

**ІДЕНТИФІКАЦІЯ ШТАМУ БІОХІМІЧНО-АКТИВНОГО МІКРООРГАНІЗМУ,
ВИДІЛЕНОГО ІЗ ЗАБРУДНЕНОГО НАФТОЮ ГРУНТУ О. ЗМІЙНИЙ**

*Горщикова О. Г., Коротаєва Н. В., Воловач О. В., Ільченко О. М., Самофалов М. О.
Грунь І. О., Горба Л. О., Хаджи В. Д., Лазовська Л. С.*

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Шампанський пров. 2, Одеса,
5800, Україна

Пошук мікроорганізмів, здатних за екстремальних умов навколишнього середовища (забрудненість нафтою і нафтопродуктами, синтетичними поверхнево-активними речовинами, підвищена солоність тощо) зберігати біохімічну активність відкриває перед біотехнологами перспективні межі їх використання у складі нових препаратів екобіотехнологічного призначення.

Як об'єкт дослідження використовували аборигенний штам мікроорганізму ОЗ-3, що був виділений у 2014 р. із ділянки нафтозабрудненого ґрунту о. Зміїний. Попередньо перед аналізом жирнокислотного складу (ЖКС) клітинних ліпідів штаму *г* ОЗ-3, за сукупністю морфологічних, культуральних, фізіолого-біохімічних ознак визначили його приналежність до бактерій роду *Microbacterium sp.* ОЗ-3 і експериментально підтвердили його нафтоокиснювальну активність та здатність руйнувати аніонні поверхнево-активні речовини. Виявлені якісні та кількісні показники ЖКС штаму *Microbacterium sp.* ОЗ-3 порівнювали зі складом жирних кислот (ЖК) ліпідів клітин штаму *Pseudomonas maltophilia* ONU329, розшифрованим нами раніше і представленим у роботі [1]. Штам *P. maltophilia* ONU329 теж володіє високою нафтоокиснювальною здатністю [2] і на сьогоднішній день зберігається в колекції мікроорганізмів кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології Одеського національного університету імені І.І. Мечникова.

За ЖКС, спектр якого було одержано на газовому хроматографі Agilent 7890 (Agilent Technologies, USA) і розшифровано з використанням бібліотечної бази даних RTSBA6 6.2 програми MIDI Sherlock, аборигенний штам *Microbacterium sp.* ОЗ-3 з індексом схожості Sim Index = 0,942 ідентифіковано як *Microbacterium barkeri* (*Aureobacterium, Corynebacterium*). Його спектр характеризувався значним вмістом розгалужених ЖК: 12-метилтетрадеканової C_{15:0} anteiso (46,4%), 14-метилгексадеканової C_{17:0} anteiso (27,0%) та 14-метилпентадеканової C_{16:0} iso (16,9%) кислот. 12-метилтетрадеканова кислота теж є основною у складі клітинних ліпідів

колекційного штаму *P. maltophilia* ONU329, але її кількісний вміст у загальному жирнокислотному пулі у 2,7 рази менший і складав 17,4%. Насичена ЖК розгалуженої будови C_{17:0 iso} (1,7% від загальної суми площі піків) виявилась маркерною для досліджуваного аборигенного штаму бактерій роду. До речі, саме 15-метилгексадеканова (C_{17:0 iso}) і 14-метилгексадеканова (C_{17:0 anteiso}) кислоти були відсутні у складі клітинних ліпідів клітин колекційного штаму бактерій *P. maltophilia* ONU329 [1]. Виявлене не дозволяє розраховувати для бактерій роду *Pseudomonas* величини [C_{17:0 anteiso}/ C_{17:0 iso}] і [C_{15:0 anteiso}/ C_{17:0 anteiso}], що по суті є відмінними біомаркерними величинами, за якими можна відрізнити бактерії роду *Microbacterium spp.* від бактерій роду *Pseudomonas spp.* Також у спектрі ЖК штаму *M. barkeri* ОЗ-3 реєструвались на відміну від спектру ЖК штаму *P. maltophilia* ONU329 у формі iso і anteiso слідові кількості таких ЖК, як C_{18:0 iso} (0,06%) і C_{19:0 anteiso} (0,03%).

У спектрі жирних кислот при аналізі жирнокислотного профілю штаму *M. barkeri* ОЗ-3 із насичених ЖК нормальної будови не спостерігались, як і у складі клітинних ліпідів штаму *P. maltophilia* ONU 329, жирно кислотні гомологи з парним числом атомів карбону: деканова (C_{10:0}) і додеканова (C_{12:0}) кислоти та жирно-кислотний гомолог з непарним числом атомів карбону - пентадеканова кислота C_{15:0}. Особливістю жирнокислотного профілю *M. barkeri* ОЗ-3 на відміну від жирнокислотного профілю *P. maltophilia* ONU 329 є те, що в ньому, хоча і в малій кількості (0,08%), але реєструється гептадеканова кислота (C_{17:0}). В спектрі ЖК аборигенного штаму виявлено пікі, відповідні 2- та 3- гідроксикислотам. Довголанцюгові насичені та ненасичені гідроксикислоти: C_{16:1} 2ОН (0,05%), C_{16:0 iso} 3ОН (0,08%), C_{17:0} 2ОН (0,11%), C_{17:0} 3ОН (0,05%), C_{18:1} 2ОН (0,16%), виявлено сумарно порівняно з сумарною часткою насичених ЖК (0,08-0,10%) у більшій кількості (0,35-0,40%). Необхідно підкреслити, що до складу клітинних ліпідів штаму *P. maltophilia* ONU329 теж входили гідроксикислоти, але в значно більшій кількості від 7,4% та з загальним числом атомів карбону від 10 до 13.

Таким чином, за результатами визначення складу ЖК клітинних ліпідів штами бактерій, виділений з нафтозабрудненого ґрунту о. Зміїний, був ідентифікований як *Microbacterium barkeri* ОЗ-3. Відмічені особливості його жирнокислотного профілю систематизовано та може бути використано в якості допоміжного ключа для його диференціації як на родовому, так і на видовому рівні (за результатами дослідження клітинного жирнокислотного складу) від інших мікроорганізмів. Пропонуємо через наявні окиснювальні властивості щодо нафтопродуктів і синтетичних поверхнево-активних речовин використовувати нафтоокиснювальні штами *M. barkeri* ОЗ-3 і *P. maltophilia* ONU 329 при складанні нового біопрепарату в асоціативній комбінації у біотехнологіях очистки навколишнього середовища від різних органічних забруднювачів.

Література

1. Склад жирних кислот ліпідів нафтоокиснювальних штамів бактерій роду *Pseudomonas* / Т. В. Гудзенко, Н. В. Коротчаєва, О. В. Волочач [та ін.] // Мікробіологія і біотехнологія. – 2014. – № 3(27). – С. 31–40.
2. Нафтоокиснювальна активність деяких штамів бактерій роду *Pseudomonas* / Т. В. Гудзенко, О. В. Волочач, Т. О. Беляєва [та ін.] // Мікробіологія і біотехнологія. – 2013, № 4. – С. 72–80.