leads to an increase in the efficiency of NP destruction in the soil microcosm. The degree of pollutant degradation increases by 1.9 times with a 6.4-fold reduction in the time of its half-removal as compared with the soil microcosm without the introduction of the destructor strain cells. It has been established that as a result of bioaugmentation in soil contaminated with NP, the activity of the soil enzyme urease is restored to the level of uncontaminated soil. The results obtained can be used in the development of biotechnology for the purification of environmental objects contaminated with nonylphenols.

Keywords: endocrine disruptors, water and soil ecosystems, biodegradation, bioaugmentation, enzymatic activity

Funding. The work was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (theme № 122041100086-5).

ORCID:

T.B. Zaytseva, <https://orcid.org/0000-0003-1617-0971>

N.G. Medvedeva, <https://orcid.org/0000-0003-0588-8427>

To cite this article: Zaytseva, T.B., Medvedeva, N.G., 2024. Nonylphenol biodegradation by *Pseudomonas umsongensis* bacterial strain in aquatic medium and soil microcosm. *Ecosystem Transformation* 7 (4), 3–20. <https://doi.org/10.23859/estr-230530>

Received: 30.05.2023

Accepted: 03.07.2023

Published online: 29.11.2024

Введение

В последние годы большое внимание уделяется изучению негативного влияния на экосистемы ксенобиотиков, разрушающих эндокринную систему человека, в том числе длинноцепочечных алкилфенолов АФ – октил- и нонилфенолов.

Нонилфенолы (НФ) широко используются в производстве присадок к смазочным маслам, смол, пестицидов, фармацевтических препаратов, поверхностно-активных веществ и др. В окружающую среду НФ попадают в основном со сточными водами и обнаруживаются в воде, почве и воздухе (Bhandari et al., 2021). Содержание НФ в воде может достигать сотен мкг/л (Sole et al., 2000), в почве – 1 г/кг (Jiang et al., 2018).

НФ оказывают токсическое действие на водные и почвенные организмы: бактерии, грибы, водоросли, ракообразных, моллюсков, дождевых червей, рыб, растения и пр. (de Bruin et al., 2019; Domene et al., 2009; Ivey et al., 2018; Jiang et al., 2019; Kuzikova et al., 2020; Shirdel and Kalbassi, 2016; Spadoto et al., 2017; Zaytseva et al., 2015).

Экосистемы, загрязненные НФ, характеризуются низким уровнем видового состава, снижением устойчивости в целом (Кузикова и др., 2019; Kuzikova et al., 2022; Wang et al., 2015). Благодаря своей биоаккумуляционной способности НФ накапливаются в растениях, в тканях водных и почвенных организмов (Careghini et al., 2015; Diehl et al., 2012; Gautam et al., 2015; Jiang et al., 2019). Продвигаясь по пищевой цепи, НФ попадают в организм человека, что представляет серьезную угрозу для здоровья, так как нонилфенолы вызывают аллергические заболевания, нарушают эндокринные функции организма, оказывают цитотоксическое действие на клетки печени, обладают нейротоксичными, мутагенными и канцерогенными свойствами (Acir and Guenther, 2018; Forte et al., 2016; Ismanto et al., 2022; Lofti et al., 2021; Noorimotlagh et al., 2020; Paolella et al., 2021; Suen et al., 2012). В силу этих причин в ряде стран ЕС и США введены ограничения на производство и использование НФ, регламентировано их содержание в объектах окружающей среды (Laht and Volkov, 2011; Ribeiro et al., 2015).

В окружающей среде НФ могут трансформироваться с образованием менее токсичных соединений за счет гидролиза и фотолиза. Однако основной причиной снижения содержания НФ в природных экосистемах является их биологическая деструкция, главным образом микробиологическая (Bandari et al., 2021). Из донных осадков, почв, активных илов очистных сооружений выделены культуры бактерий и грибов, способные деструктировать НФ и использовать его в качестве источника углерода и энергии (Kuzikova et al., 2020; Ma et al., 2018).

Целью настоящего исследования было выделение из почвы и идентификация высокоактивного бактериального штамма-деструктора НФ, изучение процессов деструкции НФ выделенным штаммом в жидких средах и почве, выявление влияния выделенного штамма на ферментативную активность загрязненной нонилфенолом почвы.

Материал и методы исследования

В качестве объектов исследования использованы образцы верхних горизонтов дерново-подзолистой суглинистой почвы (Приозерский район, Ленинградская область) и технический нонилфенол (НФ) производства Sigma-Aldrich (США).

Почвенные бактерии-деструкторы НФ выделяли из загрязненной нонилфенолом (300 мг НФ/кг сухой почвы (с.п.)) и инкубированной в течение 90 суток почвы с использованием метода накопительной культуры в жидкой минимальной минеральной среде (ММС) следующего состава (г/л): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 4.0; KH_2PO_4 – 1.5; K_2HPO_4 – 1.5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.2, содержащей НФ (50 мг/л) в качестве селективного агента. Накопительные культуры инкубировали на роторном шейкере Certomat BS-1 (Sartorius Stedim Biotech, Германия) при 230 об/мин., 28 °С в темновых условиях. Каждые 4 суток выполняли пересев-пассаж (10% об.) в свежую среду того же состава. Выделение бактериальных культур проводили после 5-го пассажа методом Коха на агаризованной среде следующего состава (г/л): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 4.0; KH_2PO_4 – 1.5; K_2HPO_4 – $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.2, агар – 2.0, глюкоза – 5.0, дрожжевой экстракт – 2.0, содержащей 50 мг/л НФ. Посевы инкубировали при 28 °С в течение 3 дней. Морфологически различные колонии бактерий были отобраны для дальнейшего изучения их способности деструктировать НФ.

Отобранные бактериальные изоляты инкубировали в жидкой среде ММС, содержащей НФ (100 мг/л), на роторном шейкере (230 об/мин, 28 °С) в темноте в течение 7 дней, после чего отбирали образцы для определения содержания НФ и выбора наиболее активных штаммов-деструкторов.

Фенотипические признаки бактериального штамма-деструктора НФ выявляли с использованием общепринятых методик (Krige and Padgett, 2011).

При идентификации штамма *Pseudomonas umsongensis* 16 применен метод секвенирования по Сэнгеру фрагмента последовательности гена 16S рPHK (*rrs*). Для амплификации участка гена 16S рPHK (около 1500 пн) применяли праймеры fD1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') и rD1 (5'-CTTAAGGAGGTGATCCAGCC-3') (Weisburg et al., 1991). Нуклеотидную последовательность ПЦР-продукта определяли на генетическом анализаторе ABI 3500xl («Applied Biosystems», США). Идентификацию штамма 16 проводили в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ВКСМ, Санкт-Петербург).

Штамм 16 культивировали в глубинных условиях на среде ММС, содержащей НФ, на роторном шейкере Certomat BS-1 при 230 об/мин., 28 °С в темновых условиях. Нонилфенол вносили в питательную среду в виде этанольных растворов, создавая концентрации НФ 50.0–500.0 мг/л. Продолжительность культивирования составляла 7 суток.

Влияние температуры на деструкцию НФ (50 мг/л) выявляли в статических условиях в темноте в диапазоне температур 5–35 °С. Изучение влияния рН на деградацию НФ (50 мг/л) проводили в темновых условиях на роторном шейкере Certomat BS-1 (230 об/мин., 28 °С) при исходных уровнях рН среды 5.0–9.0. С целью оценки убыли НФ в абиотических условиях использовали абиотические контроли без клеток бактерий.

В экспериментах по изучению деструкции НФ штаммом 16 в почве поллютант вносили в почву в виде ацетоновых растворов по методике, описанной ранее (Кузикова и др., 2019), создавая концентрацию 100 мг НФ/кг с.п. В качестве контрольных были использованы загрязненные нонилфенолом почвы, не содержащие клетки штамма 16: Контроль 1 – образцы почвы, стерилизованные автоклавированием при избыточном давлении 1 атм. в течение 1 ч 20 мин, Контроль 2 – нестерилизованные образцы почвы. Инкубирование почвенных образцов (контрольных и содержащих штамм 16) проводили в темновых условиях при температуре 24 ± 2 °С в течение 30 суток и влажности почвы 60% при периодическом перемешивании.

В качестве инокулята в экспериментах по деградации НФ как в жидкой среде, так и в почве использовали суспензии клеток, выращенных при 28 °С в течение 48 ч на агаризованной среде ММС. Бактериальные суспензии вносили в жидкую среду ММС и почву, содержащие НФ, создавая начальную концентрацию клеток $2 \pm 1 \times 10^8$ клеток/мл и $4 \pm 1 \times 10^8$ клеток/г с.п. соответственно.

Содержание НФ в почвенных образцах, культуральных жидкостях (клетки + среда) и в абиотических контролях определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе «Hewlett-Packard» H 1090 (США) по методикам, представленным ранее (Кузикова и др., 2019; Kuzikova et al., 2020).

Кинетику деградации НФ в быстрой фазе в различных условиях культивирования бактерий анализировали в соответствии с моделью первого порядка. Убыль НФ оценивали по продолжительности периода 50% деструкции поллютанта T_{50} и по величине коэффициента скорости реакции первого порядка k (сутки⁻¹), рассчитанных с использованием линейного регрессионного анализа при помощи уравнения

$$C = C_0 \cdot e^{-kt},$$

где k – кинетическая константа реакции первого порядка, C – концентрация НФ в момент времени t , мг/л, C_0 – начальная концентрация НФ. Параметр k получен методом линейной регрессии между скоростью убыли поллютанта (C/C_0) и временем (t) (Wang et al., 2019).

Определение уреазной активности почвенных образцов проводили колориметрически на спектрофотометре Genesys 10uv scanning (Thermo Spectronic, США) по методу Несслера (Jayaraman, 2011). Уреазную активность выражали в миллиграммах N-NH₄ на 1 г а.с.п. При определении активности уреазы в качестве контрольных использованы образцы почвы, не загрязненной НФ и не содержащей клетки штамма 16.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета компьютерных программ Statistica software (версия 6). Статистическая значимость была установлена при $p \leq 0.05$. Полученные данные представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение трех независимых повторов каждого варианта.

Результаты и обсуждение

Из накопительных культур, полученных из почвенных образцов, инкубированных с НФ в течение 90 суток, было выделено 17 бактериальных штаммов, обладающих способностью к росту на агаризованной среде, содержащей НФ (50 мг/л).

Среди наиболее активных деструкторов НФ отмечен штамм 16: степень убыли поллютанта (стартовая концентрация 100 мг НФ/л) после 7 суток его культивирования в глубинных условиях составила 77%, в то время как в абиотическом контроле (без клеток бактерий) содержание НФ в среде в темновых условиях не снижалось.

Клетки штамма 16 – грамотрицательные неспорообразующие подвижные палочки. На поверхности мясо-пептонного агара штамм образует округлые колонии молочно-белого цвета диаметром 2.5–3.5 мм, имеющие плоский, слегка выпуклый профиль, ровный край, гладкую, блестящую поверхность, мелкозернистую структуру, пленочную консистенцию. Штамм 16 каталазо- и оксидазо-положителен, является аэробом. Реакция Фогес–Проскауэра отрицательная, индол не образует. Штамм не способен к использованию мочевины. Ассимилирует атмосферный азот. Способен к денитрификации, потребляет азот минеральных солей, катаболизирует галактозу, маннозу, маннит, глюкозу (с образованием кислоты), лактозу, рамнозу, арабинозу, фруктозу, дульцит, сорбит, ксилозу, инозит, крахмал. Обладает протеолитической активностью в отношении казеина, желатину не разжижает. Штамм проявляет амилалитическую и липолитическую активность, способен к росту в широком диапазоне температур (+5–+36 °С), при + 36 °С рост замедлен. Растет при pH 5–9, при pH 5 рост слабый, при pH 3 рост отсутствует. Хорошо растет в присутствии 2.5–5 % NaCl (при 6.5–10 % NaCl рост очень слабый).

Методом секвенирования фрагмента последовательности гена 16S рРНК показано, что ген 16S рибосомальной РНК штамма 16 проявляет высокие степени идентичности (> 98%) с аналогичными генами бактерий р. *Pseudomonas* – *Pseudomonas putida* strain P13 (100%), *Pseudomonas umsongensis* strain 6A2 (100%), *Pseudomonas putida* strain ATCC 12633T (98.06%), *Pseudomonas umsongensis* strain Ps 3-10T (99.66 %) и 100% сходство с аналогичным геном типового штамма *Pseudomonas umsongensis* strain Ps 3-10T. По совокупности фенотипических признаков и результатов секвенирования штамм 16 идентифицирован как *Pseudomonas umsongensis* 16.

Бактерии р. *Pseudomonas* входят в филум Proteobacteria (класс Gammaproteobacteria). Ранее выявлено, что гаммапротеобактерии, наряду с альфапротеобактериями, становятся доминирующими бактериальными группами в микробных сообществах почв и донных осадков в процессе их длительного инкубирования с НФ (Кузикова и др., 2019; Kuzikova et al., 2022; Wang et al., 2015). Известно, что различные штаммы р. *Pseudomonas* обладают высоким потенциалом к биоразложению ксенобиотиков разнообразной химической структуры (Зайцева и др., 2020; Коршунова и др., 2020; Burlachenko et al., 2021; Huang et al., 2020; Merkova et al., 2018; Ravi et al., 2018; Shah, 2018), в том числе нонилфенолов (Bai et al., 2017; Ma et al., 2018; Qhanya et al., 2017; Watanabe et al., 2012).

Установлено, что штамм *P. umsongensis* 16 деструктурирует НФ в диапазоне концентраций 50–500 мг/л (Рис. 1). Анализ кривых убыли НФ в условиях проведенных экспериментов позволил выделить ее двухфазный характер, аналогичный ранее описанному процессу деструкции алкилфенолов другими микроорганизмами (Kuzikova et al., 2020; Medvedeva et al., 2017). Так, после 96 ч культивирования (в быстрой фазе убыли поллютанта) степень биодеградации НФ в зависимости от его исходной концентрации составила 35–70%. Затем процесс биодеградации замедлялся, и за последующие 72 ч было деструктурировано не более 9% НФ вне зависимости от его начального содержания (Рис. 1). Ограничение процессов биодеградации НФ в конце быстрой фазы может быть связано с образованием токсичных для бактерий метаболитов (Bai et al., 2017).

При увеличении содержания НФ в среде от 50 до 100 мг/л статистически значимых различий в скорости убыли поллютанта не было выявлено. Однако повышение концентрации НФ в среде от 100 мг/л до 300 мг/л и далее до 500 мг/л приводило к значительному замедлению его биодеградации, что выражалось в статистически значимом ($p < 0.5$) значительном (в 2.4 и 3.5 раза соответственно) увеличении времени его 50%-го удаления и снижении коэффициента скорости деградации k (Рис. 1, Табл. 1).

Выделенная нами бактерия проявила более высокие деструктивные свойства в отношении НФ по сравнению с некоторыми другими штаммами-деструкторами НФ, например, бактерией *P. putida* SLY10, деструктурирующей НФ в значительно меньшей концентрации: 20 мг/л на 50.2% за 72 ч (Ma et al., 2018), бактерией *Pseudomonas* sp., за 5 суток деструктурирующей НФ в концентрациях 50 и 100 мг/л на 60% и 30% соответственно (Watanabe et al., 2012). В то же время бактерия *P. umsongen-*

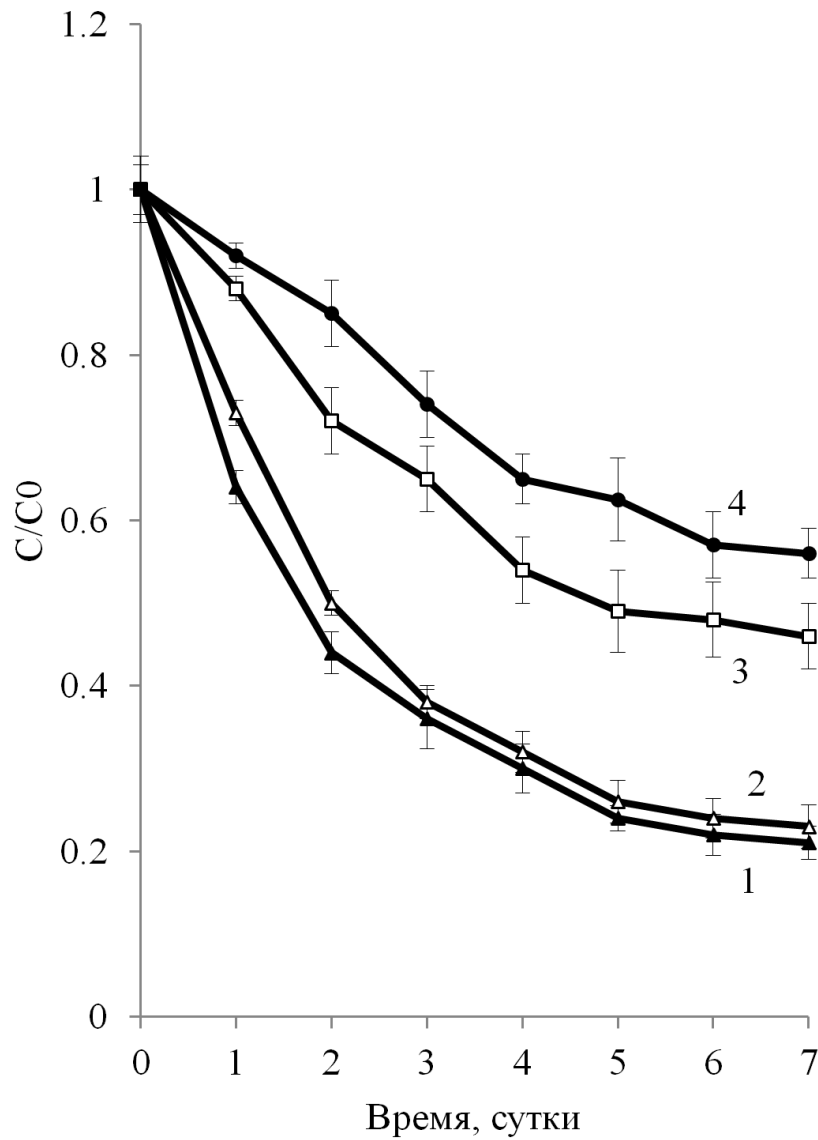


Рис. 1. Зависимость содержания НПФ в среде от времени культивирования *P. umsongensis* 16. Исходные концентрации НПФ: 1 – 50 мг/л; 2 – 100 мг/л; 3 – 300 мг/л; 4 – 500 мг/л.

Табл. 1. Параметры кинетики деградации нонилфенола штаммом *P. umsongensis* 16 в зависимости от его начальной концентрации в среде.

Концентрация НПФ, мг/л	Уравнение кинетики биodeградации	k , ч ⁻¹	T_{50} , ч	R^2
50	$\ln(C/C_0) = -0.014 \cdot t - 0.056$	0.014 ± 0.001	45.5 ± 3.9	0.975
100	$\ln(C/C_0) = -0.014 \cdot t - 0.001$	0.014 ± 0.003	49.4 ± 4.2	0.996
300	$\ln(C/C_0) = -0.006 \cdot t + 0.009$	0.006 ± 0.001	117.0 ± 11	0.994
500	$\ln(C/C_0) = -0.004 \cdot t + 0.004$	0.004 ± 0.001	174 ± 19	0.955

sis 16 оказалась менее активной по сравнению со штаммами *P. nitroreducens* LBQSKN1, *P. putida* LBQSKN2, *Pseudomonas* sp. LBQSKN5, *Pseudomonas* sp. LBQSKN6, осуществляющими деградацию НФ в концентрации 2.5 мМ (550 мг/л) на 41–46% в течение 12 ч (Qhanya et al., 2017).

Среди абиотических факторов, влияющих на процессы биодеструкции ксенобиотиков в водных и почвенных экосистемах, одними из наиболее важных являются температура и кислотность (рН) (Vacosia et al., 2022, Kanwal et al., 2022). Температура имеет значительное воздействие на химические и биохимические реакции, на рост и выживание микроорганизмов, на таксономический состав, активность ферментов, метаболическую активность, физиологию и разнообразие бактериальных сообществ различных экосистем, ответственных за деградацию поллютантов (Kebede et al., 2021; Pischedda et al., 2019). Уровень рН среды влияет на физиологические свойства микроорганизмов, мембранный транспорт, баланс каталитических реакций в клетках, ферментативную активность микроорганизмов и имеет важнейшее значение для процессов биологической деструкции органических поллютантов (Vacosia et al., 2022).

Штамм *P. umsongensis* 16 продемонстрировал способность деструктировать НФ в широком диапазоне температур: от 5 °С до 35 °С (Рис. 2, Табл. 2).

Следует отметить, что в диапазоне температур 15–28 °С достоверно значимых различий в скорости биодеструкции НФ штаммом 16 не выявлено ($p > 0.05$). Степень деструкции нонилфенола в этом интервале температур через 7 суток культивирования бактерии *P. umsongensis* составила $59 \pm 1\%$. При понижении температуры от +15 °С до +5 °С процесс деструкции НФ замедлялся, что выражалось в уменьшении в 2.3 раза значения коэффициента k и в увеличении периода T_{50} более чем в 1.6 раза. Степень деструкции ксенобиотика через 7 суток при +5 °С составила 36%. Повышение температуры культивирования от +28 °С до +35 °С приводило к ускорению бактериальной деструкции ксенобиотика: статистически значимо ($p < 0.05$) в 1.6 раза повышался коэффициент k , снижалась продолжительность периода 50% деструкции поллютанта, степень его деструкции через 7 суток возрастала до 82%.

Штамм 16 проявляет способность к деградации НФ в широком диапазоне рН: от 5 до 9 (Рис. 3). Наши результаты показывают, что деградация нонилфенола бактерией *P. umsongensis* 16 более эффективно происходит в щелочных условиях среды: при рН 9.0 продолжительность T_{50} составила 26.3 ч, величина коэффициента скорости деструкции $k - 0.023 \text{ ч}^{-1}$. При снижении уровня рН от 9.0 до 7.0 и далее до 5.0 продолжительность периода полудеструкции НФ возрастала в 1.7 раза, а коэффициент k снижался в 1.6 раза. Следует отметить, что статистически значимых различий в скорости деструкции НФ при рН 5 и 7 не было выявлено ($p > 0.05$) (Рис. 3, Табл. 2).

Влияние уровня кислотности и/или температуры на деструкцию нонилфенола бактериями р. *Pseudomonas* было показано и другими авторами. Так, выявлено, что оптимальной для деструкции нонилфенола бактериями *P. putida* и *Pseudomonas* sp. является температура +30 °С (Watanabe et al., 2012; Xie et al., 2015). Наиболее высокая степень деструкции НФ бактерией *P. putida* зафиксирована при рН в диапазоне 5–7 (Xie et al., 2015). Как повышение, так и снижение температуры и рН относительно выявленных оптимальных уровней вызывают уменьшение степени деструкции НФ, что связано с падением активности ферментов, участвующих в процессах деструкции НФ (Surkatti and El-Naas, 2017).

Способность выделенного нами штамма к биодеструкции НФ в широких диапазонах температуры (от +5 °С до +35 °С) и рН (5–9) представляет несомненный интерес для его использования при разработке биотехнологии очистки объектов окружающей среды, загрязненных этим поллютантом.

Штамм *P. umsongensis* 16 способен деструктировать НФ не только в водной среде, но и в почвенных микросомах. В нестерилизованных почвенных образцах, загрязненных нонилфенолом (Контроль 2), после 30 суток инкубирования отмечено снижение содержания НФ на 42% от исходного количества. Следует отметить, что в стерильных почвенных образцах (Контроль 1) убыли поллютанта не происходит, что указывает на биологический характер процесса деструкции НФ автохтонной микробиотой (Рис. 4).

В условиях биоаугментации – обработки загрязненной нонилфенолом почвы клетками *P. umsongensis* 16 наблюдалось значительное повышение степени деструкции НФ – от 42% в контрольном варианте до 79%. Коэффициент скорости деструкции k при этом возрастал в 5.6 раза, продолжительность периода полудеструкции снижалась в 6.4 раза (Рис. 4, Табл. 3).

Известно, что загрязнение почвы нонилфенолом вызывает время- и дозозависимые изменения в активности пула ферментов азотного (уреазы и протеазы) и углеводного (амилазы и целлюлазы) циклов и окислительно-восстановительных ферментов (дегидрогеназы и каталазы) (Зайцева и др., 2020). В рамках данного исследования изучено влияние НФ и штамма 16 на ак-

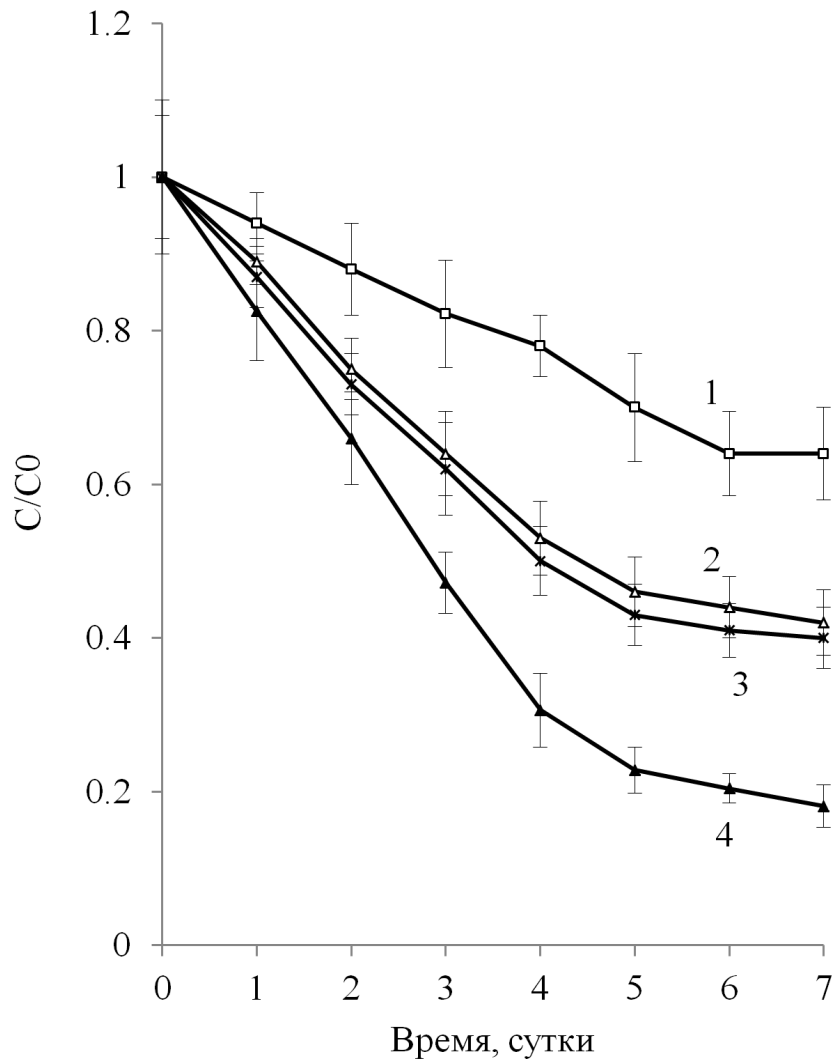


Рис. 2. Зависимость содержания НП от температуры и времени культивирования *P. umsongensis* 16: 1 – 5 °C, 2 – 15 °C, 3 – 28 °C, 4 – 35 °C.

Табл. 2. Параметры кинетики деградации нонилфенола штаммом *P. umsongensis* 16 в зависимости от температуры и начального уровня pH.

Параметр		Уравнение кинетики деградации	k, ч ⁻¹	T ₅₀ , ч	R ²
Температура, °C	5	$\ln(C/C_0) = -0.003 \cdot t$	0.003 ± 0.001	>168	0.995
	15	$\ln(C/C_0) = -0.007 \cdot t + 0.024$	0.007 ± 0.002	102.4 ± 9.1	0.997
	28	$\ln(C/C_0) = -0.007 \cdot t + 0.021$	0.007 ± 0.001	102 ± 7	0.994
	35	$\ln(C/C_0) = -0.012 \cdot t + 0.077$	0.012 ± 0.001	64.2 ± 6	0.974
pH	5.0	$\ln(C/C_0) = -0.015 \cdot t - 0.021$	0.015 ± 0.002	44.8 ± 3.4	0.998
	7.0	$\ln(C/C_0) = -0.014 \cdot t - 0.058$	0.014 ± 0.001	45.4 ± 4.1	0.971
	9.0	$\ln(C/C_0) = -0.023 \cdot t - 0.087$	0.023 ± 0.003	26.3 ± 1.9	0.972

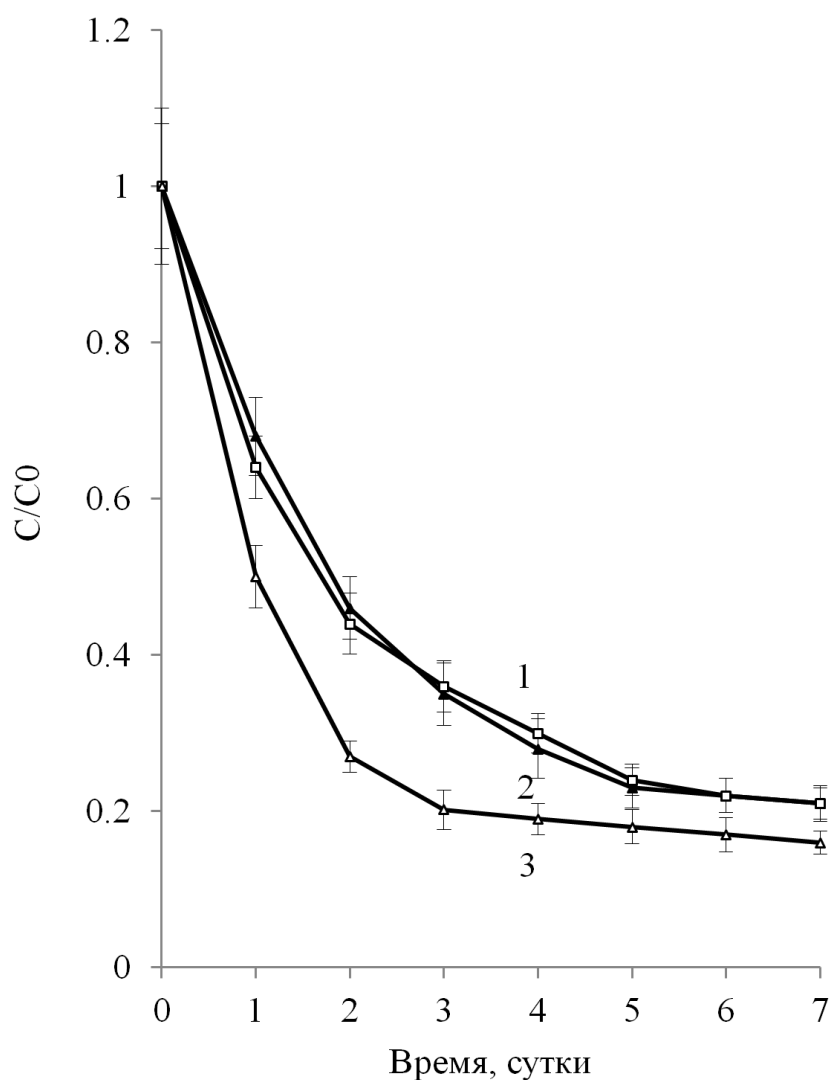


Рис. 3. Зависимость содержания НФ от начального уровня pH среды и времени культивирования *P. umsongensis* 16: 1 – pH 5, 2 – pH 7, 3 – pH 9.

тивность почвенного фермента уреазы, уровень которой часто рассматривается как показатель здоровья микробных сообществ экосистем (Sebiomo et al., 2017).

Ранее выявлено, что загрязнение дерново-подзолистой почвы нонилфенолом приводит к значительному ингибированию активности почвенной уреазы (Зайцева и др., 2020). В настоящей работе показано, что в почвенных вариантах как обработанных, так и не обработанных клетками *P. umsongensis* 16: после 2 суток инкубирования уровень активности фермента снизился на 75–80% по сравнению с незагрязненной почвой (Рис. 5).

При дальнейшем инкубировании в почвенном образце, содержащем клетки штамма 16, происходит восстановление уреазной активности, и после 30 суток не выявлено статистически значимых различий в уровнях данного показателя по сравнению с контрольным образцом, не содержащим ни НФ, ни клетки штамма 16 ($p > 0.05$). В образце без клеток *P. umsongensis* 16 восстановление уреазной активности за тот же период времени происходило значительно медленнее: уровень активности фермента в этом варианте был в 2.3 раза ниже, чем в контрольном (Рис. 5).

Заключение

Бактериальный штамм 16, способный к биодegradации НФ, выделен из почвы, загрязненной нонилфенолом. На основе фенотипических признаков и данных секвенирования фрагмента последовательности гена 16S рРНК штамм 16 идентифицирован как *Pseudomonas umsongensis* 16.

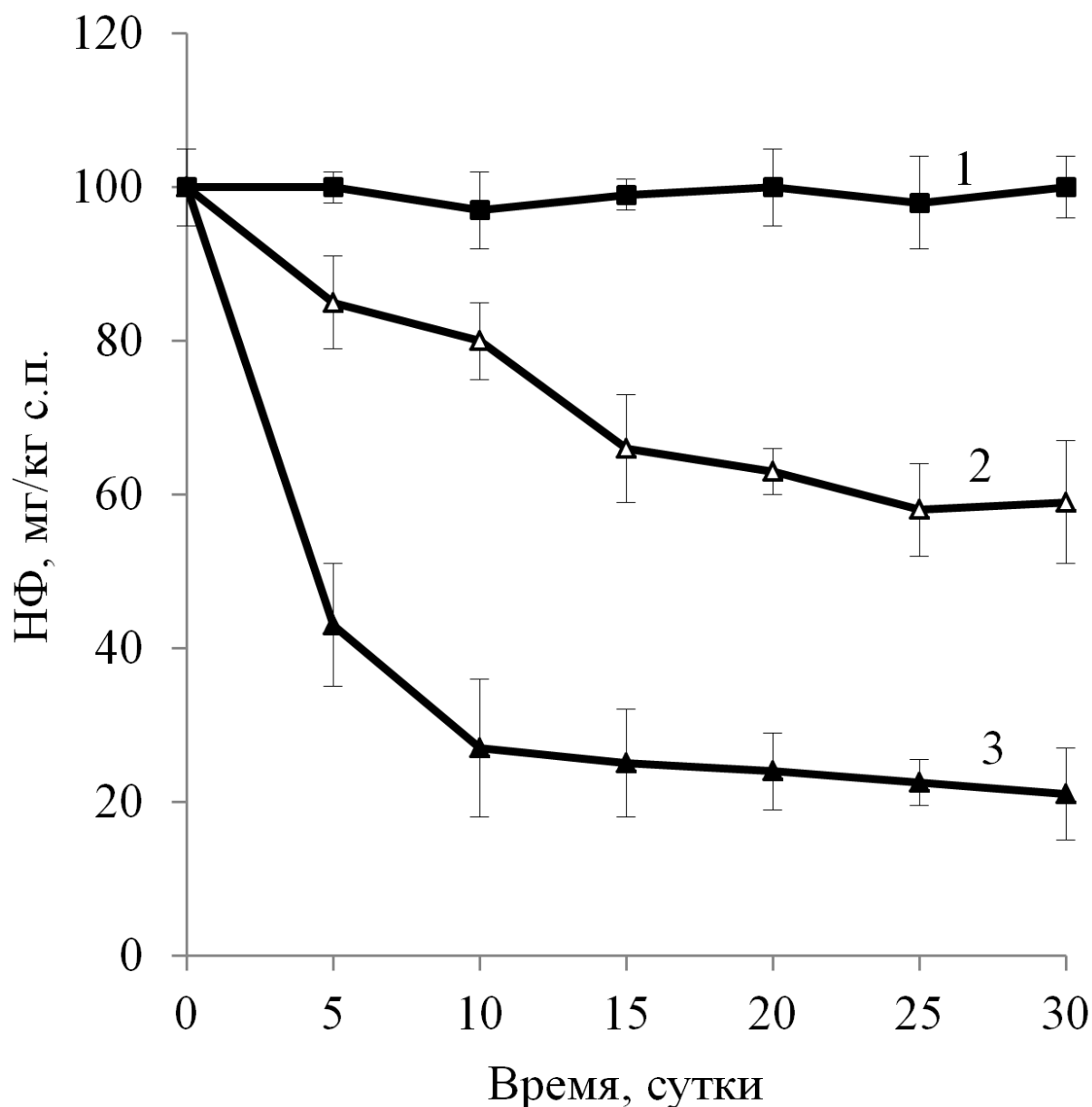


Рис. 4. Содержание НФ в почве: 1 – стерильная почва; 2 – нестерилизованная почва; 3 – нестерилизованная почва, содержащая клетки *P. umsongensis* 16.

Табл. 3. Параметры кинетики деградации нонилфенола в почвенном микрососе.

Вариант почвы	Уравнение кинетики деградации	k , сутки ⁻¹	T_{50} , сутки	R^2
Контроль (без клеток <i>P. umsongensis</i> 16)	$\ln(C/C_0) = -0.022 \cdot t - 0.018$	0.022 ± 0.005	30.7 ± 2.6	0.936
Обработанная клетками <i>P. umsongensis</i> 16	$\ln(C/C_0) = -0.13 \cdot t - 0.063$	0.13 ± 0.02	4.8 ± 1.1	0.972

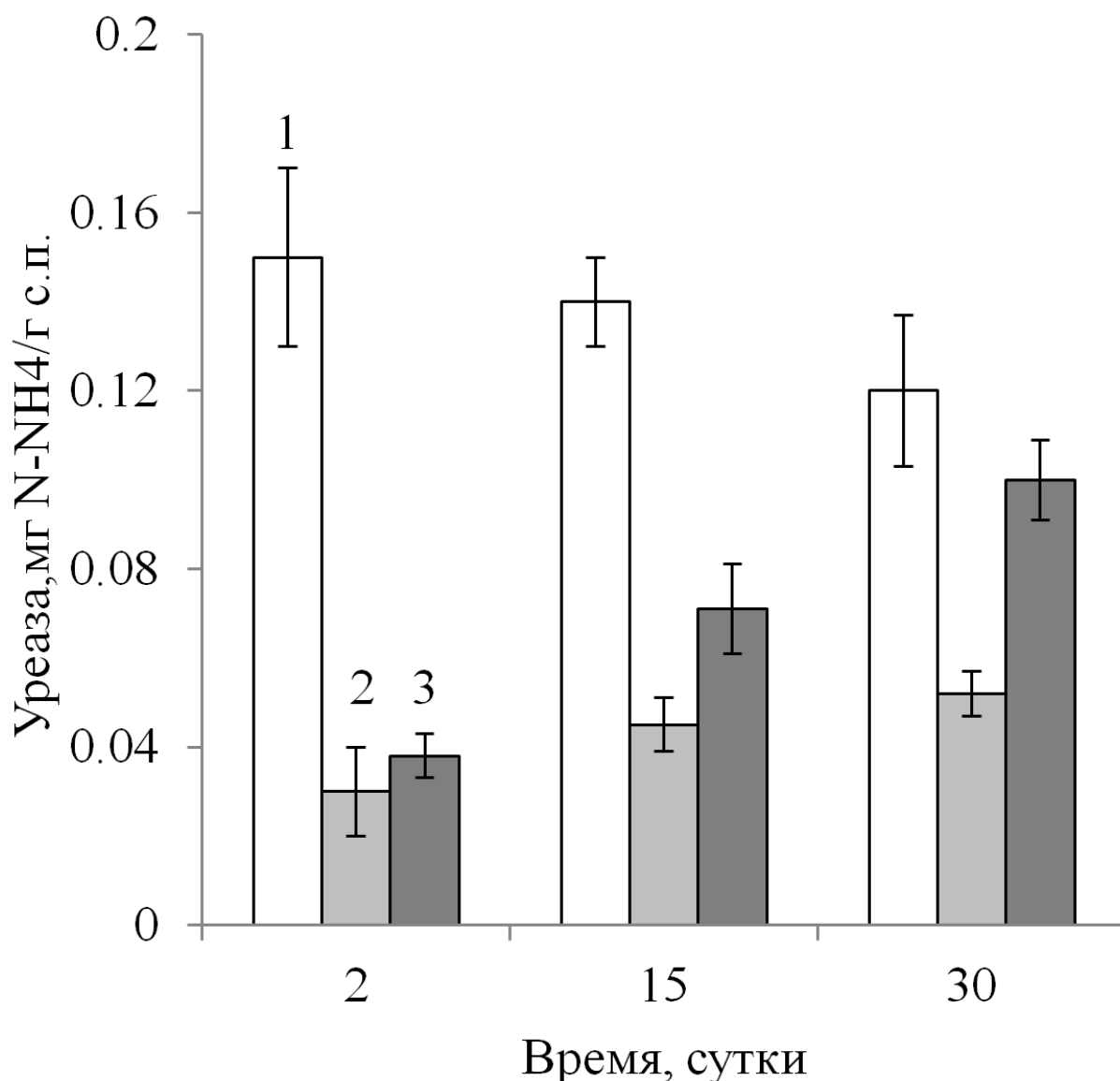


Рис. 5. Влияние нонилфенола (стартовая концентрация 100 мг/кг с.п.) и *P. umsongensis* 16 на уреазную активность: 1 – контрольная почва, не загрязненная НФ и не содержащая клетки *P. umsongensis* 16, 2 – загрязненная НФ почва; 3 – загрязненная НФ почва, содержащая клетки *P. umsongensis* 16.

Показана его высокая эффективность в биодеструкции НФ в аэробных условиях при концентрациях ксенобиотика до 500 мг/л в широком диапазоне температур (+5–+35 °С) и рН (5–9). Выделенный штамм способен деструктировать НФ как в водной среде, так и в почвенном микрокосме. Биоаугментация загрязненной нонилфенолом почвы клетками *P. umsongensis* 16 приводит к повышению эффективности деструкции НФ и значительному снижению времени полураспада поллютанта по сравнению с почвенным микрокосмом без внесения клеток *P. umsongensis* 16. Показано, что загрязнение почвы НФ приводит к снижению активности важнейшего почвенного фермента азотного цикла – уреазы. При аугментации клетками *P. umsongensis* 16 наблюдается восстановление активности уреазы до уровня незагрязненной почвы. Полученные результаты могут быть использованы при разработке биотехнологий очистки экосистем, загрязненных алкилфенолами.

Список литературы

Зайцева, Т.Б., Зиновьева, С.В., Кузикова, И.Л., Руссу, А.Д., Чугунова, М.В., Медведева Н.Г., 2020. Влияние нонилфенолов на биологическую активность дерново-подзолистой почвы. *Почвоведение* 5, 610–617. <https://doi.org/10.31857/S0032180X20050172>

- Коршунова, Т.Ю., Кузина, Е.В., Рафикова, Г.Ф., Логинов, О.Н., 2020. Бактерии рода *Pseudomonas* для очистки окружающей среды от нефтяного загрязнения. *Экобиотех* 3 (1), 18–32 <http://doi.org/10.31163/2618-964X-2020-3-1-18-32>
- Кузикова, И.Л., Зайцева, Т.Б., Кичко, А.А., Зиновьева, С.В., Руссу, А.Д., Маячкина, Н.В., Медведева, Н.Г., 2019. Влияние нонилфенолов на численность и таксономическую структуру почвенного микробного сообщества. *Почвоведение* 6, 722–733. <http://doi.org/10.1134/s0032180x19060078>
- Acir, I.-H., Guenther, K., 2018. Endocrine-disrupting metabolites of alkylphenol ethoxylates – A critical review of analytical methods, environmental occurrences, toxicity, and regulation. *Science of The Total Environment* 635, 1530–1546. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.079>
- Bacosa, H.P., Ancla, S.M.B., Arcadio, C.G.L.A., Dalogdog, J.R.A., Ellos, D.M.C. et al., 2022. From surface water to the deep sea: A review on factors affecting the biodegradation of spilled oil in marine environment. *Journal of Marine Science and Engineering* 10, 426. <https://doi.org/10.3390/jmse10030426>
- Bai, N., Abuduaini, R., Wang, S., Zhang, M., Zhu, X., Zhao, Y., 2017. Nonylphenol biodegradation characterizations and bacterial composition analysis of an effective consortium NP-M2. *Environmental Pollution* 220, 95–104. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.027>
- Bhandari, G., Bagheri, A.R., Bhatt, P., Bilal, M., 2021. Occurrence, potential ecological risks, and degradation of endocrine disrupter, nonylphenol, from the aqueous environment. *Chemosphere* 275, 130013. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130013>
- Burlachenko, A.S., Salishcheva, O.V., Dyshlyuk, L.S., Prosekov, A.Y., 2021. Investigation of the kinetic regularities of the process of biodegradation of betaine surfactant by bacteria of the genus *Pseudomonas*. *Applied Science* 11 (19), 8939. <https://doi.org/10.3390/app11198939>
- Careghini, A., Mastorgio, A.F., Saponaro, S., Sezenna, E., 2015. Bisphenol A, nonylphenols, benzophenones, and benzotriazoles in soils, groundwater, surface water, sediments, and food: a review. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 5711–5741. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3974-5>
- De Bruin, W., Kritzing, Q., Bornman, R., Korsten, L., 2019. Occurrence, fate and toxic effects of the industrial endocrine disrupter, nonylphenol, on plants – A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 181, 419–427. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.06.009>
- Diehl, J., Johnson, S.E., Xia, K., West, A., Tomanek, L., 2012. The distribution of 4-nonylphenol in marine organisms of North American Pacific Coast estuaries. *Chemosphere* 87 (5), 490–497. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12>
- Domene, X., Ramírez, W., Solà, L., Alcañiz, J.M., Andrés, P., 2009. Soil pollution by nonylphenol and nonylphenol ethoxylates and their effects to plants and invertebrates. *Journal of Soils and Sediments* 9 (6), 555–567. <https://doi.org/10.1007/s11368-009-0117-6>
- Forte, M., Di Lorenzo, M., Carrizzo, A., Valiante, S., Vecchione, C., Laforgia, V., De Falco, M., 2016. Nonylphenol effects on human prostate non tumorigenic cells. *Toxicology* 357–358, 21–32. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2016.05.024>
- Gautam, G.J., Chaube, R., Joy, K., 2015. Toxicity and tissue accumulation of 4-nonylphenol in the catfish *Heteropneustes fossilis* with a note on prevalence of 4-NP in water samples. *Endocrine Disruptors* 3 (1), e981442. <https://doi.org/10.4161/23273747.2014.981442>
- Huang, W., Yin, H., Yu, Y., Lu, G., Dang, Z., Chen, Z., 2020. Co-metabolic degradation of tetrabromobisphenol A by *Pseudomonas aeruginosa* and its auto-poisoning effect caused during

- degradation process. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **202** (1), 110919. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110919>
- Ismanto, A., Hadibarata, T., Kristanti, R.A., Maslukah, L., Safinatunnajah, N., Kusumastuti, W., 2022. Endocrine disrupting chemicals (EDCs) in environmental matrices: Occurrence, fate, health impact, physio-chemical and bioremediation technology. *Environmental Pollution* **302**, 119061. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119061>
- Ivey, C.D., Wang, N., Alvarez, D., Hammer, E.J., Bauer, C.R., 2018. Chronic toxicity of 4-nonylphenol to two unionid mussels in water-only exposures. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **101**, 423–427. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2422-5>
- Jiang, L., Yang, Y., Jia, L.X., Liu, Y., Pan, B., Lin, Y., 2018. Effects of earthworm casts on sorption-desorption, degradation, and bioavailability of nonylphenol in soil. *Environmental Science and Pollution Research* **25**, 7968–7977. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-1130-8>
- Jiang, L., Yang, Y., Zhang, Y., Liu, Y., Pan, B., Wang, B., Lin, Y., 2019. Accumulation and toxicological effects of nonylphenol in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Scientific Reports* **9** (1), 7022. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43550-7>
- Jayaraman, J., 2011. Laboratory manual in Biochemistry. New Age International Publisher Ltd., New Age International Publishers, New Dehli, India, 176 p.
- Kanwal, M., Ullah, H., Gulzar, A., Sadiq, T., Ullah, M. et al., 2022. Biodegradation of petroleum hydrocarbons and the factors effecting rate of biodegradation. *American Journal of Biomedical Science & Research* **16** (1), 6–15. AJBSR.MS.ID.002182. <https://doi.org/10.34297/AJBSR.2022.16.002182>
- Kebede, G., Tafese, T., Abda, E.M., Kamaraj, M., Assefa, F., 2021 Factors influencing the bacterial bioremediation of hydrocarbon contaminants in the soil: mechanisms and impacts. *Hindawi Journal of Chemistry* **2021**, 9823362. <https://doi.org/10.1155/2021/9823362>
- Krige, N.R, Padgett, P.J., 2011. Phenotypic and physiological characterization methods. In: Rainey, F., Oren, A. (eds.), *Methods in Microbiology*. Vol. 38. Academic Press, New York, USA, 15–60. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387730-7.00003-6>
- Kuzikova, I., Rybalchenko, O., Kurashov, E., Krylova, Y., Safronova, V., Medvedeva, N., 2020. Defense responses of the marine-derived fungus *Aspergillus tubingensis* to alkylphenols stress. *Water, Air, & Soil Pollution* **231** (6), 271. <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04639-2>
- Kuzikova, I., Andronov, E., Zaytseva, T., Metelkova, L., Zhakovskaya, Z., Medvedeva, N., 2022. A microcosm approach for evaluating the microbial nonylphenol and butyltin biodegradation and bacterial community shifts in co-contaminated bottom sediments from the Gulf of Finland, the Baltic Sea. *Environmental Science and Pollution Research* **29** (46), 69849–69860. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20751-8>
- Laht, M., Volkov, E., 2011. Identification of sources and estimation of inputs/impacts on the Baltic Sea. Cohiba Project “Control of Hazardous Substances in the Baltic Sea Region”. Summary Report, Estonia, Tallinn, 446 p.
- Lotfi, M., Hasanpour, A.H, Moghadamnia, A.A, Kazemi, S., 2021. The investigation into neurotoxicity mechanisms of nonylphenol: A narrative review. *Current Neuropharmacology* **19**, 1345–1353. <https://doi.org/10.2174/1570159X18666201119160347>
- Ma, J., Chen, F., Tang, Y., Wang, X., 2018. Research on degradation characteristics of nonylphenol in water by highly effective complex microorganisms. *E3S Web of Conferences* **53**, 04016. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/20185304016>

- Medvedeva, N., Zaytseva, T., Kuzikova, I., 2017. Cellular responses and bioremoval of nonylphenol by the bloom-forming cyanobacterium *Planktothrix agardhii* 1113. *Journal of Marine Systems* **171**, 120–128. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmarsys.2017.01.009>
- Merkova, M., Zalesak, M., Ringlova, E., Julinova, M., Ruzicka, J., 2018. Degradation of the surfactant Cocamidopropyl betaine by two bacterial strains isolated from activated sludge. *International Biodeterioration & Biodegradation* **127**, 236–240. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.12.006>
- Noorimotlagh, Z., Mirzaee, S.A., Martinez, S.S., Rachoń, D., Hoseinzadeh, M., Jaafarzadeh, N., 2020. Environmental exposure to nonylphenol and cancer progression Risk – A systematic review. *Environmental Research* **184**, 109263. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109263>
- Paoella, G., Romanelli, A.M., Martucciello, S., Sposito, S., Lepretti, M. et al., 2021. The mechanism of cytotoxicity of 4-nonylphenol in a human hepatic cell line involves ER-stress, apoptosis, and mitochondrial dysfunction. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* **35** (7), e22780. <https://doi.org/10.1002/jbt.22780>
- Pischedda, A., Tosin, M., Degli-Innocenti, F., 2019. Biodegradation of plastics in soil: The effect of temperature. *Polymer Degradation and Stability* **170**, 109017. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2019.109017>
- Qhanya, L.B., Mthakathi, N.T., Boucher, C.E., Mashele, S.S., Theron, C.W., Syed, K., 2017. Isolation and characterisation of endocrine disruptor nonylphenol using bacteria from South Africa. *South African Journal of Science* **113** (5–6). <http://dx.doi.org/10.17159/sajs.2017/20160287>
- Ravi, K., Javier, G-H., Nöbel, M., Grauslund, M-F., Lidén, G., 2018. Biological conversion of aromatic monolignol compounds by a *Pseudomonas* isolate from sediments of the Baltic Sea. *AMB Express* **8** (1), 32. <http://dx.doi.org/10.1186/s13568-018-0563-x>
- Ribeiro, A.R., Nunes, O.C., Pereira, M.F.R., Silva, A.M.T., 2015. An overview on the advanced oxidation processes applied for the treatment of water pollutants defined in the recently launched Directive 2013/39/EU. *Environment International* **75**, 33–51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2014.10.027>
- Sebiomo, A., Banjo, F.M., Ade-Ogunnowo, F.E., Fagbemi, F.T., 2017. Microbial population, dehydrogenase and urease activities in soils polluted with spent engine and diesel oil. *African Journal of Science & Nature* **4**, 56–65. <https://doi.org/10.46881/ajsn.v4i0.84>
- Shah, M.P., 2018. Microbial degradation of phenol by an application of *Pseudomonas mendocina*. *Austin Journal of Microbiology* **4** (2), 1022.
- Shirdel, I., Kalbassi, M.R., 2016. Effects of nonylphenol on key hormonal balances and histopathology of the endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* **183–184**, 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2016.01.003>
- Sole, M., Lopez de Alda, M.J., Castillo, M., Porte, C., Ladegaard-Pedersen, K., Barcelo, D., 2000. Estrogenicity determination in sewage treatment plants and surface waters from Catalonian area (NE Spain). *Environmental Science & Technology* **34** (24), 5076–5083. <http://dx.doi.org/10.1021/es991335n>
- Spadoto, M., Sueitt, A.P.E., Galinaro, C.A., Pinto, T. da S., Pompei, C.M.E., Botta, C.M.R., Vieira, E.M., 2017. Ecotoxicological effects of bisphenol A and nonylphenol on the freshwater cladocerans *Ceriodaphnia silvestrii* and *Daphnia similis*. *Drug and Chemical Toxicology* **41** (4), 449–458. <https://doi.org/10.1080/01480545.2017.1381109>
- Suen, J.-L., Hung, C.-H., Yu, H.-S., Huang, S.-K., 2012. Alkylphenols – potential modulators of the allergic response. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences* **28** (7 Suppl), S43–S48. <https://doi.org/10.1016/j.kjms.2012.05.009>

- Surkatti, R., El-Naas, M.H., 2017. Competitive interference during the biodegradation of cresols. *International Journal of Environmental Science and Technology* **15** (2), 301–308. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1383-2>
- Wang, Z., Yang, Y.Y., He, T., Xie, S.G., 2015. Change of microbial community structure and functional gene abundance in nonylphenol-degrading sediment. *Applied Microbiology and Biotechnology* **99**, 3259–3268. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6222-5>
- Wang, L., Xiao, H., He, N., Sun, D., Duan, S., 2019. Biosorption and biodegradation of the environmental hormone nonylphenol by four marine microalgae. *Scientific Reports* **9**, 5377. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41808-8>
- Watanabe, W., Hori, Y., Nishimura, S., Takagi, A., Kikuchi, M., Sawai, J., 2012. Bacterial degradation and reduction in the estrogen activity of 4-nonylphenol. *Biocontrol Science* **17** (3), 143–147. <https://doi.org/10.4265/bio.17.143>
- Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A., Lane, D.J., 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology* **173** (2), 697–703. <https://doi.org/10.1128/jb.173.2.697-703.1991>
- Xie, Y., Pan, Y., Bai, B., Xu, Z., Ding, L. et al., 2015. Degradation performance and optimal parameters of two bacteria in degrading nonylphenol. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience* **12** (9), 2657–2663. <https://doi.org/10.1166/jctn.2015.4159>

References

- Acir, I.-H., Guenther, K., 2018. Endocrine-disrupting metabolites of alkylphenol ethoxylates – A critical review of analytical methods, environmental occurrences, toxicity, and regulation. *Science of The Total Environment* **635**, 1530–1546. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.079>
- Bacosa, H.P., Ancla, S.M.B., Arcadio, C.G.L.A., Dalogdog, J.R.A., Ellos, D.M.C. et al., 2022. From surface water to the deep sea: A review on factors affecting the biodegradation of spilled oil in marine environment. *Journal of Marine Science and Engineering* **10**, 426. <https://doi.org/10.3390/jmse10030426>
- Bai, N., Abuduaini, R., Wang, S., Zhang, M., Zhu, X., Zhao, Y., 2017. Nonylphenol biodegradation characterizations and bacterial composition analysis of an effective consortium NP-M2. *Environmental Pollution* **220**, 95–104. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.027>
- Bhandari, G., Bagheri, A.R., Bhatt, P., Bilal, M., 2021. Occurrence, potential ecological risks, and degradation of endocrine disrupter, nonylphenol, from the aqueous environment. *Chemosphere* **275**, 130013. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130013>
- Burlachenko, A.S., Salishcheva, O.V., Dyshlyuk, L.S., Prosekov, A.Y., 2021. Investigation of the kinetic regularities of the process of biodegradation of betaine surfactant by bacteria of the genus *Pseudomonas*. *Applied Science* **11** (19), 8939. <https://doi.org/10.3390/app11198939>
- Careghini, A., Mastorgio, A.F., Saponaro, S., Sezenna, E., 2015. Bisphenol A, nonylphenols, benzophenones, and benzotriazoles in soils, groundwater, surface water, sediments, and food: a review. *Environmental Science and Pollution Research* **22**, 5711–5741. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3974-5>
- De Bruin, W., Kritzing, Q., Bornman, R., Korsten, L., 2019. Occurrence, fate and toxic effects of the industrial endocrine disrupter, nonylphenol, on plants – A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **181**, 419–427. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.06.009>

- Diehl, J., Johnson, S.E., Xia, K., West, A., Tomanek, L., 2012. The distribution of 4-nonylphenol in marine organisms of North American Pacific Coast estuaries. *Chemosphere* **87** (5), 490–497. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12>
- Domene, X., Ramírez, W., Solà, L., Alcañiz, J.M., Andrés, P., 2009. Soil pollution by nonylphenol and nonylphenol ethoxylates and their effects to plants and invertebrates. *Journal of Soils and Sediments* **9** (6), 555–567. <https://doi.org/10.1007/s11368-009-0117-6>
- Forte, M., Di Lorenzo, M., Carrizzo, A., Valiante, S., Vecchione, C., Laforgia, V., De Falco, M., 2016. Nonylphenol effects on human prostate non tumorigenic cells. *Toxicology* **357–358**, 21–32. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2016.05.024>
- Gautam, G.J., Chaube, R., Joy, K., 2015. Toxicity and tissue accumulation of 4-nonylphenol in the catfish *Heteropneustes fossilis* with a note on prevalence of 4-NP in water samples. *Endocrine Disruptors* **3** (1), e981442. <https://doi.org/10.4161/23273747.2014.981442>
- Huang, W., Yin, H., Yu, Y., Lu, G., Dang, Z., Chen, Z., 2020. Co-metabolic degradation of tetrabromobisphenol A by *Pseudomonas aeruginosa* and its auto-poisoning effect caused during degradation process. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **202** (1), 110919. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110919>
- Ismanto, A., Hadibarata, T., Kristanti, R.A., Maslukah, L., Safinatunnajah, N., Kusumastuti, W., 2022. Endocrine disrupting chemicals (EDCs) in environmental matrices: Occurrence, fate, health impact, physio-chemical and bioremediation technology. *Environmental Pollution* **302**, 119061. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119061>
- Ivey, C.D., Wang, N., Alvarez, D., Hammer, E.J., Bauer, C.R., 2018. Chronic toxicity of 4-nonylphenol to two unionid mussels in water-only exposures. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **101**, 423–427. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2422-5>
- Jiang, L., Yang, Y., Jia, L.X., Liu, Y., Pan, B., Lin, Y., 2018. Effects of earthworm casts on sorption-desorption, degradation, and bioavailability of nonylphenol in soil. *Environmental Science and Pollution Research* **25**, 7968–7977. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-1130-8>
- Jiang, L., Yang, Y., Zhang, Y., Liu, Y., Pan, B., Wang, B., Lin, Y., 2019. Accumulation and toxicological effects of nonylphenol in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Scientific Reports* **9** (1), 7022. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43550-7>
- Jayaraman, J., 2011. Laboratory manual in Biochemistry. New Age International Publisher Ltd., New Age International Publishers, New Dehli, India, 176 p.
- Kanwal, M., Ullah, H., Gulzar, A., Sadiq, T., Ullah, M. et al., 2022. Biodegradation of petroleum hydrocarbons and the factors effecting rate of biodegradation. *American Journal of Biomedical Science & Research* **16** (1), 6–15. AJBSR.MS.ID.002182. <https://doi.org/10.34297/AJBSR.2022.16.002182>
- Kebede, G., Tafese, T., Abda, E.M., Kamaraj, M., Assefa, F., 2021 Factors influencing the bacterial bioremediation of hydrocarbon contaminants in the soil: mechanisms and impacts. *Hindawi Journal of Chemistry* **2021**, 9823362. <https://doi.org/10.1155/2021/9823362>
- Korshunova, T.Y., Kuzina, E.V., Rafikova, G.F., Loginov, O.N., 2020. Using *Pseudomonas* for cleaning the environment from oil contamination. *EcoBiotech* **3**, 18–32. <https://doi.org/10.31163/2618-964x-2020-3-1-18-32> (In Russian).
- Krige, N.R., Padgett, P.J., 2011. Phenotypic and physiological characterization methods. In: Rainey, F., Oren, A. (eds.), *Methods in Microbiology*. Vol. 38. Academic Press, New York, USA, 15–60. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387730-7.00003-6>

- Kuzikova, I.L., Zaytseva, T.B., Kichko, A.A., Zinoveva, S.V., Russu, A.D., Mayachkina, N.V., Medvedeva, N.G., 2019. Effect of nonylphenols on the abundance and taxonomic structure of the soil microbial community. *Eurasian Soil Science* **52**, (6), 671–681. <https://doi.org/10.1134/S1064229319060073>
- Kuzikova, I., Rybalchenko, O., Kurashov, E., Krylova, Y., Safronova, V., Medvedeva, N., 2020. Defense responses of the marine-derived fungus *Aspergillus tubingensis* to alkylphenols stress. *Water, Air, & Soil Pollution* **231** (6), 271. <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04639-2>
- Kuzikova, I., Andronov, E., Zaytseva, T., Metelkova, L., Zhakovskaya, Z., Medvedeva, N., 2022. A microcosm approach for evaluating the microbial nonylphenol and butyltin biodegradation and bacterial community shifts in co-contaminated bottom sediments from the Gulf of Finland, the Baltic Sea. *Environmental Science and Pollution Research* **29** (46), 69849–69860. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20751-8>
- Laht, M., Volkov, E., 2011. Identification of sources and estimation of inputs/impacts on the Baltic Sea. Cohiba Project “Control of Hazardous Substances in the Baltic Sea Region”. Summary Report, Estonia, Tallinn, 446 p.
- Lotfi, M., Hasanpour, A.H, Moghadamnia, A.A, Kazemi, S., 2021. The investigation into neurotoxicity mechanisms of nonylphenol: A narrative review. *Current Neuropharmacology* **19**, 1345–1353. <https://doi.org/10.2174/1570159X18666201119160347>
- Ma, J., Chen, F., Tang, Y., Wang, X., 2018. Research on degradation characteristics of nonylphenol in water by highly effective complex microorganisms. *E3S Web of Conferences* **53**, 04016. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/20185304016>
- Medvedeva, N., Zaytseva, T., Kuzikova, I., 2017. Cellular responses and bioremoval of nonylphenol by the bloom-forming cyanobacterium *Planktothrix agardhii* 1113. *Journal of Marine Systems* **171**, 120–128. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmarsys.2017.01.009>
- Merkova, M., Zalesak, M., Ringlova, E., Julinova, M., Ruzicka, J., 2018. Degradation of the surfactant Cocamidopropyl betaine by two bacterial strains isolated from activated sludge. *International Biodeterioration & Biodegradation* **127**, 236–240. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.12.006>
- Noorimotlagh, Z., Mirzaee, S.A., Martinez, S.S., Rachoń, D., Hoseinzadeh, M., Jaafarzadeh, N., 2020. Environmental exposure to nonylphenol and cancer progression Risk – A systematic review. *Environmental Research* **184**, 109263. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109263>
- Paoella, G., Romanelli, A.M., Martucciello, S., Sposito, S., Lepretti, M. et al., 2021. The mechanism of cytotoxicity of 4-nonylphenol in a human hepatic cell line involves ER-stress, apoptosis, and mitochondrial dysfunction. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* **35** (7), e22780. <https://doi.org/10.1002/jbt.22780>
- Pischedda, A., Tosin, M., Degli-Innocenti, F., 2019. Biodegradation of plastics in soil: The effect of temperature. *Polymer Degradation and Stability* **170**, 109017. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2019.109017>
- Qhanya, L.B., Mthakathi, N.T., Boucher, C.E., Mashele, S.S., Theron, C.W., Syed, K., 2017. Isolation and characterisation of endocrine disruptor nonylphenol using bacteria from South Africa. *South African Journal of Science* **113** (5–6). <http://dx.doi.org/10.17159/sajs.2017/20160287>
- Ravi, K., Javier, G-H., Nöbel, M., Grauslund, M-F., Lidén, G., 2018. Biological conversion of aromatic monolignol compounds by a *Pseudomonas* isolate from sediments of the Baltic Sea. *AMB Express* **8** (1), 32. <http://dx.doi.org/10.1186/s13568-018-0563-x>

- Ribeiro, A.R., Nunes, O.C., Pereira, M.F.R., Silva, A.M.T., 2015. An overview on the advanced oxidation processes applied for the treatment of water pollutants defined in the recently launched Directive 2013/39/EU. *Environment International* **75**, 33–51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2014.10.027>
- Sebiomo, A., Banjo, F.M., Ade-Ogunnowo, F.E., Fagbemi, F.T., 2017. Microbial population, dehydrogenase and urease activities in soils polluted with spent engine and diesel oil. *African Journal of Science & Nature* **4**, 56–65. <https://doi.org/10.46881/ajsn.v4i0.84>
- Shah, M.P., 2018. Microbial degradation of phenol by an application of *Pseudomonas mendocina*. *Austin Journal of Microbiology* **4** (2), 1022.
- Shirdel, I., Kalbassi, M.R., 2016. Effects of nonylphenol on key hormonal balances and histopathology of the endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* **183–184**, 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2016.01.003>
- Sole, M., Lopez de Alda, M.J., Castillo, M., Porte, C., Ladegaard-Pedersen, K., Barcelo, D., 2000. Estrogenicity determination in sewage treatment plants and surface waters from Catalonian area (NE Spain). *Environmental Science & Technology* **34** (24), 5076–5083. <http://dx.doi.org/10.1021/es991335n>
- Spadoto, M., Sueitt, A.P.E., Galinaro, C.A., Pinto, T. da S., Pompei, C.M.E., Botta, C.M.R., Vieira, E.M., 2017. Ecotoxicological effects of bisphenol A and nonylphenol on the freshwater cladocerans *Ceriodaphnia silvestrii* and *Daphnia similis*. *Drug and Chemical Toxicology* **41** (4), 449–458. <https://doi.org/10.1080/01480545.2017.1381109>
- Suen, J.-L., Hung, C.-H., Yu, H.-S., Huang, S.-K., 2012. Alkylphenols – potential modulators of the allergic response. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences* **28** (7 Suppl), S43–S48. <https://doi.org/10.1016/j.kjms.2012.05.009>
- Surkatti, R., El-Naas, M.H., 2017. Competitive interference during the biodegradation of cresols. *International Journal of Environmental Science and Technology* **15** (2), 301–308. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1383-2>
- Wang, Z., Yang, Y.Y., He, T., Xie, S.G., 2015. Change of microbial community structure and functional gene abundance in nonylphenol-degrading sediment. *Applied Microbiology and Biotechnology* **99**, 3259–3268. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6222-5>
- Wang, L., Xiao, H., He, N., Sun, D., Duan, S., 2019. Biosorption and biodegradation of the environmental hormone nonylphenol by four marine microalgae. *Scientific Reports* **9**, 5377. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41808-8>
- Watanabe, W., Hori, Y., Nishimura, S., Takagi, A., Kikuchi, M., Sawai, J., 2012. Bacterial degradation and reduction in the estrogen activity of 4-nonylphenol. *Biocontrol Science* **17** (3), 143–147. <https://doi.org/10.4265/bio.17.143>
- Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A., Lane, D.J., 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology* **173** (2), 697–703. <https://doi.org/10.1128/jb.173.2.697-703.1991>
- Xie, Y., Pan, Y., Bai, B., Xu, Z., Ding, L. et al., 2015. Degradation performance and optimal parameters of two bacteria in degrading nonylphenol. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience* **12** (9), 2657–2663. <https://doi.org/10.1166/jctn.2015.4159>
- Zaytseva, T.B., Zinoveva, S.V., Kuzikova, I.L., Russu, A.D., Chugunova, M.V., Medvedeva, N.G., 2020. Impact of nonylphenols on biological activity of loamy soddy-podzolic soil. *Eurasian Soil Science* **53** (5), 661–667. <https://doi.org/10.1134/s1064229320050178>