

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА

МІКРОБІОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ
MICROBIOLOGY & BIOTECHNOLOGY

Науковий журнал
Виходить 3 рази на рік
Засновано у липні 2006 року

№ 3(53)
2021

Одеса
ОНУ
2021

Засновник
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Свідоцтво про державну реєстрацію: серія КВ № 19409 від 17.08.2012 р.

ГОЛОВНИЙ РЕДАКТОР
В. О. Іваниця (Одеса, Україна)
ЗАСТУПНИК ГОЛОВНОГО РЕДАКТОРА
Т. О. Філіпова (Одеса, Україна)
ВІДПОВІДАЛЬНИЙ СЕКРЕТАР
Т. В. Бурлака (Одеса, Україна)

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ
А. Анадон (Мадрид, Іспанія), Л. Д. Варбанець (Київ, Україна), А. І. Вінніков (Дніпро, Україна),
Б. М. Галкін (Одеса, Україна), Г. О. Іутинська (Київ, Україна), Л. В. Капрельянц (Одеса, Україна),
І. К. Курдиш (Київ, Україна), І. П. Метеліцина (Одеса, Україна), Ф. Моцці (Тукуман, Аргентина),
І. І. Панчук (Чернівці, Україна), М. В. Патика (Київ, Україна), В. С. Підгорський (Київ, Україна),
Л. М. Сківка (Київ, Україна), Л. Ф. Суходуб (Суми, Україна), Ф. І. Товкач (Київ, Україна),
Н. Чанішвілі (Тбілісі, Грузія).

Науковий редактор випуску В. О. Іваниця

Прийняті до друку статті обов'язково рецензуються
Затверджено до друку Вченою радою
Одеського національного університету імені І. І. Мечникова

Відповідно до наказу МОН України № 1301 від 15.10.2019 р.
входить до Переліку наукових фахових видань України (категорія «Б»).

Видання реферується та індексується в наукометричних базах даних: «Україніка наукова», Index Copernicus Journals Master list, Наукова періодика України (Національна бібліотека України імені В. І. Вернадського), Ulrich's periodicals, Електронний архів-репозитарій Одеського національного університету імені І. І. Мечникова, Наукова періодика України (journal.uran.ua), Google Академія, Base-search, Citefactor, Advanced, Sciences Index. Research Bib, Наукова електронна бібліотека e-LIBRARY, IBI Factor

Завідувач редакцією Н. Г. Юргелайтіс
Редактори: Т. В. Іваниця, І. В. Райко
Адреса редакції:
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна. Тел.: +38 (048) 723-28-39,
e-mail: journal.mbt@onu.edu.ua
<http://mbt.onu.edu.ua>

© Одеський національний університет
імені І. І. Мечникова, 2021

Establisher
by Odesa National Mechnykov University.
Registration of state certification: KB № 19409. Date of issue 17.08.2012.

EDITOR-IN-CHIEF

V. O. Ivanytsia (Odesa, Ukraine)

CO-EDITOR-IN-CHIEF

T. O. Filipova (Odesa, Ukraine)

EXECUTIVE SECRETARY

T. V. Burlaka (Odesa, Ukraine)

EDITORIAL BOARD MEMBERS

A. Anadon (Madrid, Espana), N. Chanishvili (Tbilisi, Geordgia), B. M. Galkin (Odesa, Ukraine),
G. O. Iutynska (Kyiv, Ukraine), L. V. Kapreliants (Odesa, Ukraine), I. K. Kurdish (Kyiv, Ukraine),
I. P. Metelitsyna (Odesa, Ukraine), F. Mozzi (Tucuman, Argentina), I. I. Panchuk (Chernivtsi, Ukraine),
M. V. Patyka (Kyiv, Ukraine), V. S. Pidgorskyi (Kyiv, Ukraine), L. M. Skivka (Kyiv, Ukraine),
L. F. Sukhodub (Sumy, Ukraine) F. I. Tovkach (Kyiv, Ukraine), L. D. Varbanets (Kyiv, Ukraine),
A. I. Vinnikov (Dnipropetrovsk, Ukraine),

Scientific editor V. O. Ivanytsia

Accepted for publishing articles are reviewed

Approved for publishing by Academic Council
of Odesa National Mechnykov University

**According to the order of the Ministry of Education and Science of Ukraine № 1301 from
15.10.2019 it is included in the List of scientific professional editions of Ukraine
(category "B").**

**The edition is referenced and indexed in the scientific metric databases: «Ukrainika
scientific», Index Copernicus Journals Master List, Scientific Periodicals in National
Library of Ukraine Vernadsky, Ulrich's periodicals, Scientific Periodicals of Ukraine
(journal.uran.ua), Institutional Repository at Odesa I. I. Mechnykov National University,
Google Scholar, Base-search, Citefactor, Advanced, Sciences Research Bib, e-LIBRARY,
IBI Factor**

Publishing editor N. G. Yurgelaitis

Editors: T. V. Ivanytsia, I. V. Raiko

A d d r e s s:

Odesa National Mechnykov University,

Dvoryanska str., 2, Odesa, 65082, Ukraine Tel.: +38 (048) 723-28-39,

e-mail: journal.mbt@onu.edu.ua

<http://mbt.onu.edu.ua>

© Odesa National Mechnykov
University, 2021

ЗМІСТ

ОГЛЯДОВІ ПРАЦІ

Б.М. Галкін, М.О. Фіногенова, А.С. Семенець, М.Б. Галкін, Т.О. Філіпова БІОСУРФАКТАНТИ МОРСЬКИХ МІКРООРГАНІЗМІВ: І. СТРУКТУРА ТА ФУНКЦІЇ	6
---	---

К.С. Потапенко, Н.В. Коротаєва, В.О. Іваниця ВТОРИННІ МЕТАБОЛІТИ МОРСЬКИХ АКТИНОБАКТЕРІЙ З АНТИБІОТИЧНОЮ АКТИВНІСТЮ	28
--	----

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ПРАЦІ

С.Я. Комплікевич, О.Д. Масловська, Б. Перетятко, О.М. Мороз, І.Ю. Парнікоза, С.О. Гнатуш ВИДІЛЕННЯ БАКТЕРІЙ З МІСЦЯ ХАРЧОВОЇ І ГНІЗДОВОЇ АКТИВНОСТІ <i>LARUS DOMINICANUS</i> (О. ГАЛІНДЕЗ, МОРСЬКА АНТАРКТИКА) ТА ЇХНЯ ХАРАКТЕРИСТИКА	44
---	----

Н.В. Коротаєва, К.С. Потапенко, І.В. Страшнова, І.П. Метеліцина, В.О. Іваниця СПЕКТРИ ЖИРНИХ КИСЛОТ АКТИНОБАКТЕРІЙ З БІОЛОГІЧНИХ ОБРОСТАНЬ ОДЕСЬКОЇ ЗАТОКИ ЧОРНОГО МОРЯ	60
--	----

М.О. Фіногенова, М.Б. Галкін, А.С. Семенець, І.В. Пріщенко, Г.С. Калєва, Б.М. Галкін, І.П. Метеліцина, Т.О. Філіпова СИНТЕЗ БІОСУРФАКТАНТІВ БАКТЕРІЯМИ <i>PSEUDOMONAS</i> <i>AERUGINOSA</i> , ІЗОЛЬОВАНИМИ З ПОВЕРХНІ МУШЕЛЬ МІДІЙ ЧОРНОГО МОРЯ	71
---	----

Н.В. Коротаєва, І.В. Страшнова, Н.Ю. Васильєва, К.С. Потапенко, І.П. Метеліцина, Т.О. Філіпова, В.О. Іваниця ХАРАКТЕРИСТИКА АКТИНОБАКТЕРІЙ, ІЗОЛЬОВАНИХ ІЗ <i>MYTILUS</i> <i>GALLOPROVINCIALIS</i> ОДЕСЬКОЇ ЗАТОКИ ЧОРНОГО МОРЯ	84
--	----

ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ ДЛЯ АВТОРІВ	99
---	----

CONTENTS

OBSERVATION AND THEORETICAL ARTICLES

- B.N. Galkin, M.O. Finogenova, A.S. Semenets, M.B. Galkin,
T.O. Filipova**
BIOSURFACTANTS FROM MARINE MICROORGANISMS: I. STRUCTURE
AND FUNCTIONS 6
- K.S. Potapenko, N.V. Korotaieva, V.O. Ivanytsia**
SECONDARY METABOLITES OF MARINE ACTINOBACTERIA WITH
ANTIBIOTIC ACTIVITY 28

EXPERIMENTAL WORKS

- S.Ya. Komplikevych, O.D. Maslovska, T.B. Peretyatko, O.M. Moroz,
I.Y. Parnikoza, S.O. Hnatush**
ISOLATION OF BACTERIA FROM THE SITES OF FEED AND NESTING ACTIVITY
OF *LARUS DOMINICANUS* (GALINDEZ ISLAND, THE MARITIME ANTARCTIC)
AND THEIR CHARACTERISTICS 44
- N.V. Korotaeva, K.S. Potapenko, I.V. Strashnova, I.P. Metelitsyna,
V.O. Ivanytsia**
THE COMPOSITION OF CELLULAR FATTY ACIDS OF ACTINOBACTERIA
FROM THE SURFACES OF BIOLOGICAL GROWTH OF THE ODESA GULF
OF THE BLACK SEA 60
- M.O. Finogenova, M.B. Galkin, A.S. Semenets, G.S. Kaleva,
I.V. Prishchenko, B.M. Galkin, I.P. Metelitsyna, T.O. Filipova**
BIOSURFACTANTS SYNTHESIS BY *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*
BACTERIA ISOLATED FROM THE SURFACE OF MUSSELS
OF THE BLACK SEA 71
- N.V. Korotaeva, I.V. Strashnova, N.Yu. Vasylieva, K.S. Potapenko,
I.P. Metelitsyna, T.O. Filipova, V.O. Ivanytsia**
CHARACTERISTICS OF ACTINOBACTERIA FROM MYTILUS
GALLOPROVINCIALIS OF ODESSA GULF 84
- INSTRUCTIONS FOR THE AUTHORS 99

ОГЛЯДОВІ ПРАЦІ

DOI: [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2021.3\(53\).242877](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2021.3(53).242877)

УДК 579.26(0.17.8)

**Б.М. Галкін, М.О. Фіногенова, А.С. Семенець,
М.Б. Галкін, Т.О. Філіпова**

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,
тел.: +380482635761, e-mail: bgalkin@ukr.net

БІОСУРФАКТАНТИ МОРСЬКИХ МІКРООРГАНІЗМІВ: І. СТРУКТУРА ТА ФУНКЦІЇ

*Морські мікроорганізми мають унікальні метаболічні та фізіологічні особливості і є важливим джерелом нових біомолекул, зокрема, таких як поверхнево-активні речовини (Біо-ПАР). Низькомолекулярні біосурфактанти представлені гліколіпідами, фосфоліпідами, жирними кислотами, ліпопептидами та ліпопротеїдами, а високомолекулярні – сумішами гетерополіцукридів, ліпополіцукридів, ліпопротеїдів та білків. Основні роди бактерій, які виробляють Біо-ПАР це *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Antarctobacter*, *Rhodococcus*, *Halomonas*, *Alcanivorax*, *Pseudoalteromonas* та *Marinobacter*. У огляді розглядаються структура та функції Біо-ПАР, виділених з морських мікроорганізмів.*

Ключові слова: морські мікроорганізми, Біо-ПАР, гліколіпіди, фосфоліпіди, жирні кислоти, ліпопептиди, ліпопротеїди, гетерополіцукри, ліпополіцукриди

Морське середовище є величезним джерелом природних сполук, які мають біологічну активність [8, 46]. Морські мікроорганізми мають унікальні метаболічні та фізіологічні властивості, які надають їм можливість виживати в екстремальних умовах: більш високий рівень гідрофобності поверхні клітин, підвищена здатність до адгезії та утворення біоплівки, і, отже, виробляти нові метаболіти, які не синтезуються ґрунтовими та наземними представниками тих самих видів [13, 55]. Отже, морське середовище має великі перспективи щодо пошуку нових біоактивних сполук, включаючи антибіотики, ферменти, вітаміни, ліки та Біо-ПАР (біоповверхневі активні речовини) [8, 54, 59]. Поверхнево-активні сполуки, синтезовані мікроорганізмами, мають різноманітні хімічні структури, включаючи гліколіпіди, ліпопептиди, поліцукридно-білкові комплекси, фосфоліпіди, жирні кислоти та нейтральні ліпіди [24, 55, 59].

Завдяки своїй амфіпатичній природі ПАР (поверхнево-активні речовини) виявляють різноманітну поверхневу активність, що дозволяє застосовувати їх у декількох процесах, пов'язаних з емульгуванням, піноутворенням.

© Б.М. Галкін, М.О. Фіногенова, А.С. Семенець, М.Б. Галкін, Т.О. Філіпова, 2021



Вони є детергентами, та солюбілізують гідрофобні сполуки [5, 39]. Біо-ПАР мають подібні або кращі показники порівняно з синтетичними ПАР. У них нижча токсичність, вища біологічна активність та ефективність за екстремальних температур, солоності та значеннях рН. Все це робить їх альтернативою хімічним сурфактантам. Біо-ПАР використовуються в різних галузях таких як сільське господарство, харчова, косметична або нафтова промисловість, а також у біоремедіації [5, 20, 39, 50, 51]. Крім того, деякі Біо-ПАР проявляють антибактеріальну, протигрибкову, противірусну або протипухлинну активності, що робить їх потенційними альтернативами звичайним терапевтичним засобам. [5, 22, 24, 39, 55]. Мікроорганізми, що виробляють Біо-ПАР мешкають як у воді (море, прісна вода та підземні води), так і у ґрунті, осадах та мулі, а також у середовищах, що характеризуються екстремальними умовами рН, температури або солоності [1, 7, 31, 55, 69]. Завдяки унікальним екологічним умовам морське середовище є хорошим джерелом для виділення нових мікроорганізмів, що виробляють Біо-ПАР. Повідомляється про значну кількість морських мікроорганізмів, здатних продукувати Біо-ПАР з різною структурою. Однак слід враховувати, що переважна більшість морського мікробного різноманіття залишається невивченою, головним чином через труднощі вирощування морських мікроорганізмів в лабораторних умовах [27, 28, 54, 60]. У цьому огляді розглядаються структура та фізіологічні функції біосурфактантів, що виробляються морськими мікроорганізмами.

Види та хімічні структури Біо-ПАР

Біо-ПАР – це поверхнево-активні амфифільні сполуки, отримані з біологічних джерел (мікроорганізмів, рослин або тварин). Як правило, мікроорганізми, такі як бактерії, дріжджі та археї, є найбільш комерційно перспективними для одержання Біо-ПАР завдяки їх величезному геномному різноманіттю. Ці сполуки можуть зв'язуватися з клітинною стінкою мікроорганізму (наприклад, Біо-ПАР екзополіцукридної природи) або знаходитися у позаклітинній рідині (низькомолекулярні біосурфактанти) [58]. Завдяки своїм амфифільним властивостям Біо-ПАР можуть розчинятися як у полярних, так і в неполярних розчинниках [15]. Ефективність поверхнево-активної речовини визначається її здатністю знижувати поверхневий натяг (ПН) та міжфазний натяг (МФН) між двома фазами, що не змішуються (наприклад, повітря/рідина та неполярні/полярні рідини, відповідно). ПН – це сила, що діє на одиницю довжини лінії, яка обмежує поверхню рідини. За присутності сурфактантів потрібно менше сили для виведення молекули на поверхню, що призводить до зниження коефіцієнта поверхневого натягу. Вважається, що ефективний біосурфактант повинен зменшувати ПН води з 72 до < 35 мН/м, а МФН для води проти *n*-гексадекану з 40 до 1 мН/м [40]. Іншим показником ефективного Біо-ПАР є низька критична концентрація міцел (ККМ). За визначенням, ККМ є мінімальною концентрацією поверхнево-активної речовини, яка ініціює утворення міцел, і, як правило, корелює з ПМ та МФН [41]. Чим нижче ККМ, тим менше потрібно Біо-ПАР для зменшення ПМ або МФН.

Хімічний склад біосурфактантів різних видів мікроорганізмів є дуже відмінним. Тому Біо-ПАР класифікуються за їх молекулярною масою або за



хімічною структурою. На основі молекулярної маси поверхнево-активні сполуки поділяються на низькомолекулярні, які зменшують поверхневий натяг між двома рідинами, що не змішуються, та високомолекулярні емульгатори, які сприяють утворенню емульсій (олія у воді або вода в олії). Останні також називають полімерними поверхнево-активними речовинами (або біоемульгаторами) і зазвичай вони представлені екзополіцукридами (ЕПС).

Основними хімічними структурами низькомолекулярних Біо-ПАР є гліколіпіди, фосфоліпіди та жирні кислоти, ліпопептиди та ліпопротеїди [6, 38, 56]. Гліколіпіди є найбільш вивченими Біо-ПАР і складаються з різних цукрів пов'язаних з β-гідрокси жирними кислотами (вуглеводна головка та ліпідний хвіст), тоді як ліпопептиди складаються з циклогептапептидів з амінокислотами, пов'язаними з жирними кислотами з різною довжиною ланцюга (рис. 1–7) [64]. Так, рамноліпіди, що синтезуються бактеріями *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia thailandensis*, *Marinobacter sp.* штам МСТГ107b, містять один або два залишки рамнози та один або два залишки жирних кислот [17, 23, 62, 63].

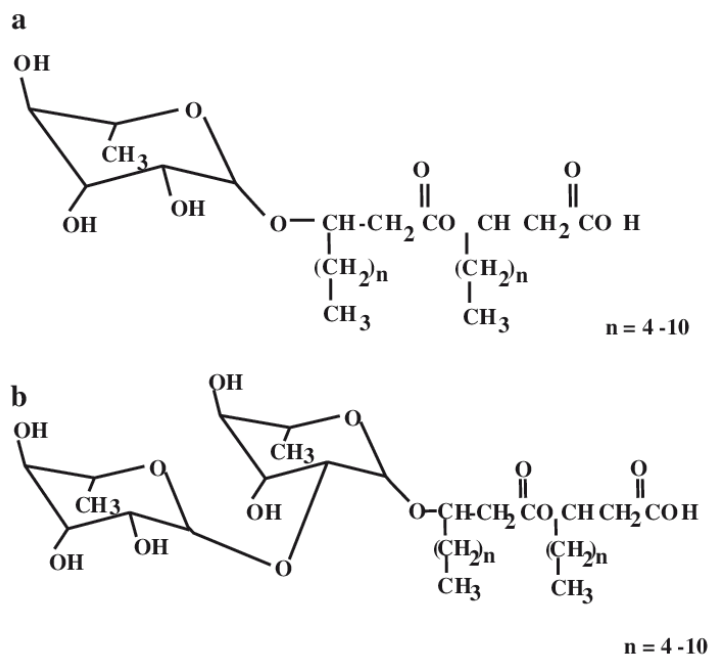


Рис. 1. Хімічна структура рамноліпідів; а - монорамноліпід; б - дирамноліпід [17]

Fig. 1. Chemical structure of rhamnolipids; a - monorhamnolipid; b - diramnolipid [17]

Софороліпіди синтезуються непатогенними видами дріжджів *Candida apicola*, *Rhodotorula bogoriensis*, *Wickerhamiella domercqiae* та *Starmerella bombicola* [65]. Вони складаються з дисахариду софорози і довголанцюгових жирних кислот (C16–C18).

Різні типи гліколіпідів, що містять трегалозу, виробляються кількома мікроорганізмами, що належать до *Mycobacterium*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*,



Nocardia та *Gordonia*. Трегалозний цукор може бути зв'язаним як з коротко-так і з довголанцюговими жирними кислотами (від C6 до C90). На рис. 3 наведена структура трегалозоліпиду, що синтезується *Rhodococcus erythropolis* [48].

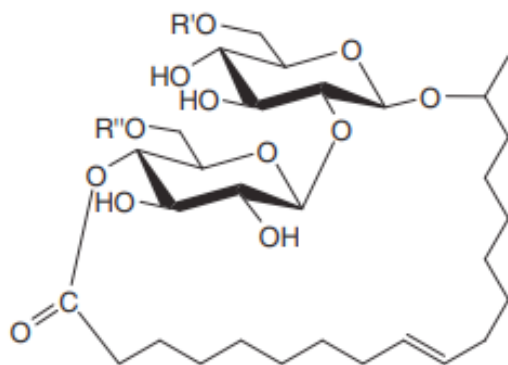


Рис. 2. Хімічна структура софороліпідів, R' і R'' – довголанцюгові жирні кислоти (C16–C18) [65]

Fig. 2. Chemical structure of sophorolipid R' і R'' – long-chain fatty acids (C16 – C18) [65]

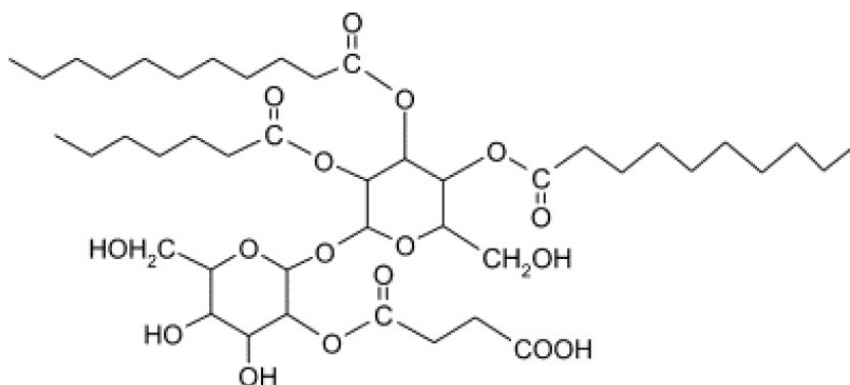


Рис. 3. Хімічна структура трегалозного ліпиду *Rhodococcus erythropolis* [48]

Fig. 3. Chemical structure of trehalose lipid *Rhodococcus erythropolis* [48]

Дріжджі *Candida antarctica* та *Pseudozyma* spp. Синтезують манозилеритрол ліпиди, в яких манопіранозил-мезо-еритритол пов'язаний з довголанцюговими жирними кислотами [3, 45].

Ліпопептидні Біо-ПАР складається з гідрофобного амінокислотного кільця довгого ланцюга жирних кислот [32,67]. Як правило, вони синтезуються представниками роду *Bacillus*. Але віскозіна, подібний до сурфактину, що синтезується *Pseudomonas fluorescens* [19].

Високомолекулярні біоемульгатори є більш складними, ніж біоповірнево-активні речовини з низькою молекулярною масою і складаються з сумішей гетерополіцукридів, ліпополіцукридів, ліпопротеїдів та білків. Подібно

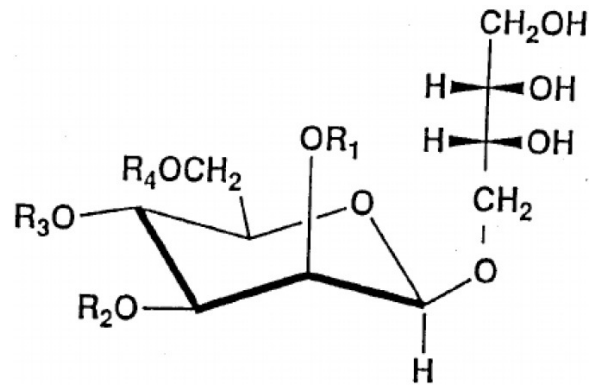


Рис. 4. Хімічна структура манозилеритрол ліпиду [3, 45]

Fig. 4. Chemical structure of mannosylerythritol lipid [3, 45]

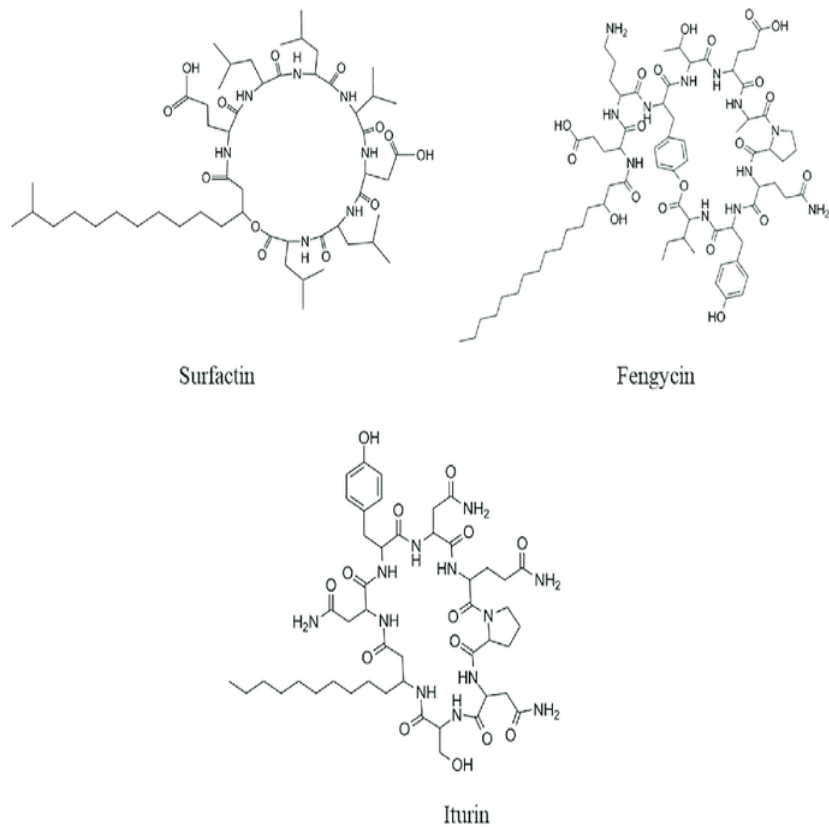


Рис. 5. Хімічні структури ліпопептидів сурфактину, ітуруну та фенгіцину, що синтезуються *Bacillus subtilis*. [32, 67]

Fig. 5. Chemical structure of lipopeptides surfactin, iturin and fengycin are synthesized by *Bacillus subtilis*. [32, 67]



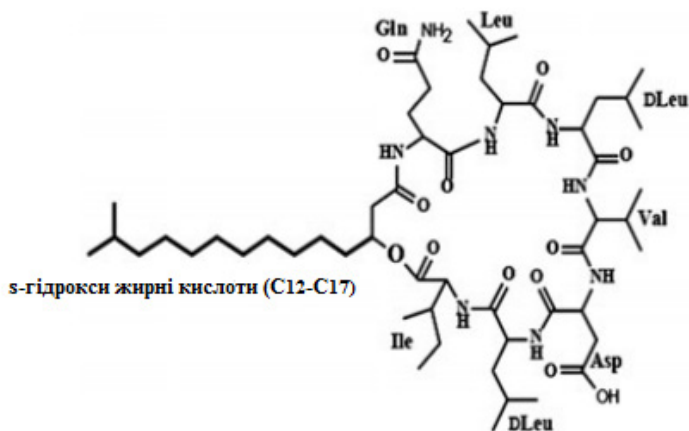


Рис. 6. Хімічна структура лихенізіну, що синтезується *Bacillus licheniformis* [18]

Fig. 6. Chemical structure of lichenysin is synthesized by *Bacillus licheniformis* [18]

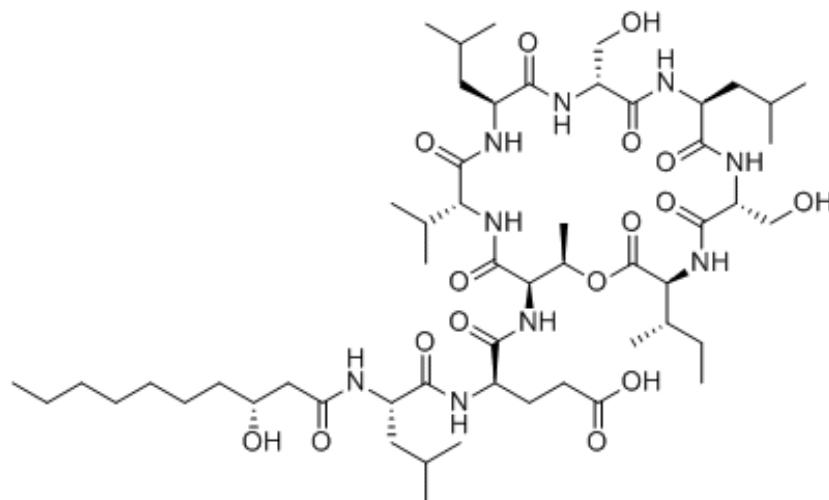


Рис. 7. Хімічна структура віскозіну *Pseudomonas fluorescens*. [19]

Fig. 7. Chemical structure of viscosine *Pseudomonas fluorescens* [19]

до низькомолекулярних біоповітряних речовин, ці молекули або їх суміші можуть ефективно емульгувати дві рідини, що не змішуються (наприклад, олію та воду), але менш здатні знижувати поверхневий натяг. У забрудненому нафтою середовищі високомолекулярні біоемульгатори щільно зв'язуються з дисперсними вуглеводнями, запобігаючи злипанню та «розриву» крапель нафти. Цей процес відомий як стабілізація емульсії і пояснюється великою кількістю реакційноздатних груп в їх структурах [64]. Найбільш вивченими мікробними високомолекулярними біоемульгаторами є емульсан, аласан, ліпосан, сфінган та ксантанова камедь (рис. 8, 9). Емульсан є комплексом ліпогетерополицукридів (апоемульсан) та білка [64].

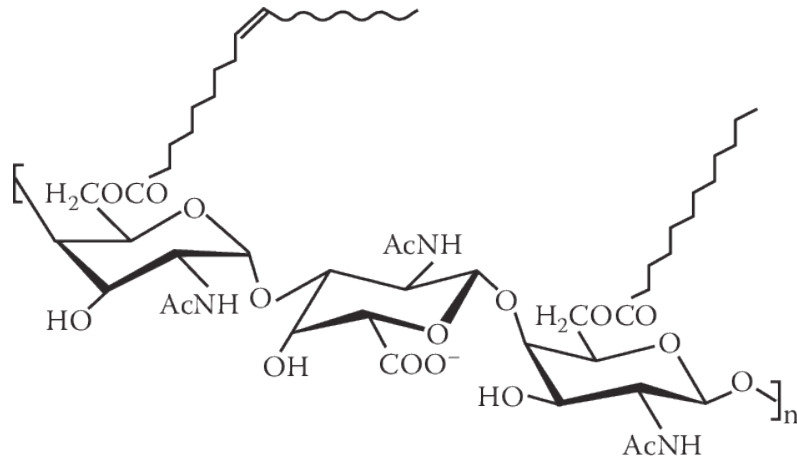


Рис. 8. Хімічна структура емульсану, що синтезується *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 [64]

Fig. 8. Chemical structure of emulsan, synthesized by *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 [64]

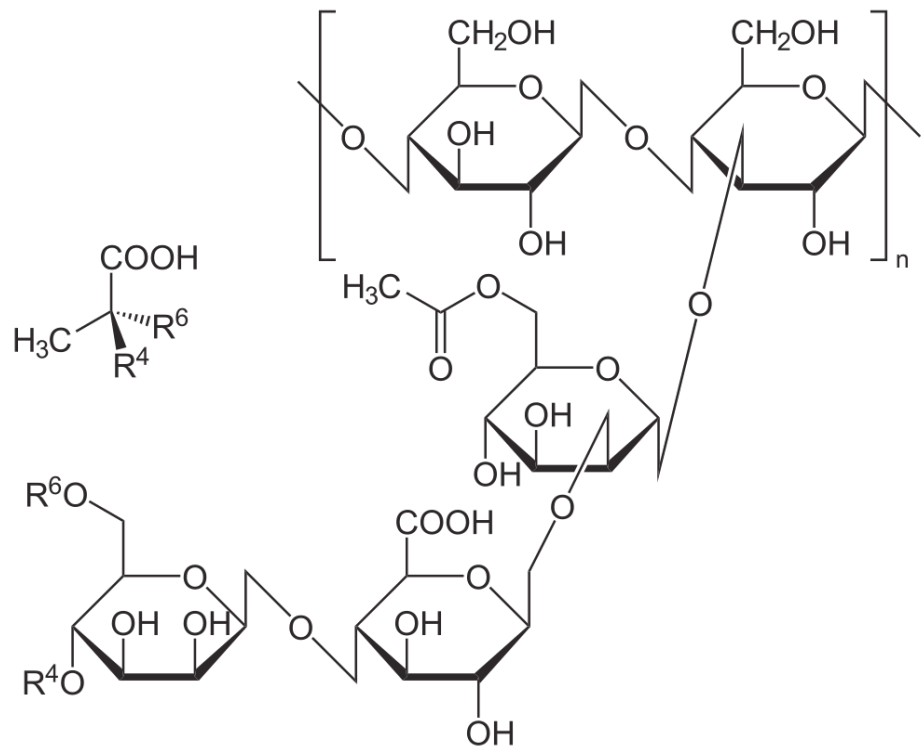


Рис. 9. Хімічна структура ксантанової камеді, що, синтезується *Xanthomonas campestris* [34]

Fig. 9. Chemical structure of xanthan gum, synthesized by *Xanthomonas campestris* [34]



Також існують похідні емульсану, зокрема, аласан, який синтезується *Acinetobacter radioresistens* КА53. За своєю структурою це комплекс аніонних поліцукридів з аланіном та білками з високою молекулярною масою [61] та ліпосан, який синтезується *Candida lipolytica*. За своєю структурою це комплекс гетерополіцукридів та білка [11].

Такий високомолекулярний біосурфактант, як ксантанова камедь містить у структурній одиниці від трьох до восьми моноцукрів. Цей Біо-ПАР синтезується грам-негативною бактерією *Xanthomonas campestris* і є гетерополіцукридом [34].

Відомий також високомолекулярний комплекс, який отримав назву сфінган. Він синтезується *Sphingomonas spp.* За своєю структурою це комплекс лінійного каркасу тетрацукриду (глюкоза-глюкуронова кислота-глюкоза-рамноза/маноза), до якого прикріплені бічні ланцюги глюкозилу, рамнозилу, манозилу або ацетилу [37].

Морські бактерії, які виробляють Біо-ПАР

З морського середовища була виділена невелика кількість видів бактерій, що синтезують Біо-ПАР, які мають перспективи комерційного використання. Деякі види спочатку були ізольовані із наземного середовища, як у випадку з *Pseudomonas* та *Rhodococcus*, але згодом були виділені і з морського середовища [53,68].

PSEUDOMONAS

Представники роду *Pseudomonas*, класу *Gammaproteobacteria*, можуть колонізувати різноманітні середовища існування та виробляти різні молекули Біо-ПАР включаючи гліколіпіди (рамноліпіди) та ліпопептиди (наприклад, віскозин, амфізин, толаазин та сирингоміцин). Більшість ізольованих видів *Pseudomonas* походять з наземних середовищ існування, але представники цього роду поширені і в морському середовищі [9]. Найчастіше досліджується *P. aeruginosa*, яка синтезує багато Біо-ПАР. Вона добре росте на різних вуглеводних та неуглеводних субстратах і синтезує рамноліпіди, які можуть утворювати стійкі емульсії з різними гідрофобними речовинами.

BACILLUS

Члени роду *Bacillus* були переважно ізольованими з нафтових пластів або забруднених нафтою ґрунтів і є ефективними виробниками Біо-ПАР. Штам *Bacillus methylotrophicus* USTBa був виділений з нафтового пласта і добре ріс на олії у водному середовищі та синтезував Біо-ПАР гліколіпідного типу [14]. Крім того, біосурфактант був стабільним при різних значеннях рН і високої температури (до 100 °С). Емульгувальна активність Біо-ПАР ліпопептидної природи штаму *B. subtilis* A1 сягала 78% при його вирощуванні на сирій нафті як єдиному джерелі вуглецю [47].

ACINETOBACTER

Acinetobacter – рід грамнегативних гаммапротеобактерій, які є облігатними аеробами. Ці бактерії, належать до порядку *Pseudomonadales*. *Acinetobacter* повсюдно поширений рід і його представники часто зустрічаються в морському середовищі. Багато видів цього роду є відомими деградаторами вуглеводнів, які виробляють позаклітинні ЕПС [29]. *A. calcoaceticus* та



A. radioresitensis синтезують емульсан та аласан, відповідно [35,42]. Штами *A. calcoaceticus* та *A. oleivorans*, виділені з Північної Атлантики у канадських водах, виробляють біоемульгатори при вирощуванні на нафтових вуглеводнях як єдиному джерелі вуглецю [10]. Враховуючи те, що ці штами пристосовані до холодного морського середовища Північної Атлантики, Біо-ПАР, які вони синтезують, можуть бути ефективними за низьких температур і суворих умов півночі.

ANTARCTOBACTER

Antarctobacter – рід грамнегативних бактерій (порядок *Rhodobacterales*), які є облигатними аеробними бактеріями. Таксономічно описаний лише один вид, *Antarctobacter heliothermus*, який був виділений в Антарктиді [36]. Штам *Antarctobacter sp.* TG22 був ізольований із гіперсоланої води і встановлено, що він виробляє позаклітинний водорозчинний полімер глікопротеїнового типу (позначений TG22), який утворює стійкі емульсії з різними рослинними оліями при концентрації до 0,02% [25].

RHODOCOCCUS

Рід *Rhodococcus* включає різноманітні в метаболічному відношенні види, здатні знаходитися в різних місцях існування [21]. Представники роду вивчалися головним чином на предмет їх здатності розкласти вуглеводні та забруднюючі речовини. *Rhodococcus erythropolis*, *Rhodococcus aurantiacus* та *Rhodococcus ruber* є одними з найвідоміших продуцентів біосурфактантів роду. З морського ґрунту був виділений штам *Rhodococcus erythropolis* 3С-9, який продукував два види поверхнево-активних речовин за присутності н-гексадекану як єдиного джерела вуглецю [48]. Ці Біо-ПАР, як показала тонко-шарова хроматографія та мас-спектрометрія (ГХ-МС), були представлені 12 вільними жирними кислотами з довжиною ланцюга від С9 до С22; та двома гліколіпідами: гліуко- та трегалозоліпіди. Гліколіпіди містили неразголужені жирні кислоти з довжиною ланцюга від С10 до С18. За росту на водорозчинних субстратах *R. erythropolis* 3С-9 не продукував Біо-ПАР.

HALOMONAS

Halomonas всюдисущий рід *Altreromonadales*. Ці мікроорганізми зустрічаються в різноманітних місцях проживання: морські [10,29] та наземні середовища, гіперсалінні озера [49], ґрунти [4] та гарячі джерела [16]. Ці бактерії синтезують ЕПС з різними властивостями [25]. Екзополіцукрид термофільного штаму *H. nitroreducens* WB1, який був ізольований з гарячого джерела, ефективно емульгував різні рослинні олії (E_{24} 68–85%) та аліфатичні вуглеводні (E_{24} 56–65%). Цей ЕПС здатний також зв'язувати різні метали. Моноцукри в молекулі ЕПС штаму WB1 представлені глюкозою, манозою, галактозою і уроновою кислотою (у слідових кількостях) [16].

ALCANIVORAX

Alcanivorax – рід грам-негативних облигатно аеробних або мікроаерофільних гамапротеобактерій (порядок *Oceanospirillales*). *Alcanivorax borkumensis* синтезує низькомолекулярний аніонний гліколіпідний Біо-ПАР при вирощуванні на вуглеводнях [57]. Гліколіпід складається з глюкози, пов'язаної з тетрамерним ланцюгом жирних кислот довжиною С6-С10, і може бути позаклітинним або зв'язаним з клітиною [2]. Штам *A. borkumensis*



SK2, який був виділений з морського середовища, при вирощуванні на нафті продукував удвічі більше Біо-ПАР ніж за відсутності вуглеводнів. При використанні важких вуглеводневих фракцій, які використовувалися як єдине джерело вуглецю, синтез Біо-ПАР був найвищий (~ 70 мг/л) у порівнянні з використанням сирової нафти (50±20 мг/л). Однак очищення біоповірхневої речовини було простішим, коли культуру наносили на важку нафтову фракцію, оскільки вона постійно залишалася на поверхні, і, отже, не мала домішок субстрату. Інший вид, штам *A. dieselolei* B-5, є другим у роді, який синтезує Біо-ПАР. Хімічний аналіз Біо-ПАР показав, що за структурою це лінійні ліпопептиди [52].

PSEUDOALTEROMONAS

Pseudoalteromonas – рід порядку *Alteromonadales*, члени яких зазвичай зустрічаються в холодних морських водах та синтезують Біо-ПАР екзополіцукридної природи [43]. Штам *Pseudoalteromonas* sp. SM20310, виділений з арктичного морського льоду, продукував біосурфактант (вихід 567 мг/л), в якому маноза та глюкоза переважають серед вуглеводів. ЕПС також виконує захисну функцію і сприяє виживанню бактерії за високої солоності та низьких температур. Морські *Pseudoalteromonas* (виділені у Антарктиді) синтезували ЕПС, 40% моноцукридів яких склали маноза, глюкоза та галактоза [30].

MARINOBACTER

Marinobacter – рід із порядку *Alteromonadales*. Представники роду, такі як *M. hydrocarbonoclasticus* та *M. algicola* зазвичай виділяють із збагаченого нафтою морського середовища [26]. Хоча *Marinobacter* може використовувати вуглеводні як джерело вуглецю; у ряді досліджень показано, що вони також можуть рости і виробляти біосурфактанти на інших джерелах вуглецю, таких як глюкоза. *Marinobacter* синтезують ЕПС з високою емульгуювальною активністю щодо вуглеводнів, яка перевершує комерційні синтетичні ПАР, зокрема, Tween 80 [12]. Штам *Marinobacter* sp. W1-16, ізольований з морських поверхневих вод Антарктики, виробляє ЕПС (молекулярна маса 260 кДа), синтез якого сильно залежить від цукрового субстрату та температури інкубації: оптимальні умови культивування – 2% концентрація глюкози та температура 15 °С. Однак штам був здатний синтезувати ЕПС також при 4 °С, хоча і в менших кількостях. Припускається, що екзополіцукриди мають кризахисні функції [12].

Екологія бактерій, які синтезують Біо-ПАР

Бактерії, що виробляють Біо-ПАР, існують в різних природних умовах: від водних (прісних та морських вод, і підземних вод) до наземних (грунт, осад та мул). Морські середовища характеризуються широким діапазоном температур, рН та тиску, високою солоністю. Мікроорганізми, які існують у цих несприятливих умовах, за допомогою синтезу Біо-ПАР забезпечують клітинну адгезію до різних поверхонь, до потенційних джерел живлення, утримання води, концентрування поживних речовин. Оскільки у природних умовах більше 90% мікроорганізмів знаходиться у складі структурованих консорціумів або біоплівки, біосурфактанти необхідні для їх формування. Так, ЕПС виконують роль матриксу в цих утвореннях, а низькомолекулярні Біо-ПАР



підтримують 3D архітектуру біоплівки і контролюють їх життєвий цикл [44]. Середовище може мати прямий вплив на типи Біо-ПАР, що синтезують мікроорганізми. Наприклад, ЕПС морських мікроорганізмів у порівнянні з не морськими мікробними ПАР містять більші рівні уронових кислот, що надає їм поліаніонні властивості [25]. Бактерії, що пристосовані до холодних вод, у складі Біо-ПАР містять моноцукри манозу та галактозамін [43].

Морські мікроорганізми демонструють широкий спектр обмінних процесів. Продукувати Біо-ПАР можуть як аеробні, так і анаеробні бактерії [66]. У нафтових пластах знайдені мікроорганізми, які виробляють Біо-ПАР шляхом анаеробної біодеградації вуглеводнів за допомогою метаногенезу [33].

Важливими перевагами біосурфактантів, порівняно з синтетичним поверхнево-активними речовинами є низька токсичність і біодеградабельність, завдяки чому вони не чинять шкоди навколишньому середовищу. Особливу увагу слід приділити морським мікроорганізмам, так як їх переважна кількість досить не вивчена, а вони мають унікальні метаболічні та фізіологічні особливості і є важливим джерелом нових біомолекул, зокрема, протипухлинних агентів, які не синтезуються ґрунтовими і прісноводними видами [7, 22].

Біо-ПАР мають величезний потенціал прикладного застосування у численних галузях, які відносяться до різних, так званих, кольорових біотехнологій (рис. 10).

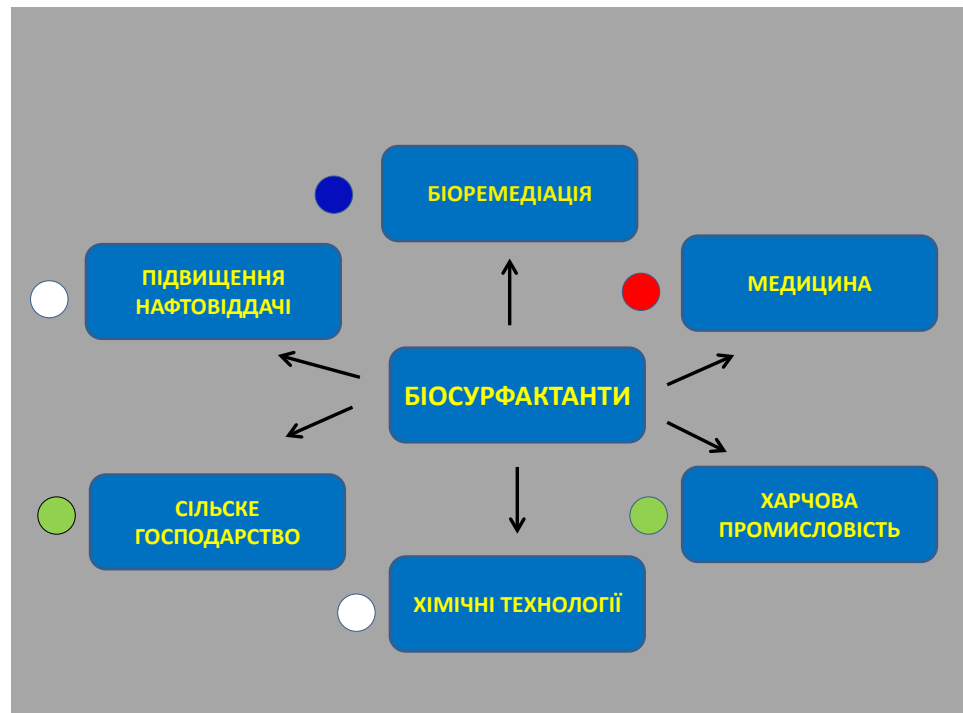


Рис. 10. Галузі використання біосурфактантів

Fig. 10. Areas of use of biosurfactants

Біосурфактанти мають широкий спектр біологічної активності, зокрема, антимікробну та протипухлинну дію, застосовуються у дерматології та косметології. Завдяки високій емульгувальній здатності вони можуть ефективно використовуватися у біоремедіації забруднених ґрунтів, підвищення нафтовіддачі. Біо-ПАВ затребувані також у харчовій і хімічній промисловостях, агровиробництві.

Більш детально прикладні аспекти застосування, в тому числі, механізми їх біологічної дії будуть розглянуті у наступних оглядах.

**Б.Н. Галкин, М.А. Финогенова, А.С. Семенец,
Н.Б. Галкин, Т.О. Филиппова**

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина,
тел.: +380482635761 e-mail: bgalkin@ukr.net

БИОСУРФАКТАНТЫ МОРСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ: I. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ

Реферат

Морские микроорганизмы имеют уникальные метаболические, физиологические особенности и являются важным источником новых биомолекул, таких, в частности, как поверхностно-активные вещества (Био-ПАВ). Низкомолекулярные ПАВ представлены гликолипидами, фосфолипидами, жирными кислотами, липопептидами и липопротеидами, а высокомолекулярные – смесями гетерополисахаридов, липополисахаридов, липопротеидов и белков. Основными родами бактерий, которые синтезируют Био-ПАВ, являются Pseudomonas, Bacillus, Acinetobacter, Antarcticobacter, Rhodococcus, Halomonas, Alcanivorax, Pseudoalteromonas и Marinobacter. В обзоре рассматривается структура и функции Био-ПАВ, выделенных из морских микроорганизмов.

Ключевые слова: морские микроорганизмы, Био-ПАВ, гликолипиды, фосфолипиды, жирные кислоты, липопептиды, липопротеиды, гетерополисахариды, липополисахариды, липопротеиды

**B.N. Galkin, M.O. Finogenova, A.S. Semenets,
M.B. Galkin, T.O. Filipova**

Odessa National University named after I. I. Mechnikov,
st. Dvoryanskaya, 2, Odessa, 65082, Ukraine

BIOSURFACTANTS FROM MARINE MICROORGANISMS: I. STRUCTURE AND FUNCTIONS

Summary

Marine microorganisms have unique metabolic and physiological characteristics and are an important source of new biomolecules such as biosurfactants. Low molecular weight surfactants are glycolipids, phospholipids, fatty acids, lipo-



peptides and lipoproteins, and high molecular weight surfactants are mixtures of heteropolysaccharides, lipopolysaccharides, lipoproteins and proteins. The main general of bacteria that synthesize biosurfactants are *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Antarctobacter*, *Rhodococcus*, *Halomonas*, *Alcanivorax*, *Pseudoalteromonas* and *Marinobacter*. This review examines the structure and function of biosurfactants isolated from marine microorganisms.

Key words: marine microorganisms, biosurfactants, glycolipids, phospholipids, fatty acids, lipopeptides, lipoproteins, heteropolysaccharides, lipopolysaccharides, lipoproteins

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Abraham W.R., Meyer H., Yakimov M. Novel glycine containing glucolipids from the alkane using bacterium *Alcanivorax borkumensi* // Biochim. Biophys. Acta. – 1998. – V. 1393(1). – P. 57–62.
2. Abraham, W.-R., Yakimov, M. M., Golyshin, P. N. et al. *Alcanivorax borkumensis* gen. nov., sp. nov., a new, hydrocarbon-degrading and surfactant-producing marine bacterium // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1998. – V. 48(2). – P. 339–348.
3. Adameczak M., Bednarski W. Influence of medium composition and aeration on the synthesis of biosurfactants produced by *Candida antarctica* // Biotechnol. Lett. – 2000. – V. 22(4). – P. 313–316.
4. Amjres H., Béjar V., Quesada E. et al. Characterization of haloglycan, an exopolysaccharide produced by *Halomonas stenophila* HK30 // Int. J. Biol. Macromol. – 2015. – V. 72(1). – P. 117–124.
5. Banat I. M. Biosurfactants production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation: a review // Bioresour. Technol. – 1995. – V. 51(1). – P. 1–12.
6. Banat I.M. The isolation of a thermophilic biosurfactant producing *Bacillus* sp // Biotechnol. Lett. – 1993. – V. 15(4). – P. 591–594.
7. Banat I.M., Makkar R.S., Cameotra S.S. Potential commercial applications of microbial surfactants // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2000. – V. 53(5). – P. 495–508.
8. Bhatnagar I., Kim S.K. Immense essence of excellence: Marine microbial bioactive compounds // Mar. Drugs. – 2010. – V. 8(10). – P. 2673–2701.
9. Bollinger A., Thies S., Katzke N., Jaeger K. E. The biotechnological potential of marine bacteria in the novel lineage of *Pseudomonas pertucinogena* // Microb. Biotechnol. – 2020. – V. 13(1). – P. 19–31.
10. Cai Q., Zhang B., Chen B. et al. Screening of biosurfactant producers from petroleum hydrocarbon contaminated sources in cold marine environments // Mar. Pollut. Bull. – 2014. – V. 86(1-2). – P. 402–410.
11. Campos J.M., Montenegro Stamford T.L., Sarubbo L.A., et al. Microbial biosurfactants as additives for food industries // Biotechnol. Prog. – 2013. – V. 29(5). – P. 1097–1108.
12. Caruso C., Rizzo C., Mangano S. et al. Isolation, characterization and optimization of EPSs produced by a cold-adapted *Marinobacter* isolate from Antarctic seawater // Antarctic Sci. – 2019. – V. 31(1). – P. 69–79.



13. *Carvalho C. C., Fernandes P.* Production of metabolites as bacterial responses to the marine environment // *Mar. Drugs*. – 2010. – V. 8(3). – P. 705–727.
14. *Chandankere R., Yao J., Cai M. et al.* Properties and characterization of biosurfactant in crude oil biodegradation by bacterium *Bacillus methylotrophicus* USTBa // *Fuel*. – 2014. – V. 122(1). – P. 140–148.
15. *Chen W. C., Juang R. S., Wei Y. H.* Applications of a lipopeptide biosurfactant, surfactin, produced by microorganisms // *Biochem. Eng. J.* – 2015. – V. 103(1). – P. 158–169.
16. *Chikkanna A., Ghosh D., Kishore A.* Expression and characterization of a potential exopolysaccharide from a newly isolated halophilic thermotolerant bacteria *Halomonas nitroreducens* strain WB1 // *Peer J*. – 2018. – e4684.
17. *Chong H., Li Q.* Microbial production of rhamnolipids: opportunities, challenges and strategies // *Microb. Cell Fact.* – 2017. – V. 16(1). – P. 137.
18. *Coronel-León J., Marqués A.M., Bastida J., Manresa A.* Optimizing the production of the biosurfactant lichenysin and its application in biofilm control // *J. Appl. Microbiol.* – 2016. – V. 120(1). – P. 99–111.
19. *De Bruijn I., Raaijmakers J. M.* Diversity and functional analysis of LuxR-type transcriptional regulators of cyclic lipopeptide biosynthesis in *Pseudomonas fluorescens* // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2009. – V. 75(14). – P. 4753–4761.
20. *Edwards K.R., Lepo J.E., Lewis M.A.* Toxicity comparison of biosurfactants and synthetic surfactants used in oil spill remediation to two estuarine species // *Mar. Pollut. Bull.* – 2003. – 46(10). – P. 1309–1316.
21. *Finnerty W. R.* The genus *Rhodococcus* identification and classification // *Ann. Rev. Microbiol.* – 1992. – V. 46(1). – P. 193–218.
22. *Fracchia L., Cavallo M., Martinotti M.G., Banat I.M.* Biosurfactants and bioemulsifiers biomedical and related applications: Present status and future potentials/ In *Biomedical Science, Engineering and Technology* Ghista, D.N., Ed.; InTech: Rijeka, Croatia, 2012. – P. 325–370.
23. *Funston S.J., Tsaousi K., Rudden M. et al.* Characterising rhamnolipid production in *Burkholderia thailandensis* E264, a non-pathogenic producer // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2016. – V. 100. – P. 7945–7956.
24. *Gudiña E.J., Rangarajan V., Sen R., Rodrigues L.R.* Potential therapeutic applications of biosurfactants // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2013. – V. 34(12). – P. 667–675.
25. *Gutiérrez T., Mulloy B., Black K., Green D. H.* Glycoprotein emulsifiers from two marine *Halomonas* species: Chemical and physical characterization // *J. Appl. Microbiol.* – 2007. – V. 103(5). – P. 1716–1727.
26. *Gutierrez T., Singleton D.R., Berry, D. et al.* Hydrocarbon-degrading bacteria enriched by the deepwater horizon oil spill identified by cultivation and DNA-SIP // *ISME J.* – 2013. – V. 7(11). – P. 2091–2104.
27. *Hamed S.B., Smii L., Ghram A., Maaroufi A.* Screening of potential biosurfactant-producing bacteria isolated from seawater biofilm // *Afr. J. Biotechnol.* – 2012. – V. 11(77). – P. 14153–14158.
28. *Harayama S., Kasai Y., Hara A.* Microbial communities in oil-contaminated seawater // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2004. – V. 15(3). – P. 205–214.



29. *Hassanshahian M., Emtiazi G., Cappello S.* Isolation and characterization of crude-oil-degrading bacteria from the Persian Gulf and the Caspian Sea // *Mar. Pollut. Bull.* – 2012. – V. 64(1). – P. 7–12.
30. *Holmström C., Kjelleberg S.* Marine *Pseudoalteromonas* species are associated with higher organisms and produce biologically active extracellular agents // *FEMS Microbiol. Ecol.* – 1999. – V. 30(4). – P. 285–293.
31. *Ibacache-Quiroga C., Ojeda J., Espinoza-Vergara G.* The hydrocarbon-degrading marine bacterium *Cobetia* sp. strain MM1IDA2H-1 produces a bio-surfactant that interferes with quorum sensing of fish pathogens by signal hijacking // *Microb. Biotechnol.* – 2013. – V. 6(4). – P. 394–405.
32. *Inès M., Dhouha G.* Lipopeptide surfactants: production, recovery and pore forming capacity // *Peptides.* – 2015. – V. 71(1). – P. 100–112.
33. *Jones D. M., Head I. M., Gray N. D. et al.* Crude-oil biodegradation via methanogenesis in subsurface petroleum reservoirs // *Nature.* – 2008. – V. 451(7175). – P. 176–180.
34. *Kang Y., Li P., Zeng X. et al.* Biosynthesis, structure and antioxidant activities of xanthan gum from *Xanthomonas campestris* with additional furfural // *Carbohydr. Polym.* – 2019. – V. 216(4). – P. 369–375.
35. *Kaplan N., Rosenberg E., Jann B., Jann K.* Structural studies of the capsular polysaccharide of *Acinetobacter calcoaceticus* BD4 // *Europ. J. Biochem.* – 1985. – V. 152(2). – P. 453–458.
36. *Labrenz M., Collins M.D., Lawson P.A. et al.* *Antarctobacter heliothermus* gen. nov., sp. nov., a budding bacterium from hypersaline and heliothermal Ekho Lak // *Int. J. Syst. Bacteriol.* – 1998. – V. 48(4). – P. 1363–1372.
37. *Li H., Jiao X., Sun Y., et al.* The preparation and characterization of a novel sphingian WL from marine *Sphingomonas* sp. WG // *Sci. Rep.* – 2016. – V. 6(37899). – P. 1–9.
38. *Makkar R.S., Rockne K.J.* Comparison of synthetic surfactants and biosurfactants in enhancing biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons // *Environ. Toxicol. Chem.* – 2003. – V. 22(10). – P. 2280–2292.
39. *Marchant R., Banat I.M.* Microbial biosurfactants: Challenges and opportunities for future exploitation // *Trends Biotechnol.* – 2012. – V. 30(11). – P. 558–565.
40. *Mulligan C.N.* Environmental applications for biosurfactants // *Environ. Pollut.* – 2005. – V. 133(2). – P. 183–198.
41. *Mulligan C.N.* Recent advances in the environmental applications of biosurfactants // *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* – 2009. – V. 14(5). – P. 372–378.
42. *Navon-Venezia S., Zosim Z., Gottlieb A. et al.* Alasan, a new bioemulsifier from *Acinetobacter radioresistens* // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1995. – V. 61(21). – P. 3240–3244.
43. *Nichols C.M., Lardièrre S.G., Bowman J. P. et al.* Chemical characterization of exopolysaccharides from Antarctic marine bacteria // *Microb. Ecol.* – 2005. – V. 49(4). – P. 578–589.
44. *Nicolaus B., Kambourova M., Oner E.T.* Exopolysaccharides from extremophiles: from fundamentals to biotechnology // *Environ. Technol.* – 2010. – V. 31(10). – P. 1145–1158.



45. Niu Y., Wu J., Wang W., Chen Q. Production and characterization of a new glycolipid, mannosylerythritol lipid, from waste cooking oil biotransformation by *Pseudozyma aphidis* ZJUDM34 // Food Sci. Nutrit. – 2019. – V. 7(3). – P. 937–948.
46. Nuñez R., Garateix A., Laguna A. et al. Caribbean marine biodiversity as a source of new compounds of biomedical interest and other industrial applications // Pharmacology online. – 2006. – V. 3(1). – P. 111–119.
47. Parthipan P., Preetham E., Machuca L. L. et al. Biosurfactant and degradative enzymes mediated crude oil degradation by bacterium *Bacillus subtilis* A1 // Front. Microbiol. – 2017. – V. 8(1). – P.193.
48. Peng F., Liu Z., Wang L., Shao Z. An oil-degrading bacterium: *Rhodococcus erythropolis* strain 3C-9 and its biosurfactants // J. Appl. Microbiol. – 2007. – V. 102(6). – P. 1603–1611.
49. Poli, A., Moriello, V.S., Esposito, E. et al. Exopolysaccharide production by a new *Halomonas* strain CRSS isolated from saline lake Cape Russell in Antarctica growing on complex and defined media // Biotechnol. Lett. – 2004. – V. 26(21). – P. 1635–1638.
50. Poremba K., Gunkel W., Lang S., Wagner F. Marine biosurfactants, III. Toxicity testing with marine microorganisms and comparison with synthetic detergents // Z. Naturforsch. – 1991. – V. 46. – P. 210–216.
51. Poremba K., Gunkel W., Lang S., Wagner F. Toxicity testing of synthetic and biogenic surfactants on marine microorganisms // Environ. Toxicol. Water Qual. – 1991. – V. 6(2). – P. 157–163.
52. Qiao N., Shao Z. Isolation and characterization of a novel biosurfactant produced by hydrocarbon-degrading bacterium *Alcanivorax dieselolei* B-5 // J. Appl. Microbiol. – 2010. – V. 108(4). – P. 1207–1216.
53. Ramaprasad E. V. V., Mahidhara G., Sasikala Ch., Ramana Ch. V. *Rhodococcus electrodiphilus* sp. nov., a marine electro active actinobacterium isolated from coral reef // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2018. – V. 68(8). – P. 2644–2649.
54. Ramiah N. Facets and opportunities / In Marine Microbiology Ed. National Institute of Oceanography: Goa, India, 2005. – P. 1–6.
55. Satpute S.K., Banpurkar A.G., Dhakephalkar P. K. et al. Methods for investigating biosurfactants and bioemulsifiers: a review // Crit. Rev. Biotechnol. – 2010. – V. 30(1). – P. 127–144.
56. Satpute S.K., Banat I.M., Dhakephalkar P.K. et al. Biosurfactants, bioemulsifiers and exopolysaccharides from marine microorganisms // Biotechnol. Adv. – 2010. – V. 28(4). – P. 436–450.
57. Schneiker, S., Martins dos Santos, V. et al. Genome sequence of the ubiquitous hydrocarbon-degrading marine bacterium *Alcanivorax borkumensis* // Nat. Biotechnol. – 2006. – V. 24(8). – P. 997–1004.
58. Shahaliyan F., Safahieh A., Abyar H. Evaluation of emulsification index in marine bacteria *Pseudomonas* sp. and *Bacillus* sp // Arab. J. Sci. Eng. – 2015. – V. 40(7). – P. 1849–1854.
59. Shekhar S., Sundaramanickam A, Balasubramanian T. Biosurfactant produc-



- ing microbes and their potential applications: A review // *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* – 2015. – V. 45(14). – P. 1522–1554.
60. Stein J.L., Marsh T.L., Wu K.Y. et al. Characterization of uncultivated prokaryotes Isolation and analysis of a 40-kilobase-pair genome fragment from a planktonic marine archaeon // *J. Bacteriol.* – 1996. – V. 178(3). – P. 591–599.
 61. Toren A., Navon-Venezia S., Ron E. Z., Rosenberg E. Emulsifying activities of purified alasin proteins from *Acinetobacter radioresistens* KA53 // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2001. – V. 67(3). – P. 1102–1106.
 62. Tripathi L., Twigg M.S., Zompra A. et al. Biosynthesis of rhamnolipid by a *Marinobacter* species expands the paradigm of biosurfactant synthesis to a new genus of the marine microflora // *Microb. Cell Fact.* – 2019. – V. 18(1). – P. 1–12.
 63. Twigg M.S., Tripathi L., Zompra A. et al. Identification and characterisation of short chain rhamnolipid production in a previously uninvestigated, non-pathogenic marine pseudomonad // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2018. – V. 102(19). – P. 8537–8549.
 64. Uzoigwe C., Burgess J.G., Ennis C.J., Rahman P.K.S.M. Bioemulsifiers are not biosurfactants and require different screening approaches // *Front. Microbiol.* – 2015. – V. 6. – P. 245.
 65. Van Bogaert I.N.A., Saerens K., De Muynck C. et al. Microbial production and application of sophorolipids // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2007. – V. 76(1). – P. 23–34.
 66. Van Fossen A.L., Lewis D.L., Nichols J.D., Kelly R.M. Polysaccharide degradation and synthesis by extremely thermophilic anaerobes // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2008. – V. 1125(3). – P. 322–337.
 67. Vanittanakom N., Loeffler W., Koch U., Jung G. Fengycin—a novel antifungal lipopeptide antibiotic produced by *Bacillus subtilis* F-29-3 // *J. Antibiot.* – 1986. – V. 39(3). – P. 888–901.
 68. Xia W. J., Luo Z. B., Dong H. P., Yu L. Studies of biosurfactant for microbial enhanced oil recovery by using bacteria isolated from the formation water of a petroleum reservoir // *Pet. Sci. Technol.* – 2013. – V. 31(21). – P. 2311–2317.
 69. Yan X., Sims J., Wang B., Hamann, M.T. Marine actinomycete *Streptomyces* sp. ISP2–49E, a new source of rhamnolipid // *Biochem. Syst. Ecol.* – 2014. – V. 55. – P. 292–295.

REFERENCES

1. Abraham WR, Meyer H, Yakimov M. Novel glycine containing glucolipids from the alkane using bacterium *Alcanivorax borkumensis*. *Biochim Biophys Acta.* 1998;1393(1):57–62.
2. Abraham W-R, Yakimov MM, Golyshin, PN et al. *Alcanivorax borkumensis* gen. nov., sp. nov., a new, hydrocarbon-degrading and surfactant-producing marine bacterium. *Int J Syst Bacteriol.* 1998;48(2):339–348.
3. Adamczak M, Bednarski W. Influence of medium composition and aeration on the synthesis of biosurfactants produced by *Candida Antarctica*. *Biotechnol Lett.* 2000;22 (4):313–316.



4. Amjres H, Béjar V, Quesada E et al. Characterization of haloglycan, an exopolysaccharide produced by *Halomonas stenophila* HK30. *Int J Biol Macromol.* 2015;72 (1):117–124.
5. Banat IM, Makkar RS, Cameotra SS. Potential commercial applications of microbial surfactants. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2000;53(5):495–508.
6. Banat IM. Biosurfactants production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation: a review. *Bioresour Technol.* 1995; 51(1):1–12.
7. Banat IM. The isolation of a thermophilic biosurfactant producing *Bacillus* sp. *Biotechnol Lett.* 1993;15(4):591–594.
8. Bhatnagar I, Kim SK. Immense essence of excellence: Marine microbial bioactive compounds. *Mar Drugs.* 2010;8(10):2673–2701.
9. Bollinger A, Thies S, Katzke N, Jaeger KE. The biotechnological potential of marine bacteria in the novel lineage of *Pseudomonas pertucinogena*. *Microb Biotechnol.* 2020;13(1):19–31.
10. Cai Q, Zhang B, Chen B et al. Screening of biosurfactant producers from petroleum hydrocarbon contaminated sources in cold marine environments. *Mar Pollut Bull.* 2014;86(1-2):402– 410.
11. Campos JM, Montenegro Stamford TL, Sarubbo LA et al. Microbial biosurfactants as additives for food industries. *Biotechnol Prog.* 2013;29(5):1097–1108.
12. Caruso C, Rizzo C, Mangano S et al. Isolation, characterization and optimization of EPSs produced by a cold-adapted *Marinobacter* isolate from Antarctic seawater. *Antarctic Sci.* 2019;31(1):69–79.
13. Carvalho CC, Fernandes P. Production of metabolites as bacterial responses to the marine environment. *Mar Drugs.* 2010;8(3):705–727.
14. Chandankere R, Yao J, Cai M et al. Properties and characterization of biosurfactant in crude oil biodegradation by bacterium *Bacillus methylotrophicus* USTBa. *Fuel.* 2014;122(1):140–148.
15. Chen WC, Juang RS, Wei YH. Applications of a lipopeptide biosurfactant, surfactin, produced by microorganisms. *Biochem Eng J.* 2015;103(1):158–169.
16. Chikkanna A, Ghosh D, Kishore A. Expression and characterization of a potential exopolysaccharide from a newly isolated halophilic thermotolerant bacteria *Halomonas nitroreducens* strain WB1. *Peer J.* 2018;e4684.
17. Chong H, Li Q. Microbial production of rhamnolipids: opportunities, challenges and strategies. *Microb Cell Fact.* 2017;16.(1):137.
18. Coronel-León J, Marqués AM, Bastida J, Manresa A. Optimizing the production of the biosurfactant lichenysin and its application in biofilm control. *J Appl Microbiol.* 2016;120(1):99–111.
19. De Bruijn I, Raaijmakers JM. Diversity and functional analysis of LuxR-type transcriptional regulators of cyclic lipopeptide biosynthesis in *Pseudomonas fluorescens*. *Appl Environ Microbiol.* 2009;75(14):4753–4761.
20. Edwards KR, Lepo JE, Lewis MA. Toxicity comparison of biosurfactants and synthetic surfactants used in oil spill remediation to two estuarine species. *Mar Pollut Bull.* 2003;46(10):1309–1316.



21. Finnerty WR. The genus *Rhodococcus* identification and classification. *Ann Rev Microbiol.* 1992;46 (1):193–218.
22. Fracchia L, Cavallo M, Martinotti MG, Banat IM. Biosurfactants and bio-emulsifiers biomedical and related applications: Present status and future potentials/ In *Biomedical Science, Engineering and Technology Ghista, D.N., Eds InTech: Rijeka, Croatia, 2012:325–370.*
23. Funston SJ, Tsaousi K, Rudden M et al. Characterising rhamnolipid production in *Burkholderia thailandensis* E264, a non-pathogenic producer. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2016;100:7945–7956.
24. Gudiña EJ, Rangarajan V, Sen R, Rodrigues LR. Potential therapeutic applications of biosurfactants. *Trends Pharmacol. Sci.* 2013;34(12):667–675.
25. Gutiérrez T, Mulloy B, Black K, Green DH. Glycoprotein emulsifiers from two marine *Halomonas* species: Chemical and physical characterization. *J Appl Microbiol.* 2007;103(5):1716–1727.
26. Gutierrez T, Singleton DR, Berry D et al. Hydrocarbon-degrading bacteria enriched by the deepwater horizon oil spill identified by cultivation and DNA-SIP. *ISME J.* 2013;7(11):2091–2104.
27. Hamed SB, Smii L, Ghram A, Maaroufi A. Screening of potential biosurfactant-producing bacteria isolated from seawater biofilm. *Afr J Biotechnol.* 2012;11(77):14153–14158.
28. Harayama S, Kasai Y, Hara A. Microbial communities in oil-contaminated seawater. *Curr Opin Biotechnol.* 2004;15(3):205–214.
29. Hassanshahian M, Emtiazi G, Cappello S. Isolation and characterization of crude-oil-degrading bacteria from the Persian Gulf and the Caspian Sea. *Mar Pollut Bull.* 2012;64 (1):7–12.
30. Holmström C, Kjelleberg S. Marine *Pseudoalteromonas* species are associated with higher organisms and produce biologically active extracellular agents. *FEMS Microbiol Ecol.* 1999;30(4):285–293.
31. Ibacache-Quiroga C, Ojeda J, Espinoza-Vergara G. The hydrocarbon-degrading marine bacterium *Cobetia* sp. strain MM1IDA2H-1 produces a biosurfactant that interferes with quorum sensing of fish pathogens by signal hijacking. *Microb Biotechnol.* 2013;6(4):394–405.
32. Inès M, Dhouha G. Lipopeptide surfactants: production, recovery and pore forming capacity. *Peptides.* 2015;71(1):100–112.
33. Jones DM, Head IM, Gray ND et al. Crude-oil biodegradation via methanogenesis in subsurface petroleum reservoirs. *Nature.* 2008;451(7175):176–180.
34. Kang Y, Li P, Zeng X et al. Biosynthesis, structure and antioxidant activities of xanthan gum from *Xanthomonas campestris* with additional furfural. *Carbohydr Polym.* 2019;216(4):369–375.
35. Kaplan N, Rosenberg E, Jann B, Jann K. Structural studies of the capsular polysaccharide of *Acinetobacter calcoaceticus* BD4. *Europ J Biochem.* 1985;152(2):453–458.
36. Labrenz M, Collins MD, Lawson PA et al. *Antarctobacter heliothermus* gen. nov., sp. nov., a budding bacterium from hypersaline and heliothermal Ekho Lak. *Int J Syst Bacteriol.* 1998;48(4):1363–1372.



37. Li H, Jiao X, Sun Y et al. The preparation and characterization of a novel sphinganol WL from marine *Sphingomonas* sp. WG. *Sci Rep.* 2016;6(37899):1–9.
38. Makkar RS, Rockne KJ. Comparison of synthetic surfactants and biosurfactants in enhancing biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ Toxicol Chem.* 2003;22(10):2280–2292.
39. Marchant R, Banat IM. Microbial biosurfactants: Challenges and opportunities for future exploitation. *Trends Biotechnol.* 2012;30(11):558–565.
40. Mulligan CN. Environmental applications for biosurfactants. *Environ Pollut.* 2005;133(2):183–198.
41. Mulligan CN. Recent advances in the environmental applications of biosurfactants. *Curr Opin Colloid Interface Sci.* 2009;14 (5):372–378.
42. Navon-Venezia S, Zosim Z, Gottlieb A et al. Alasan, a new bioemulsifier from *Acinetobacter radioresistens*. *Appl Environ Microbiol.* 1995;61(21):3240–3244.
43. Nichols CM, Lardière SG, Bowman JP et al. Chemical characterization of exopolysaccharides from Antarctic marine bacteria. *Microb Ecol.* 2005;49(4):578–589.
44. Nicolaus B, Kambourova M, Oner ET. Exopolysaccharides from extremophiles: from fundamentals to biotechnology *Environ Technol.* 2010;31(10):1145–1158.
45. Niu Y, Wu J, Wang W, Chen Q. Production and characterization of a new glycolipid, mannosylerythritol lipid, from waste cooking oil biotransformation by *Pseudozyma aphidis* ZJUDM34. *Food Sci Nutr.* 2019;7(3):937–948.
46. Nuñez R, Garateix A, Laguna A et al. Caribbean marine biodiversity as a source of new compounds of biomedical interest and other industrial applications. *Pharmacology online.* 2006;3(1):111–119.
47. Parthipan P, Preetham E, Machuca LL. et al. Biosurfactant and degradative enzymes mediated crude oil degradation by bacterium *Bacillus subtilis* A1. *Front Microbiol.* 2017;8(1):193.
48. Peng F, Liu Z, Wang L, Shao Z. An oil-degrading bacterium: *Rhodococcus erythropolis* strain 3C-9 and its biosurfactants. *J Appl Microbiol.* 2007;102(6):1603–1611.
49. Poli A, Moriello VS, Esposito E et al. Exopolysaccharide production by a new *Halomonas* strain CRSS isolated from saline lake Cape Russell in Antarctica growing on complex and defined media. *Biotechnol Lett.* 2004;26(21):1635–1638.
50. Poremba K, Gunkel W, Lang S, Wagner F. Marine biosurfactants, III. Toxicity testing with marine microorganisms and comparison with synthetic detergents. *Z Naturforsch.* 1991;46:210–216.
51. Poremba K, Gunkel W, Lang S, Wagner F. Toxicity testing of synthetic and biogenic surfactants on marine microorganisms. *Environ Toxicol Water Qual.* 1991;6(2):157–163.
52. Qiao N, Shao Z. Isolation and characterization of a novel biosurfactant produced by hydrocarbon-degrading bacterium *Alcanivorax dieselolei* B-5. *J Appl Microbiol.* 2010;108(4):1207–1216.
53. Ramaprasad EVV, Mahidhara G, Sasikala Ch, Ramana ChV. *Rhodococcus*



- electrodiphilus* sp. nov., a marine electro active actinobacterium isolated from coral reef. *Int J Sys. Evol Microbiol.* 2018;68(8):2644–2649.
54. Ramiah N. Facets and opportunities/ In: *Marine Microbiology* Eds National Institute of Oceanography: Goa, India, 2005:1–6.
 55. Satpute SK, Banat IM, Dhakephalkar PK et al. Biosurfactants, bioemulsifiers and exopolysaccharides from marine microorganisms. *Biotechnol Adv* 2010; 28(4):436–450.
 56. Satpute SK, Banpurkar AG, Dhakephalkar PK et al. Methods for investigating biosurfactants and bioemulsifiers: a review. *Crit Rev Biotechnol.* 2010;30(1): 127–144.
 57. Schneiker S, Martins dos Santos V et al. Genome sequence of the ubiquitous hydrocarbon-degrading marine bacterium *Alcanivorax borkumensis*. *Nat Biotechnol.* 2006;24(8):997–1004.
 58. Shahaliyan F, Safahieh A, Abyar H. Evaluation of emulsification index in marine bacteria *Pseudomonas sp.* and *Bacillus sp.* *Arab J Sci Eng.* 2015;40 (7):1849–1854.
 59. Shekhar S, Sundaramanickam A, Balasubramanian T. Biosurfactant producing microbes and their potential applications: A review. *Crit Rev Environ Sci Technol.* 2015;45(14):1522–1554.
 60. Stein JL, Marsh TL, Wu KY. et al. Characterization of uncultivated prokaryotes. Isolation and analysis of a 40-kilobase-pair genome fragment from a planktonic marine archaeon. *J Bacteriol.* 1996;178(3):591–599.
 61. Toren A, Navon-Venezia S, Ron EZ, Rosenberg E. Emulsifying activities of purified alasin proteins from *Acinetobacter radioresistens* KA53. *Appl Environ Microbiol.* 2001;67(3):1102–1106.
 62. Tripathi L, Twigg MS, Zompra A et al. Biosynthesis of rhamnolipid by a Marinobacter species expands the paradigm of biosurfactant synthesis to a new genus of the marine microflora. *Microb Cell Fact.* 2019;18(1):1–12.
 63. Twigg MS, Tripathi L, Zompra A et al. Identification and characterisation of short chain rhamnolipid production in a previously uninvestigated, non-pathogenic marine pseudomonad. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2018;102(19):8537–8549.
 64. Uzoigwe C, Burgess JG, Ennis CJ, Rahman P. KSM. Bioemulsifiers are not biosurfactants and require different screening approaches. *Front Microbiol.* 2015;6:245.
 65. Van Bogaert INA, Saerens K, De Muynck C et al. Microbial production and application of sophorolipids. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2007;76(1):23–34.
 66. VanFossen AL, Lewis DL, Nichols JD, Kelly RM. Polysaccharide degradation and synthesis by extremely thermophilic anaerobes. *Ann NY Acad Sci.* 2008;1125 (3):322–337.
 67. Vanittanakom N, Loeffler W, Koch U, Jung G. Fengycin-a novel antifungal lipopeptide antibiotic produced by *Bacillus subtilis* F-29-3. *J Antibiot.* 1986;39(3):888–901.
 68. Xia WJ, Luo ZB, Dong HP, Yu L. Studies of biosurfactant for microbial enhanced oil recovery by using bacteria isolated from the formation water of a petroleum reservoir. *Pet Sci Technol.* 2013;31(21):2311–2317.



69. Yan X, Sims J, Wang B, Hamann MT. Marine actinomycete *Streptomyces* sp. ISP2–49E, a new source of rhamnolipid. *Biochem Syst Ecol.* 2014;55:292–295.

Стаття надійшла до редакції 10.10.2021 р.



УДК 579.663:615.331

К.С. Потапенко, Н.В. Коротаєва, В.О. Іваниця

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,
e-mail: korotaeva.n@onu.edu.ua

ВТОРИННІ МЕТАБОЛІТИ МОРСЬКИХ АКТИНОБАКТЕРІЙ З АНТИБІОТИЧНОЮ АКТИВНІСТЮ

Морські актинобактерії є активними продуцентами та невикористаним багатим джерелом різноманітних біологічно активних вторинних метаболітів, таких як антибіотики, протипухлинні, протівірусні та протизапальні сполуки, біопестициди, гормони росту рослин, пігменти, ферменти, інгібітори ферментів. У цьому огляді представлено дані сучасних джерел літератур, в тому числі, за період з 2017 по 2021 роки безпосередньо про різноманітні біоактивні сполуки, які продукують морські актинобактерії, їх антибіотичну активність та біотехнологічний потенціал, наведено основні групи вторинних метаболітів та їх продуценти.

Ключові слова: морські актинобактерії, вторинні метаболіти, біоактивні речовини, антимікробна активність, протипухлинна активність

На сьогодні існує нагальна потреба в нових антибіотиках для боротьби з інфекційними хворобами та раком, що стали основними загрозами світовому здоров'ю людини [1]. Найбільш перспективним джерелом низькомолекулярних антибіотичних сполук історично вважаються мікроорганізми ґрунтового походження, в першу чергу актиноміцети [2, 3]. Проте, поступове виснаження біотопів суходолу як джерел нових біологічно активних сполук, на тлі і без того досить жорсткого відбору, який проходять всі потенційні клінічно значущі сполуки, створило умови для всебічного розширення горизонту пошуків нових сполук. Мікробіота моря сформувалась набагато раніше і в різноманітніших природних умовах ніж мікробіота суходолу та є значно менше вивченою в усіх аспектах. Дослідження біологічної активності низькомолекулярних сполук морського походження, зокрема на предмет антимікробної та цитостатичної активності, можна сміливо назвати одним з головних напрямків прикладних біологічних досліджень протягом останніх 20 років. У зв'язку з цим деякі автори навіть пропонують термін «морська фармакологія» [4].

Актинобактерії представляють одну з найбільших груп прокаріотних мікроорганізмів, яка включає грампозитивні бактерії, що мають різні морфологічні характеристики росту. Це аеробні або анаеробні, ниткоподібні, споруотворювальні бактерії, які зустрічаються у водному та наземному середовищі існування [5].



З плином часу, класифікація актинобактерій змінюється через отримання нової інформації про них за застосування молекулярних інструментів дослідження. На основі секвенування 16S рРНК та аналізу родинних зв'язків тип *Actinobacteria* входить до домену *Bacteria* і включає шість класів (*Acidimicrobiia*, *Actinobacteria*, *Coriobacteriia*, *Nitriliruptoria*, *Rubrobacteria*, *Themoleophilia*) та 34 порядки [6]. Серед актинобактерій представники роду *Streptomyces* характеризується як найважливіші продуценти біоактивних мікробних метаболітів [7].

В порівнянні з іншими бактеріями геном актинобактерій досить великий і варіює від 1 до 12 Мб, має обмежену кількість плазмід [8] та характеризується високим (60–75%) вмістом ГЦ пар в ДНК [9]. Актинобактерії демонструють велику різноманітність різних характеристик, зокрема толерантність до вологи, середовища проживання, відношення до рН та температури [10, 11].

Перше відкриття морської актинобактерії відбулося в 1984 році. З тих пір у водних системах по всьому світу було виявлено багато представників морських актинобактерій, з яких окремі види дуже поширені у Світовому океані [10]. Термін "морські мікроорганізми" до цього часу є досить умовним, оскільки йому немає чіткого визначення. Тому автори цієї статті використовують термін "морські мікроорганізми" в розумінні мікроорганізми, що ізолювані з морського середовища.

Морські актинобактерії можна знайти в будь-якій частині океану, наприклад, у товщі води, осаді, глибокому морі, а також у поєднанні з водоростями, губками та іншими морськими організмами. Взаємодія з іншими гідробіонтами може стимулювати унікальну хімічну екологію та формування нових вторинних метаболітів [12]. Біологічну різноманітність морських актинобактерій тільки починають вивчати та експлуатувати для виявлення нових біологічно активних сполук, а їх видова різноманітність досі залишається мало вивченою.

У актинобактерій, які є найважливішим джерелом біологічно активних природних продуктів для клінічного або фармацевтичного застосування, виявлено понад 5000 вторинних метаболітів з антибіотичною активністю. За прогнозами ці бактерії можуть виробляти до 150 000 різних хімічних протимікробних агентів [13].

Вторинні метаболіти актинобактерій відомі різноманітною біологічною активністю. Приблизно 23 000 антибіотиків було виявлено у різних мікроорганізмів, з них (~ 10 000) у актинобактерій. Серед актинобактерій рід *Streptomyces* становить основне джерело біоактивних молекул, оскільки бактерії кожного штаму виробляють приблизно 10–20 вторинних метаболітів з антимікробною, протипухлинною чи протизапальною активністю [14].

Сучасна наука розглядає вторинні метаболіти як групу низькомолекулярних, структурно різноманітних і складних біоактивних сполук. Встановлено, що активна стадія синтезу цих молекул у мікроорганізмів відбувається в кінці експоненціальної та на початку стаціонарної фази росту. Їх продукція починається на етапі виснаження поживних речовин та в несприятливих умовах середовища проживання.



На відміну від основних метаболітів, біосинтетичні шляхи, що використовуються для виробництва цих молекул, численні та до кінця не вивчені [15]. Серед ключових шляхів біосинтезу вторинних метаболітів з антибактеріальною активністю найкраще характеризуються нерибосомні (ключовий фермент пептидсинтетаза), β -лактамі, полікетидні (типу I – III, ключовий фермент полікетидсинтаза), рибосомно-полікетидні, олігоцукридні та шикімачні шляхи. Гени, відповідальні за біосинтез вторинних метаболітів, згруповані разом у невеликій кількості кластерів [16].

Підвищений інтерес до нових антибіотиків, отриманих із вторинних метаболітів морських бактерій, пов'язаний із досягненнями біотехнології останнього десятиліття [16,17]. Вони базуються на виявлених механізмах синтезу метаболітів за допомогою полікетидсинтаз [18,19] та нерибосомних пептидсинтетаз [20, 21], які є біосинтетичними шляхами, що широко використовуються морськими мікроорганізмами для виробництва антимікробних речовин [22].

Морські актинобактерії є перспективними кандидатами для виробництва вторинних метаболітів, які досліджуються як антибіотики та імуносупресори в медицині та ветеринарії [5].

Морське середовище відрізняється від наземного, тому морські актинобактерії мають особливі властивості та пристосування до специфічних умов морського середовища. В результаті морські актинобактерії здатні виробляти нові типи вторинних метаболітів, що відрізняється від актинобактерій з суходолу [23]. Саме тому морські мікроорганізми вважаються перспективним ресурсом нових біоактивних метаболітів, а саме макролідів, циклічних пептидів, полікетидів, терпенів, алкалоїдів та стероїдних алкалоїдів [24].

В таблиці наведено перелік біологічно активних сполук, що синтезують морські актинобактерії, виявлені в період з 2017 по 2020 рр.

Алкалоїди. Два рідкісних стероїдних алкалоїди *анандини* А і В, отримані з морської актинобактерії *Streptomyces anandii* H41-59, виділеної із зразка морського осаду з мангрової зони в Південно-Китайському морі. Анандин А виявив помірний пригнічувальний ефект проти трьох ліній клітин пухлин людини MCF-7 (клітинної лінії аденокарциноми протоків молочної залози людини), SF-268 (клітинної лінії гліобластоми людини) і NCI-H460 (клітинної лінії епітеліальної карциноми легенів людини) зі значеннями концентрації напівмаксимального пригнічення (PK_{50}) 7,5; 7,9; 7,8 мкМ, відповідно [25].

Дослідження штаму актинобактерії морського походження *Verrucosipora sp.* FIM06025, виділеного із зразка морської губки, відібраної зі Східно-Китайського моря, привело до відкриття нового алкалоїда 2-(гідроксиметил)-3-(2-(гідроксиметил)-3-метилазиридин-1-іл)(2-гідроксифеніл) метанона. Дослідження його біоактивності показало, що ця сполука демонструє широкий спектр антимікробної активності зі значеннями мінімальної пригнічувальної концентрації (МПК) в діапазоні від 3,4 до 200 мкМ проти *H. pylori*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *C. albicans* та *E. faecium* [26].

Дві біологічно активні сполуки були виділені із стрептоміцета *Streptomyces bingchenggensis* ULS14 ізольованого із зразків осаду лагуни Лагос, Нігерія. Структуру вилучених сполук визначали за допомогою спек-



Таблиця
Table

Біологічно активні сполуки морських актинобактерій, виявлені в період з 2017 по 2020 рр
Biologically active compounds of marine actinobacteria detected for the period from 2017 to 2020

Сполука	Штам	Джерело виділення	Посилання
Анандини А і В	<i>Streptomyces anandii</i> H41-59	Морський осад мангрової зони в Південно-Китайському морі	Yang-MeiZ., et al. 2017
Алкалоїд 2-(гідроксиметил)-3-(2-гідроксиметил)-3-метилазиридин-1-іл) (2-гідроксибеніл) метанон	<i>Verrucosispora</i> sp. FIM06025	Морська губка з Східно-Китайського моря	Ming-Hong C., et al. 2019
Дві сполуки структурно подібні до поліциклічного ксантону (кігаміцину) та індокарбазолу (стауроспорину) відповідно	<i>Streptomyces bingchengensis</i> ULS14	Осад лагуни Лагос, Нігерія	Isaac Adeyemi Adeleye, et al. 2019
Похідні 3-феніл-пропанової кислоти.	<i>Streptomyces coelicolor</i> LY001	Внутрішні тканини морської губки <i>Calyspongia siphonella</i> з Червоного моря	Shaala L. A., et al. 2020
Мікромонохаліман В (дигтерпенлід)	<i>Microtonospora</i> sp. WMMC-218	Морська асцидія з акваторії Флориди	Zhang Y., et al. 2017
Мариноціаніни А-Г (бромпохідні меротерпенолідів)	<i>Streptomyces</i> sp. CNS-284 <i>Streptomyces</i> sp. CNY-960	Морський осад в районі Соломонових островів	Asolkar R.N., et al. 2017
Сахарохінолін	<i>Saccharomonospora</i> sp. CNQ-490	Морський осад біля пристані Скриппса в Ла-Хойї (Каліфорнія, США)	Le T. C., et al. 2019
Гуаханолід А	<i>Streptomyces</i> sp. RKBHB7	Корали роду <i>Eunicea</i> sp.	Marchbank D. H., et al. 2020



Продовження таблиці

Нокардіопсистици А-С	<i>NoCARDiopsis sp.</i> НВ-І378	Морська губка <i>Theonella sp.</i>	Xu D., et al. 2018
Аказаміцин	<i>Nonotrigaea sp.</i> АКА32	Морська вода з глибини 800 м у затоці Сагамі, Японія	Yang T., et al. 2019
Фридаміцин D	<i>Streptomycetes sp.</i> DSD011	Морський осад біля узбережжя острова Г'антес, Ілоїло	Sabido E. M., et al. 2020
16-деметилрїфаміцини	<i>Microtopospora sp.</i> TP-A0468	Морська вода затоки Тояма, Японія	Zhou Q., et al. 2019
Сеалутоміцини А- D	<i>Nonotrigaea sp.</i> MM565M-173N2	Глибоководний осад біля узбережжя Санріку, Японія	Cheng C., et al. 2017
Петроцидин А	<i>Streptomycetes sp.</i> SBT348	Середземноморська губка <i>Petrosia ficiformis</i> , біля островів Поллонія і Мілос, Греція	Cheng C., et al. 2017
Тетрокарцин Q	<i>Microtopospora carbonacea</i> LS276	Губка <i>Gelliodes carnosus</i> з затоки Лін-шуй, Китай	Gong T., et al. 2018
Актинозин А	<i>Streptomycetes sp.</i> Call-36	Морська губка <i>Callispongia sp.</i> , з Червоного моря	Shaalal A., et al. 2019
Дезертоміцин G	<i>Streptomycetes althioiticus</i> MSM3.	Водорості <i>Ulva sp.</i> з Кантабрійського моря	Braña A.F. et al. 2019
Стрептодепептиди P11A і P11B	<i>Streptomycetes sp.</i> P11-23B	Морський осад з берегової лінії узбережжя Східно-Китайського моря	Xuwei Yea, et al. 2017
Ненасичені кетожирні кислоти (6E,8Z)- і (6E,8E)-5-оксо-6,8-тетрадекадієнових кислот	<i>Microsoccus sp.</i> C5-9	Кам'янистий корал <i>Catalaphyllia sp.</i> , Осака, Японія	Sharma A. R., et al. 2020
Флавоноїди 6-лавандуліл-7-метокси-5,2',4'-тригідроксифлаванон і 5'-лавандуліл-4'-метокси-2,4,2',6'-тетрагідроксилахалькон	<i>Streptomycetes sp.</i> G246	Губка <i>Halichondria raiiacea</i> біля острова Сон Тра, Дананг, В'єтнам	Sao D., et al. 2020



троскопічного аналізу, включаючи мас-спектрометр з йонізацією та ядерно магнітний резонанс та виявили, що сполука ULDF4 структурно подібна до поліциклічного ксантону, кігаміцину, а сполука ULDF5 за структурою подібна до індокарбазолу, стауроспорину. Сполуки ULDF4 та ULDF5 виявляють цитотоксичну дію щодо лінії клітин HeLa (карцинома шийки матки людини) зі значенням PK_{50} 0,034 мкМ та 0,075 мкМ, відповідно. Це дослідження вперше виявило протипухлинний потенціал актиноміцетів з лагуни Лагос, який рекомендовано використовувати в терапевтичних цілях [27].

Штам актинобактерії *Streptomyces coelicolor* LY001, виділений з внутрішніх тканин морської губки *Callyspongia siphonella* Червоного моря, продукує три нові природні хлоровані похідні 3-фенілпропанової кислоти. Усі виявлені хлоровані похідні 3-фенілпропіонової кислоти виявляють антимікробну активність щодо *Escherichia coli* і *Staphylococcus aureus* [28].

Терпеноїди. Мікромонохаліман В, отриманий з морської актинобактерії *Micromonospora sp.* WMMC-218, асоційованої з морською асцидією, виділеної в акваторії Флориди, виявляє помірну антибактеріальну активність проти стійкого до метициліну *Staphylococcus aureus* з МПК– 40 мкМ [29].

Мариноціаніни А-Е – цитотоксичні бром-феназинонові меротерпеноїди, що були очищені з культур двох штамів актинобактерій *Streptomyces sp.* CNS-284 та *Streptomyces sp.* CNY-960, виділених із зразків морських відкладень, зібраних в районі Соломонових островів. Вони демонструють цитотоксичну активність щодо НСТ-116 (клітинної лінії раку товстої кишки людини). Ці сполуки також пригнічують стійкі до амфотерицину *Candida albicans* та *Staphylococcus aureus*. Похідні мариноціаніну виявили високу протигрибкову активність щодо стійкого до амфотерицину *C. albicans* зі значенням МПК– 0,95 мкМ. На додаток до антимікробної активності вони показали високу цитотоксичну активність на клітинній лінії НСТ-116 зі значеннями PK_{50} – 0,049 та 0,029 мкМ, відповідно. Дослідження зв'язку структура–активність цих сполук виявили залежність біоактивності від терпенових субструктур [30].

Сахарохінолін – алкалоїдний меротерпеноїд, утворений актинобактерією *Saccharomonospora sp.* CNQ-490, який було ізольовано зі зразків осадів, виділених з глибини 45 м біля пристані Скрипса в Ла-Хойї (Каліфорнія, США). Проведений філогенетичний аналіз дав підстави виділити цю актинобактерію в нову оперативну таксономічну одиницю у роду *Saccharomonospora*. Сахарохінолін володіє значною цитотоксичністю для клітинної лінії НСТ-116 зі значенням PK_{50} , що дорівнює 10 мкМ. Ця сполука також може пригнічувати процес проліферації клітин [31].

Гуанаханолід А – це меротерпеноїд, який виділено та очищено з актинобактерії *Streptomyces sp.* RKBV7, ізольованої з коралів роду *Eunicea*. Ця сполука виявляє помірну цитотоксичну активність на клітинних лініях ракових клітин людини НТВ-26 (аденокарцинома молочної залози), НСТ-116 та MCF-7 зі значеннями PK_{50} – 10,1; 11,9 та 7,8 мкМ, відповідно [32].

Полікетиди. Три нові сполуки ангуциклінів – **нокардіопсистини А-С** отримано з морської глибоководної актинобактерії *Nocardioopsis sp.* НВ-1378 з колекції морських мікробних культур Океанографічного інституту Харбор Бранч, ізольованої з морської губки *Theonella sp.* Ці сполуки проде-



монстрували найкращу активність проти метицилінрезистентних бактерій *Staphylococcus aureus* (MRSA) при МПК – 3,12 мкМ [33].

Новий ароматичний полікетид аказаміцин, отримано від морської актинобактерії *Nonomuraea sp.* АКА32, виділеної з води на глибині 800 м затоки Сагамі, Японія. Аказаміцин виявив цитотоксичну дію щодо клітинної лінії меланоми мишей В16 зі значенням PK_{50} – 1,7 мкМ [34].

Штам *Streptomyces sp.* DSD011, ізолюваний з морських відкладень, зібраних біля узбережжя острова Гігантес, Ілоїло, продукує два поліциклічні ароматичні полікетидні ангуциклінові глікозиди фридаміцин А (А) і фридаміцин D (Б), які є продуктами біосинтезу полікетидсинтетази (ПКС) II типу. Сполуки А і Б виявляли антибактеріальну активність щодо MRSA за мінімальної пригнічувальної концентрації – 500 мкМ і 62,5 мкМ, відповідно [35].

Штам *Micromonospora sp.* TP-A0468 продукує активні сполуки деметилрїфаміцини. Попередні дослідження залежності структури та активності рїфаміцину показали, що атоми кисню в С-1, С8, С-23 та С-25 мають важливе значення для антибактеріальної активності. Одна з виявлених сполук має протимікробну активність проти *E. coli* при МПК – 32 мкМ та *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *M. smegmatis* зі значеннями МПК – 2,6; 1; 0,2 та 8,0 мкМ, відповідно [36].

Інші групи. Бактерії *Nonomuraea sp.* MM565M-173N2, ізолюваної з глибоководних відкладень біля узбережжя Санріку, Японія, синтезують нову сполуку сеалутоміцин А, яка виявляє високу антибактеріальну активність при МПК – 0,05–0,2 мкМ проти бактерій родини *Enterobacteriaceae* [37].

Новий циклічний дипептид петроцидин А продукує морська актинобактерія *Streptomyces sp.* SBT348, яку виділено із середземноморської губки *Petrosia ficiformis*, відібраної біля островів Полонія і Мілос, Греція. Петроцидин А виявив значну цитотоксичність щодо клітинних ліній HL-60 (клітинна лінія лейкемії людини) та HT-29 (аденокарциноми товстої кишки людини) [38].

Новий спіротетронатний глікозид тетрокарцин Q і шість відомих аналогів – тетрокарцин А, АС6Н, тетрокарцин N, тетрокарцин H, аризолатин А і тетрокарцин F1 виділені з актинобактерії морського походження *Micromonospora carbonacea* LS276, ізолюваної з губки *Gelliodes carnosus*, зібраної в затоці Лін-шуй, провінція Хайнань, Китай поблизу гавані Синькунь. Тетрокарцин Q виявив помірну антибактеріальну активність проти *Bacillus subtilis* ATCC 63501 з мінімальною пригнічувальною концентрацією 12,5 мкМ [39].

Дослідження культури актинобактерії *Streptomyces sp.* Call-36, асоційованої з губкою *Callyspongia sp.*, відібраною в Червоному морі, призвело до виділення та ідентифікації нового дикетопиперазину, актинозину А та двох нових нуклеозидів – тимідин-3-меркаптокарбамінової кислоти та тимідин-3-тіоаміну, які продемонстрували цитотоксичну та антимікробну активність [40].

Дезерттоміцин G отримано з морської актинобактерії *Streptomyces althioticus* MSM3, виділеної із зразків водоростей *Ulva sp.*, зібраних в Кантабрійському морі (північно-східний Атлантичний океан). Дезерттоміцин G проявляє сильну антибіотичну дію проти грампозитивних клінічних патогенів, таких як *Corynebacterium urealyticum*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus*



faecalis та помірну антибіотичну активність щодо відповідних грамнегативних клінічних патогенів, таких як *Bacteroides fragilis*, *Haemophilus influenzae* та *Neisseria meningitidis*. Крім того, сполука впливає на життєздатність ліній пухлинних клітин, таких як аденокарцинома молочної залози людини (MCF-7) і карцинома товстої кишки (DLD-1) [41].

Два нові циклодепсипептиди та відомий циклодепсипептид валіноміцин виділено з культури морської актинобактерії *Streptomyces sp.* P11-23B, яку ізолювали з проби мулу морської берегової лінії, зібраної з узбережжя Східно-Китайського моря, поблизу міста Чжоушань, Китай. Обидва стрептодепсипептиди P11A і P11B пригнічували проліферацію різних клітинних ліній гліоми зі значеннями PK_{50} від 0,1 мкМ до 1,4 мкМ. Встановлено, що стрептодепсипептид P11A блокує клітинний цикл на фазі G0/G1, індукує апоптоз у клітинах гліоми, знижує експресію важливих метаболічних ферментів пухлин НК2, PFKFB3, PKM2, GLS та FASN, [42].

Пару геометрично ізомерних ненасичених кетожирних (6E,8Z)- і (6E,8E)-5-оксо-6,8-тетрадекадієнових кислот виділено з актинобактерії *Micrococcus sp.* C5-9, ізолюваної з кам'янистого коралу *Catalaphyllia sp.*, Осака, Японія. Ці сполуки показали антибактеріальну активність проти патогена рослин *Rhizobium radiobacter* і збудника інфекцій у риб *Tenacibaculum maritimum* та виявляли антагоністичну активність проти рецепторів, що активуються проліфератором пероксисом [43].

Два нових флавоноїда 6-лавандуліл-7-метокси-5,2',4'-тригідроксилфлаванон і 5'-лавандуліл-4'-метокси-2,4,2',6'-тетрагідроксилхалькон отримано з морської актинобактерії *Streptomyces sp.* G246, асоційованої з губкою *Halichondria panicea*, відібраної біля острова Сон Тра (Дананг, В'єтнам). Обидві сполуки мають широкий спектр антимікробної активності щодо *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* та *Candida albicans* [44].

Узагальнення

Океан займає 71% поверхні Землі [46] і є джерелом ще невідомих мікроорганізмів та нових природних корисних продуктів. Рідкісні актиноміцети морського походження є потенційно багатим джерелом різноманітних хімічних речовин, структурно унікальних вторинних метаболітів та нових терапевтичних сполук [45, 48]. Найбільш активними виробниками нових вторинних метаболітів є представники *Micromonospora*, *Salinispora*, *Verrucosispora*, *Pseudonocardia* та *Actinoalloteichus*.

Методи високопродуктивного секвенування метагеномів морських мікроорганізмів дають можливість розширити знання та виявити нові види актиноміцетів, які раніше не були виділені класичними методами [49, 50]. Ізолювання рідкісних актиноміцетів у звичайних експериментах з культивуванням, як правило, мало ефективно [47], проте без культивованого мікроорганізму неможливо повною мірою використати його унікальний генетичний потенціал.

Багата різноманітність мікроорганізмів у морських середовищах існування є також свідченням наявності різноманітності актинобактерій, які на сьогодні не піддаються культивуванню, та їх вторинних метаболітів. Ця не-



культивована більшість повинна бути метою майбутніх стратегій та процедур вибіркової ізоляції. Крім того, набуває популярності, генетична інженерія цілих біосинтетичних кластерів генів, яка може бути ключем доступу до прихованих кластерів генів від рідкісних актинобактерій [51].

Е.С. Потапенко, Н.В. Коротаева, В.А. Иваныця

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина,
e-mail: Korotaeva.n@onu.edu.ua

ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ МОРСКИХ АКТИНОБАКТЕРИЙ С АНТИБИОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Реферат

Морские актинобактерии являются активными продуцентами и богатым неиспользованным источником различных биологически активных вторичных метаболитов, таких как антибиотики, противоопухолевые, противовирусные и противовоспалительные соединения, биопестициды, гормоны роста растений, пигменты, ферменты, ингибиторы ферментов. В этом обзоре представлены данные современных источников литературы, в том числе, за период с 2017 по 2021 годы непосредственно о различных биоактивных соединениях, которые продуцируют морские актинобактерии, их антибиотическую активность и биотехнологический потенциал, приведены основные группы вторичных метаболитов и их продуценты.

Ключевые слова: морские актинобактерии, вторичные метаболиты, биоактивные вещества, антимикробная активность, противоопухолевая активность

K.S. Potapenko, N.V. Korotaieva, V.O. Ivanytsia

Odessa I.I. Mechnikov National University,
st. Dvoryanskaya, 2, Odessa, 65082, Ukraine

SECONDARY METABOLITES OF MARINE ACTINOBACTERIA WITH ANTIBIOTIC ACTIVITY

Summary

Marine actinobacteria are active producers and an unused rich source of various biologically active secondary metabolites, such as antibiotics, antitumor, antiviral and antiinflammatory compounds, biopesticides, plant growth hormones, pigments, enzymes, enzyme inhibitors. In this review describes data from current literature sources for the period from 2017 to 2021 about various bioactive compounds that produce marine actinobacteria, their antibiotic activity and biotechnological potential, the main groups of secondary metabolites and their producers.

Key words: marine actinobacteria, secondary metabolites, bioactive substances, antimicrobial activity, antitumor activity



СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Khan S.N., Khan A.U. Breaking the spell: Combating multidrug resistant 'Superbugs' // *Front. Microbiol.* –2016. – V. 7. – 174 p.
2. Biliavska L.A., Efimenko T.A., Efremenkova O.V. et al. Identification and antagonistic properties of the soil streptomycete *Streptomyces sp.* 100 // *Мікробіологічний журнал.* –2016. –V. 78(2). –P. 61–73.
3. Мацелюх Б.П., Бамбура О.І., Копейко О.П., Стоянова О.Л. Виділення і характеристика антибіотиків стрептоміцетів, ізольованих із ґрунтів України // *Мікробіол. журнал.* –2011. –Т. 73, № 1. – С. 17–23.
4. Malve H. Exploring the ocean for new drug developments: Marine pharmacology // *Journal of pharmacy & bioallied sciences* – 2016. – V. 83.
5. Bhatti A.A., Haq S., Bhat R.A. Actinomycetes benefaction role in soil and plant health // *Microbial Pathogenesis.* – 2017. – V. 111. – P. 458–467.
6. Parte A.C., Sardà Carbasse J., Meier-Kolthoff J.P. et al. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* – 2020. – V. 70. – P. 5607–5612.
7. Gao B., Gupta R.S. Phylogenetic framework and molecular signatures for the main clades of the phylum *Actinobacteria* // *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* – 2012. – V. 76. – P. 66–112.
8. Lewin G.R., Carlos C., Chevrette M.G. et al. Evolution and Ecology of *Actinobacteria* and their bioenergy applications // *Microbiological Research.* – 2016. – V. 70 (1). – P. 235–254.
9. Barka E.A., Vatsa P., Sanchez L. et al. Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria // *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* – 2015. – V. 80. – P. 1–43.
10. Jagannathan S.V., Manemann E.M., Rowe S.E. et al. Marine Actinomycetes, New Sources of Biotechnological Products // *Marine Drugs.* – 2021. – V. 19. – 365 p.
11. Saito S., Kato W., Ikeda H. et al. Discovery of "heat shock metabolites" produced by thermotolerant actinomycetes in high-temperature culture // *Antibiotics.* – 2020. – V. 73. – P. 203–210.
12. Subramani R., Aalbersberg W. Marine actinomycetes: An ongoing source of novel bioactive metabolites // *Microbiological Research.* – 2012. – V. 167 – P. 571–580.
13. Wang Y.P., Lei Q.Y. Metabolite sensing and signaling in cell metabolism // *Signal Transduction and Targeted Therapy.* – 2018. – V. 3. – 30 p.
14. Manivasagan P., Venkatesan J., Sivakumar K., Kim S.K. Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria // *Microbiological Research.* – 2014. – V. 169 (4). – P. 262–278.
15. Pinu F.R., Villas-Boas S.G., Aggio R. Analysis of Intracellular Metabolites from Microorganisms: Quenching and Extraction Protocols // *Metabolites.* – 2017. – V. 7. – 53 p.
16. Baral B., Akhgari A., Metsä-Ketelä M. Activation of microbial secondary metabolic pathways: Avenues and challenges // *Synthetic and Systems Biotechnology.* – 2018. – V. 3 (3). – P. 163–178.



17. Wright G.D. Something old, something new: revisiting natural products in antibiotic drug discovery // Canadian Journal of Microbiology. – 2014. – V. 60. – P. 147–154.
18. Tareq F.S., Kim J.H., Lee M.A. et al. Ieodoglucomides A and B from a marine-derived bacterium *Bacillus licheniformis* // Organic Letters. – 2012. – V. 14. – P. 1464–1467.
19. Robbins T., Liu Y.C., Cane D.E., Khosla C. Structure and mechanism of assembly line polyketide synthases // Current Opinion Structural Biology. – 2016. – V. 41. – P. 10–18.
20. Strieker M., Tanovi'c A., Marahiel M.A. Nonribosomal peptide synthetases: structures and dynamics // Current Opinion Structural Biology. – 2010. – V. 20. – P. 234–240.
21. Gulick A.M. Nonribosomal peptide synthetase biosynthetic clusters of ES-KAPE pathogens // Natural Products Reports. – 2017. – V. 34. – P. 981–1009.
22. Alfermann J., Sun X., Mayerthaler F. et al. FRET monitoring of a nonribosomal peptide synthetase // Nature Chemical Biology. – 2017. – V. 13. – P. 1009–1015.
23. Ulfah M., Kasanah N., Handayani N.S.N. Bioactivity and genetic screening of marine Actinobacteria associated with red algae *Gelidiella acerosa* // Indonesian Journal of Biotechnology. – 2017. – V. 22. – P. 13–21.
24. Blunt J.W., Copp B.R., Keyzers R.A. et al. Marine natural products // Natural Product Reports. – 2015. – V. 32. – P. 116–211.
25. Yang-Mei Z., Bai-Lian L., Xin-Heng Z. Anandins A and B, Two Rare Steroidal Alkaloids from a Marine *Streptomyces anandii* H41-59 // Marine drugs. – 2017. – V. 15 (11). – P. 355;
26. Ming-Hong C., Wen-Long Z., Li C. et al. Isolation, purification and identification of two new alkaloids metabolites from marine-derived *Verrucosipora* sp. FIM06025 // Natural Product Research. – 2019. – V. 33 (20). – P. 2897–2903.
27. Adeleye I.A., Akinleye M.O., Wang P.G. Anticancer potential of metabolic compounds from marine actinomycetes isolated from Lagos Lagoon sediment // Journal of Pharmaceutical Analysis. – 2019. – V. 9 (3). – P. 201–208.
28. Shaala L.A., Youssef D.T.A., Alzughaibi T.A., Elhady S.S. Antimicrobial chlorinated 3-phenylpropanoic acid derivatives from the red sea marine actinomycete *Streptomyces coelicolor* LY001 // Mar Drugs. – 2020. – V. 18(9). – P. 450 p.
29. Zhang Y., Adnani N., Braun D.R. et al. Micromonohalimanes A and B: Antibacterial halimane-type diterpenoids from a marine *Micromonospora species* // Journal of Natural Product. – 2017. – V. 79. – P. 2968–2972.
30. Asolkar R.N., Singh A., Jensen P.R. et al. Marinocyanins, cytotoxic bromo-phenazinone meroterpenoids from a marine bacterium from the streptomycete clade MAR4 // Tetrahedron. – 2017. – V. 73. – P. 2234–2241.
31. Le T.C., Lee E.J., Lee J. et al. Saccharoquinoline, a cytotoxic alkaloidal meroterpenoid from marine-derived bacterium *Saccharomonospora sp* // Marine drugs. – 2019. – V. 17. – P. 98 p.
32. Marchbank D.H., Ptycia-Lamky V.C., Decken A. et al. Guanahanolide A, a



- meroterpenoid with a sesterterpene skeleton from coral-derived *Streptomyces* sp // Organic Letters. – 2020. – V. 22. – P. 6399–6403.
33. Xu D., Nepal K.K., Chen J. et al. Nocardiosistins A – C: New angucyclines with anti-MRSA activity isolated from a marine sponge-derived *Nocardioopsis* sp. HB-J378 // Synthetic and Systems Biotechnology.– 2018. – V. 3 (4). –P. 246–251.
34. Yang T., Yamada K., Zhou T. et al. Akazamicin, a cytotoxic aromatic polyketide from marine-derived *Nonomuraea* sp // J Antibiot. – 2019. – V. 72. – P. 202–209.
35. Sabido E.M., Tenebro C.P., Suarez A.F.L. et al. Marine Sediment-Derived *Streptomyces* Strain Produces Angucycline Antibiotics against Multi-drug-Resistant *Staphylococcus aureus* Harboring SCC *mec* Type 1 Gene // Journal of Marine Science and Engineering.– 2020. – V.8 (10). – 734 p.
36. Zhou Q., Luo G.C., Zhang H., Tang G.L. Discovery of 16- demethylrifamycins by removing the predominant polyketide biosynthesis pathway in *Micromonospora* sp. strain TPA0468 // Appl. Environ. Microbiol. – 2019. – V. 85. – e02597–18.
37. Igarashi M., Sawa R., Umekita M. et al. Sealutomicins, new enediyne antibiotics from the deep-sea actinomycete *Nonomuraea* sp. MM565M-173N2 // Antibiot (Tokyo). –2021. – V. 74 (5). – P. 291–299.
38. Cheng C., Othman E. M., Stopper H. et al. Isolation of Petrocidin A, a New Cytotoxic Cyclic Dipeptide from the Marine Sponge-Derived Bacterium *Streptomyces* sp. SBT348 // Marine Drugs. – 2017. – V. 15 (12). –383 p.
39. Gong T., Zhen X., Li X-L. et al. Tetrocarcin Q, a New Spirotetronate with a Unique Glycosyl Group from a Marine-Derived Actinomycete *Micromonospora carbonacea* LS276 // Marine Drugs.–2018. – V. 16 (2). –74 p.
40. Shaala L.A., Youssef D.T.A., Badr J.M. et al. Bioactive Diketopiperazines and Nucleoside Derivatives from a Sponge-Derived *Streptomyces* sp // Marine Drugs.–2019. – V. 17 (10). –584 p.
41. Braña A. F., Sarmiento-Vizcaíno A., Pérez-Victoria I. et al. Desertomycin G, a new antibiotic with activity against *Mycobacterium tuberculosis* and human breast tumor cell lines produced by *Streptomyces althioticus* MSM3, isolated from the Cantabrian Sea Intertidal Macroalgae *Ulva* sp. // Marine Drugs.–2019. –V. 17 (2). –114 p.
42. Xuwei Y., Komal A., Tengfei S. et al. Antiproliferative cyclodepsipeptides from the marine actinomycete *Streptomyces* sp. P11-23B down regulating the tumor metabolic enzymes of glycolysis, glutaminolysis, and lipogenesis // Phytochemistry. – 2017. –V. 135. – P. 151–159.
43. Sharma A.R., Harunari E., Oku N. et al. Two antibacterial and PPAR α / γ -agonistic unsaturated keto fatty acids from a coral-associated actinomycete of the genus *Micrococcus* // Beilstein J Org Chem.– 2020. – V. 2 (16). – P. 297–304.
44. Cao D.D., Do T.Q., Doan H. Mai T. et al. Antimicrobial lavandulylated flavonoids from a sponge-derived actinomycete // Natural Product Research. – 2020. – V. 34 (3). – P. 413–420.
45. Challinor V.L., Bode H.B. Bioactive natural products from novel microbial sources // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2015. – V. 1354. – P. 82–97.



46. Berdy J. Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading // *J. Antibiot.* – 2012. – V. 65. – P. 385–395.
47. Barka E.A., Vatsa P., Sanchez L. et al. Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2016. – V. 80. – P. 1–43.
48. Dhakal D., Pokhrel A.R., Shrestha B., Sohng J.K. Marine rare actinobacteria: Isolation, characterization, and strategies for harnessing bioactive compounds // *Front. Microbiol.* – 2017. – V. 8. – 1106 p.
49. Azman A.S., Othman I., Velu S.S. et al. Mangrove rare actinobacteria: Taxonomy, natural compound and discovery of bioactivity // *Front. Microbiol.* – 2015. – V. 6. – 856 p.
50. Arul Jose P., Jha B. Intertidal marine sediment harbours Actinobacteria with promising bioactive and biosynthetic potential // *Sci. Rep.* – 2017. – V. 7. – 10041 p.
51. Loureiro C., Medema M.H., van der Oost J., Sipkema D. Exploration and exploitation of the environment for novel specialized metabolites // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2018. – V. 50. – P. 206–213.

REFERENCES

1. Khan SN, Khan AU. Breaking the spell: Combating multidrug resistant ‘Superbugs’. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 174 p.
2. Biliavska LA, Efimenko TA, Efremenkova OV et al. Identification and antagonistic properties of the soil streptomycete *Streptomyces sp.* 100. *Mikrobiolohichnyi zhurnal.* 2016; 78 (2): 61- 73.
3. Matselyukh BP, Bambura OI, Kopeyko OP, Stoyanova OL. Isolation and characteristics of streptomycete antibiotics isolated from the soils of Ukraine. *Microbiol. zurnal.* 2011; 73 (1): 17- 23.
4. Malve H. Exploring the ocean for new drug developments: Marine pharmacology. *Journal of pharmacy & bioallied sciences.* 2016; 83.
5. Bhatti AA, Haq S, Bhat RA. Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial Pathogenesis.* 2017; 111: 458- 467.
6. Parte AC, Sardà Carbasse J, Meier-Kolthoff JP et al. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 2020; 70: 5607- 5612.
7. Gao B, Gupta RS. Phylogenetic framework and molecular signatures for the main clades of the phylum Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 2012; 76: 66-112.
8. Lewin GR, Carlos C, Chevrette MG et al. Evolution and Ecology of Actinobacteria and their bioenergy applications. *Microbiological Research.* 2016; 70 (1): 235- 254.
9. Barka EA, Vatsa P, Sanchez L et al. Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 2015; 80: 1- 43.
10. Jagannathan SV, Manemann EM, Rowe SE et al. Marine Actinomycetes, New Sources of Biotechnological Products. *Marine Drugs.* 2021; 19: 365 p.
11. Saito S, Kato W, Ikeda H et al. Discovery of “heat shock metabolites” pro-



- duced by thermotolerant actinomycetes in high-temperature culture. *Antibiotics*. 2020;73: 203- 210.
12. Subramani R, Aalbersberg W. Marine actinomycetes: An ongoing source of novel bioactive metabolites. *Microbiological Research*. 2012; 167: 571- 580.
 13. Wang YP, Lei QY. Metabolite sensing and signaling in cell metabolism. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2018; 3: 30 p.
 14. Manivasagan P, Venkatesan J, Sivakumar K, Kim SK. Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria. *Microbiological Research*. 2014;169 (4): 262- 278.
 15. Pinu FR, Villas-Boas SG, Aggio R. Analysis of Intracellular Metabolites from Microorganisms: Quenching and Extraction Protocols. *Metabolites*. 2017; 7: 53 p.
 16. Baral B, Akhgari A, Metsä-Ketelä M. Activation of microbial secondary metabolic pathways: Avenues and challenges. *Synthetic and Systems Biotechnology*. 2018; 3 (3): 163- 178.
 17. Wright GD. Something old, something new: revisiting natural products in antibiotic drug discovery. *Canadian Journal of Microbiology*. 2014; 60: 147- 154.
 18. Tareq FS, Kim JH, Lee MA et al. Ieodoglucomides A and B from a marine-derived bacterium *Bacillus licheniformis*. *Organic Letters*. 2012; 14: 1464- 1467.
 19. Robbins T, Liu YC, Cane DE, Khosla C. Structure and mechanism of assembly line polyketide synthases. *Current Opinion Structural Biology*. 2016; 41: 10- 18.
 20. Strieker M, Tanović A, Marahiel MA. Nonribosomal peptide synthetases: structures and dynamics. *Current Opinion Structural Biology*. 2010; 20: 234- 240.
 21. Gulick AM. Nonribosomal peptide synthetase biosynthetic clusters of ES-KAPE pathogens. *Natural Products Reports*. 2017; 34: 981- 1009.
 22. Alfermann J, Sun X, Mayerthaler F et al. FRET monitoring of a nonribosomal peptide synthetase. *Nature Chemical Biology*. 2017; 13: 1009- 1015.
 23. Ulfah M, Kasanah N, Handayani NSN. Bioactivity and genetic screening of marine Actinobacteria associated with red algae *Gelidiella acerosa*. *Indonesian Journal of Biotechnology*. 2017; 22: 13- 21.
 24. Blunt JW, Copp BR, Keyzers RA et al. Marine natural products. *Natural Product Reports*. 2015; 32: 116- 211.
 25. Yang-Mei Z, Bai-Lian L, Xin-Heng Z. Anandins A and B, Two Rare Steroidal Alkaloids from a Marine *Streptomyces anandii* H41-59. *Marine drugs*. 2017; 15 (11): 355 p.
 26. Ming-Hong Chen, Wen-Long Zhang, Li Chen et al. Isolation, purification and identification of two new alkaloids metabolites from marine-derived *Verrucospora* sp. FIM06025. *Natural Product Research*. 2019; 33 (20): 2897- 2903.
 27. Adeleye I-A, Akinleye M-O, Wang P-G. Anticancer potential of metabolic compounds from marine actinomycetes isolated from Lagos Lagoon sediment. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2019; 9 (3): 201- 208.



28. Shaala LA, Youssef DTA, Alzughabi TA, Elhady SS. Antimicrobial chlorinated 3-phenylpropanoic acid derivatives from the red sea marine actinomycete *Streptomyces coelicolor* LY001. *Mar Drugs*.2020; 18(9): 450 p.
29. Zhang Y, Adnani N, Braun DR et al. Micromonohalimanes A and B: Antibacterial halimane-type diterpenoids from a marine *Micromonospora species*. *Journal of Natural Product*. 2017; 79: 2968- 2972.
30. Asolkar RN, Singh A, Jensen PR et al. Marinocyanins, cytotoxic bromo-phenazinone meroterpenoids from a marine bacterium from the streptomycete clade MAR4. *Tetrahedron*. 2017; 73: 2234- 2241.
31. Le TC, Lee EJ, Lee J et al. Saccharoquinoline, a cytotoxic alkaloidal meroterpenoid from marine-derived bacterium *Saccharomonospora sp.* *Marine drugs*. 2019; 17: 98 p.
32. Marchbank DH, Ptycia-Lamky VC, Decken A et al. Guanahanolide A, a meroterpenoid with a sesterterpene skeleton from coral-derived *Streptomyces sp.* *Organic Letters*. 2020; 22: 6399- 6403.
33. Xu D, Nepal KK, Chen J et al. Nocardiopeptins A – C: New angucyclines with anti-MRSA activity isolated from a marine sponge-derived *Nocardiopepsis sp.* HB-J378. *Synthetic and Systems Biotechnology*.2018; 3 (4): 246- 251.
34. Yang T, Yamada K, Zhou T et al. Akazamicin, a cytotoxic aromatic polyketide from marine-derived *Nonomuraea sp.* *J Antibiot*. 2019; 72: 202- 209.
35. Sabido EM, Tenebro CP, Suarez AFL et al. Marine Sediment-Derived *Streptomyces* Strain Produces Angucycline Antibiotics against Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* Harboring SCC *mec* Type 1 Gene. *Journal of Marine Science and Engineering*.2020; 8 (10): 734 p.
36. Zhou Q, Luo GC, Zhang H, Tang GL. Discovery of 16- demethylrifamycins by removing the predominant polyketide biosynthesis pathway in *Micromonospora sp.* strain TPA0468. *Appl. Environ. Microbiol*. 2019; 85: e02597–18.
37. Igarashi M, Sawa R, Umekita M et al. Sealutomicins, new enediyne antibiotics from the deep-sea actinomycete *Nonomuraea sp.* MM565M-173N2. *Antibiot (Tokyo)*. 2021; 74 (5): P. 291- 299.
38. Cheng C, Othman EM, Stopper H et al. Isolation of Petrocidin A, a New Cytotoxic Cyclic Dipeptide from the Marine Sponge-Derived Bacterium *Streptomyces sp.* SBT348. *Marine Drugs*. 2017; 15 (12): 383p.
39. Gong T, Zhen X, Li X-L et al. Tetrocarcin Q, a New Spirotetronate with a Unique Glycosyl Group from a Marine-Derived Actinomycete *Micromonospora carbonacea* LS276. *Marine Drugs*. 2018; 16 (2): 74 p.
40. Shaala LA, Youssef DTA, Badr JM et al. Bioactive Diketopiperazines and Nucleoside Derivatives from a Sponge-Derived *Streptomyces sp.* *Marine Drugs*.2019; 17 (10): 584 p.
41. Braña AF, Sarmiento-Vizcaíno A, Pérez-Victoria I et al. Desertomycin G, a new antibiotic with activity against *Mycobacterium tuberculosis* and human breast tumor cell lines produced by *Streptomyces althioticus* MSM3, isolated from the Cantabrian Sea Intertidal Macroalgae *Ulva sp.* *Marine Drugs*. 2019; 17 (2): 114 p.
42. Xuewei Y, Komal A, Tengfei S et al. Antiproliferative cyclodepsipeptides



- from the marine actinomycete *Streptomyces* sp. P11-23B downregulating the tumor metabolic enzymes of glycolysis, glutaminolysis, and lipogenesis. *Phytochemistry*. 2017; 135: 151- 159.
43. Sharma A R, Harunari E, Oku N et al. Two antibacterial and PPAR α/γ -agonistic unsaturated keto fatty acids from a coral-associated actinomycete of the genus *Micrococcus*. *Beilstein J Org Chem*. 2020; 2 (16): 297- 304.
 44. Duc Danh Cao, Thi Quynh Do, Huong Doan Thi Mai et al. Antimicrobial lavandulylated flavonoids from a sponge-derived actinomycete. *Natural Product Research*. 2020; 34 (3): 413- 420.
 45. Challinor VL, Bode HB. Bioactive natural products from novel microbial sources. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2015; 1354: 82- 97.
 46. Berdy J. Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading. *J. Antibiot.* 2012; 65: 385- 395.
 47. Barka EA, Vatsa P, Sanchez Let al. Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2016; 80: 1- 43.
 48. Dhakal D, Pokhrel AR, Shrestha B, Sohng JK. Marine rare actinobacteria: Isolation, characterization, and strategies for harnessing bioactive compounds. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 1106 p.
 49. Azman AS, Othman I, Velu S et al. Mangrove rare actinobacteria: Taxonomy, natural compound and discovery of bioactivity. *Front. Microbiol.* 2015; 6: 856 p.
 50. Arul Jose P, Jha B. Intertidal marine sediment harbours Actinobacteria with promising bioactive and biosynthetic potential. *Sci. Rep.* 2017; 7: 10041 p.
 51. Loureiro C, Medema MH, van der Oost J, Sipkema D. Exploration and exploitation of the environment for novel specialized metabolites. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2018; 50: 206- 213.

Стаття надійшла до редакції 19.11.2021 р.



¹S.Ya. Komplikevych, ¹O.D. Maslovska, ¹T.B. Peretyatko,
¹O.M. Moroz, ^{2,3,4}I.Y. Parnikoza, ¹S.O. Hnatysh

¹Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskiy Str., Lviv, 79005, Ukraine,
tel.: +38 (097) 927-12-59, e-mail: svitlana.hnatysh@lnu.edu.ua

²State Institution, National Antarctic Scientific Centre, Ministry of Education and Science
of the Ukraine, Kyiv, av. Taras Shevchenko, 16, Kyiv, 01601, Ukraine

³Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine,
Akademik Zabolotny str., 150, Kyiv, 03143, Ukraine

⁴National University of Kyiv-Mohyla Academy,
G. Skovorody, 2, Kyiv 04655, Ukraine

ISOLATION OF BACTERIA FROM THE SITES OF FEED AND NESTING ACTIVITY OF *LARUS DOMINICANUS* (GALINDEZ ISLAND, THE MARITIME ANTARCTIC) AND THEIR CHARACTERISTICS

The **aim** of the study was to investigate the number of different groups of microorganisms in soil samples from sites of feed and nesting activity of *Larus dominicanus* (Galindez Island, the maritime Antarctic) and to characterize the physiological and biochemical properties of isolated microorganisms. **Methods.** In the work standard microbiological and biochemical research methods were used (cultural, microscopy methods, determination of enzymatic activity). Genomic DNA was isolated by soft lysis. The 16 S rRNA gene was amplified using universal primers 27F and 1492R. Identification of isolates was performed based on the determination of the 16 S rRNA gene sequence, physiological and biochemical properties. **Results.** The number of microorganisms of different groups in soil samples from sites of food and nesting activity of *Larus dominicanus* (Galindez Island, the maritime Antarctic) was established. 74 isolates of bacteria were isolated. Isolate 2U-K-37, that was isolated from upper layer of soil, and isolate 2B-K-54, that was isolated from a depth of 2–5 cm, were characterized by amylase, lipase, phospholipase, protease activities, the ability to form exopolysaccharides. They were identified by sequencing of the 16 S rRNA gene, physiological and biochemical properties as *Pedobacter* sp. 2U-K-37 and *Pseudarthrobacter* sp. 2B-K-54. In the soil samples from sites of feed and nesting activity of *Larus dominicanus* microorganisms that metabolize nitrogen of organic compounds were the most numerous. Oligotrophic microorganisms and microorganisms that metabolize nitrogen of inorganic compounds were less numerous. The number of microorganisms of groups in the samples from the soil surface and lower layers differed statistically significant. Isolated and identified obligate psychrophilic strain *Pedobacter* sp. 2U-K-37 and psychrotolerant strain *Pseudarthrobacter* sp. 2B-K-54 are moderate halophiles that are able to hydrolyze starch, gelatin, tween-20 and synthesize exopolysaccharides.



Key words: Antarctic microorganisms, Pedobacter sp., Pseudarthrobacter sp., exopolysaccharides, halophiles, enzymatic activity

Despite the fact that Antarctica is the largest desert on Earth, which is almost completely covered with ice, the various biotopes of this continent are characterized by a significant species diversity of microorganisms [11, 12, 24]. In areas with extreme conditions of existence, the microorganisms that are resistant to unfavourable factors of environment are often found, and understanding of their biology has significant fundamental importance because it expands the knowledge about the properties of microorganisms of extreme environments and mechanisms of their adaptation at these conditions, and is also important for the creation of biotechnologies that have applications in industry, medicine, etc. [18]. Enzymes of psychrophilic microorganisms are of practical importance because they are active at low temperatures. Resistant to factors of environment psychrophilic microorganisms can be used for the synthesis of nanoparticles, in particular, silver, tellurium-containing nanostructures and semiconductor fluorescent nanoparticles, biofuels, biocontrol of phytopathogens, bioremediation of contaminated environments, etc. [24]. Among Antarctic microorganisms a number of producers of antimicrobial compounds [12] and antiproliferative molecules [15], which can be used as anti-cancer drugs [21], have been detected. Antarctic microbial populations have been intensively studied in recent decades [11, 12, 24]. The use of deep sequencing techniques has significantly expanded knowledge about the diversity of prokaryotes and the composition of microbial populations of different Antarctic biotopes [10]. It is established that the main representative groups of Antarctic microorganisms are phyla *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, and *Firmicutes* [21]. Culturally independent methods make it possible to obtain a large number of sequences and determine the genera of microorganisms that are present in the sample, but do not provide information about the physiological and biochemical characteristics of these microorganisms.

It is shown that one of the carriers of various components of vegetation may be a common in the region flying bird – the kelp gull (*Larus dominicanus*) [17], it also forms a somewhat specific biotope that has not been studied from the view point of microbiology.

The aim of the study was to investigate the number of major groups of microorganisms in soil samples from nesting sites of *Larus dominicanus* (Galindez Island, the maritime Antarctic) and to characterize the physiological and biochemical properties of isolated microorganisms.

Materials and methods

The material for the study were samples from the soil surface and from a depth of 2–5 cm from the site of food and nesting activity of *Larus dominicanus* in the edge of Moss Valley on Galindez Island (-65.247453, -064.249915), 15 m asl. selected 04.03.2021 (Fig. 1). Gulls have here a site of their activity and nesting on the edge of the rocky slope covered by the grouping of *Short moss turf and chusion subformation* and *Bryophyte mat and carpet subformation* with the participation of *Deschampsia antarctica* É. Desv. There are fragments of *Tall moss turf subforma-*



tion. Directly in the area of kelp gull activity, a specific community was formed on food waste – limpets and plant materials uprooted and applied by *Larus dominicanus*– moss mats *Sanionia* sp., *Pohlia cruda* (Hedw.) Lindb and lichen fragments of *Usnea antarctica* Du Rietz. Here is the nest of these birds, which is used for many years and consists mainly of plant materials. Mainly on these area there are leptosols. The depth of the section of the soil, formed mainly by organic residues, is 3–4 cm. Samples were taken in four replicates and the average sample was prepared by mixing equal masses of each sample. The obtained average samples were used to determine the number of microorganisms by cultural method.



Fig. 1. Place of soil sampling for research

The content of hygroscopic water in the samples was determined by the weight method. The soil was dried for 5 hours in drying cabinet at 105 °C to receive a constant mass. The content of hygroscopic water in the soil was determined by the formula: $\frac{a \times 100}{b} = \% \text{ hygroscopic water}$, where a is the weight loss after drying, b is the mass of dry soil.

To study the number of microorganisms of different groups, a soil suspension was prepared. To do this, 1 g of soil was added to 9 ml of 0.9% NaCl solution, mixed thoroughly and left for one hour, then mixed again. Serial dilutions of soil suspension were sown on tryptone soy agar to isolate the microorganisms that metabolize nitrogen of organic compounds, diluted tryptone soy agar (1/10) – oligotrophic microorganisms, Ashby's medium – oligonitrophilic and nitrogen-fixing microorganisms, starch-ammonia agar – microorganisms that metabolize inorganic



nitrogen compounds, Hutchinson's medium – cellulolytic microorganisms, Vynogradsky medium – microorganisms that carry out the I and II phases of nitrification, Menkina medium – microorganisms that metabolize organic phosphate-containing compounds. To obtain the isolates, single colonies of microorganisms were reseeded into appropriate media, received a pure culture and investigated their properties.

Genomic DNA was isolated using the soft lysis method [8]. Purification from proteins was carried out by salting with potassium acetate. DNA was precipitated with isopropanol and washed with 70% ethanol. DNA was dissolved in deionized water.

The 16S rRNA gene was amplified using universal primers 27F and 1492R [23]. PCR reaction was performed in a volume of 50 μ l using Taq polymerase (NEB M0273X) on a Mastercycler pro thermal cycler (Eppendorf, Germany). Genomic DNA of strains was used as a template for the PCR reaction. The reaction mixture typically contained 1.0 U of Taq Polymerase and 10 \times PCR buffer (ThermoFischer Scientific, USA), 0.04 mM of each deoxynucleotide, 600 nM of each amplification primer, ca. 50 ng of genomic template DNA, and purified water to volume. The PCR reaction products were analyzed by electrophoresis of DNA in agarose gel and visualized by staining with ethidium bromide. PCR products about 1.5 kbp were purified from the gel using silica columns "QiaQuick" ("Qiagen", USA), analyzed for DNA concentration and purification quality using DeNovix DS-11 microvolume spectrophotometer. The products were sequenced from primers 27F and 1492R using BigDye terminators mix and fragments were analyzed on ABI Prism 3130 xl. The resulting nucleotide sequences (two for each sample corresponding to DNA readings from 27F and 1492R primers) were quality checked, assembled, trimmed and compared with the sequences in GenBank database by BLAST search.

The morphology of cells (cell shape, size, ability to form spores, determination of the composition and structural organization of the cell wall after Gram staining) was investigated using light (Carl Zeiss Axio Lab.A1 binocular microscope, an Olympus IX73 inverted microscope with a DP-74 digital camera) and transmission electron microscopy [19]. Gram staining was performed using a dye kit (Merck, USA). Also, the type of bacterial cell wall was determined using a 3% solution of KOH. A culture was added to a drop of KOH solution and mixed. Gram-negative bacteria form strands that extend 0.5–2 cm. Bacterial ability to spore formation was determined both microscopically (Peshkov-Trujillo method) and by culturing a pre-pasteurized cell suspension. Catalase activity was detected by the apparent release of O₂ after applying to the colony of the isolate a few drops of 10% H₂O₂ [1,2]. Oxidase activity was detected using strips with N,N-dimethyl-p-phenylenediamine oxalate, and α -naphthol (Millipore, USA). Relation to oxygen was determined by the nature of growth in fluid thioglycollate medium (Merck, USA). Bacterial motility was detected by the nature of growth in the TSA column with 0.2% agar. The optimum growth temperature was determined after 5 days of growing at 4, 16, 20, 25, or 37 °C. Halotolerance of isolates was established after 5 days of cultivation on starch ammonia agar with 0.9–15% NaCl. ID 32 GN kit (bioMérieux, France) was used to detect the ability of isolates to metabolize different carbon sources. Different carbon sources fermentation was detected during growth in Hiss media with arabinose, glucose, dulcitol, inositol, xylose, lactose,



maltose, mannitol, mannose, rhamnose, sucrose, sorbitol. Peculiarities of metabolism of nitrogen-containing compounds were determined after growth in TSB with cysteine (0.01%) by a color change of litmus (ammonia release) and lead acetate (hydrogen sulfide, mercaptan release) indicator papers. For detection the ability to fix nitrogen bacteria were grown on Ashby medium. The proteolytic activity of the investigated isolates was evaluated by their ability to liquefaction of gelatin after growth in a column of TSB-gelatin [1, 14]. Amylase activity was evaluated by the growth on SAA and the formation of visible zones of starch hydrolysis around the colonies after the application of Lugol's solution on the colony [1, 22]. Lipase activity was evaluated by the ability of isolates to form crystals of calcium salts of fatty acids around the colonies after growth on medium with Tween-20 [13]. Exopolysaccharides were extracted from EDTA (2%) for 3 hours at 4 °C, then centrifuged at 15000 g for 20 min at 4 °C [16]. The content of exopolysaccharides in the obtained supernatant was determined using anthrone [6].

The results are presented as the arithmetic mean (M) taking into account the standard error (m). The significance of the difference between the mean values was determined by Student's criterion ($p \leq 0.05$; $p \leq 0.01$). Statistical analysis of the data was performed in "Microsoft Office Excel 2016" and OriginPro 8.5.

Results and discussion

In soil samples from the nesting site of *Larus dominicanus* (Galindez Island, the maritime Antarctic), the number of microorganisms of different groups was in the range of 10^4 – 10^6 CFU/g of dry soil and depended on the depth of sampling (Fig. 2). Oligotrophic microorganisms were the most numerous group of microorganisms in the sample taken from the soil surface, and in the sample from a depth of 2–5 cm were dominated the microorganisms that metabolize nitrogen of organic compounds, which is probably due to higher content of organic compounds in deeper soil layers. The number of microorganisms that metabolize nitrogen of inorganic compounds in both samples was lower by 70–95%, compared with the number of microorganisms that metabolize nitrogen of organic compounds and oligotrophic microorganisms in the upper and lower layers. The difference in the number of microorganisms in the samples from the soil surface and from a depth of 2–5 cm was statistically significant. In the samples taken from the soil surface, the number of microorganisms that metabolize inorganic nitrogen compounds was 10 times higher, the number of nitrifying microorganisms was 33 times higher, and the number of microorganisms that metabolized phosphate-containing organic compounds was 12 times higher compared to samples taken from a depth of 2–5 cm. In the studied samples the number of cellulolytic microorganisms was insignificant, and the colonies that grew had the morphology of microscopic fungi.

The ability of bacteria to grow on starch-ammonia medium, Hutchinson's medium, Menkina's medium, etc. involves the presence in the cells of these bacteria the necessary enzymes for the destruction of substances that are in composition of the media. 74 isolates of bacteria were obtained from the studied Antarctic soil samples. Of these, 21 metabolized twin-20 (lipase activity), 7 – egg lecithin (phospholipase activity), 6 – starch (amylase activity). 3 isolates were characterized by lipase and phospholipase activities, 4 isolates – by lipase and amylase activities,



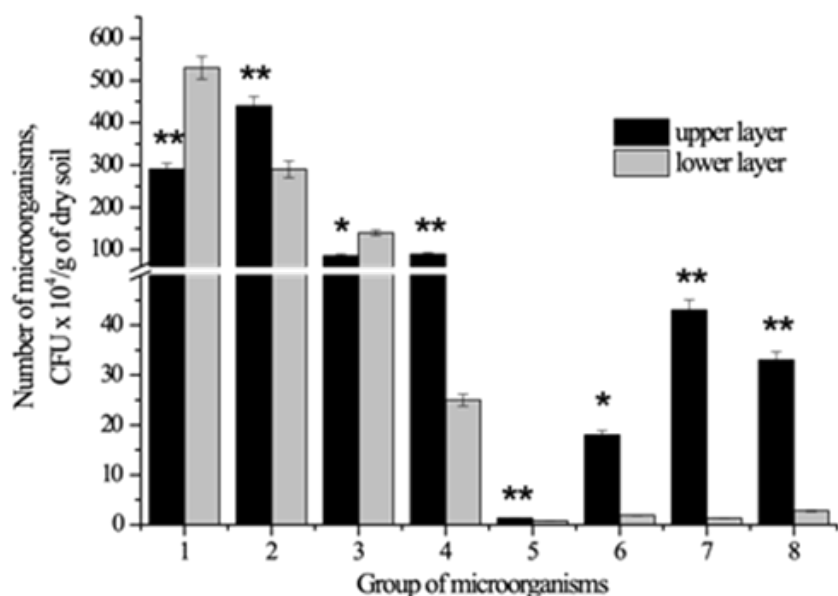


Fig. 2. The number of microorganisms of different groups from the soil from the kelp gull feeding and nesting site on edge of Moss Valley (Galindez Island, the maritime Antarctic): 1 – microorganisms that metabolize nitrogen of organic compounds; 2 – oligotrophic microorganisms; 3 – oligonitrophilic microorganisms; 4 – microorganisms that metabolize inorganic nitrogen compounds; 5 – cellulolytic microorganisms; 6 – microorganisms that carry out the I phase of nitrification; 7 – microorganisms that carry out the II phase of nitrification; 8 – microorganisms that metabolize phosphate-containing organic compounds ($p \leq 0.05$; $p \leq 0.01$ – significant changes in the number of microorganisms in the upper and lower soil layers)

and 3 isolates – by phospholipase and amylase activities. Isolates 2U-K-37 and 2B-K-54 were characterized by well-expressed amylase, lipase, phospholipase, protease activities, ability to form exopolysaccharides. The 16 S rRNA gene sequence of these isolates was established. According to the results of pairwise alignment performed in the BLASTN NCBI service, the sequence of the 16 S rRNA gene of isolate 2U-K-37 was 98.37% identical to the sequence of the 16 S rRNA gene of strain *Pedobacter humicola* R135, 97.84% identical to the sequence of the 16 S rRNA gene of strain *Pedobacter borealis* G-1; the sequence of the 16 S rRNA gene of isolate 2B-K-54 was 99.24% identical to the sequence of the 16 S rRNA gene of strain *Pseudarthrobacter sulfonivorans* ALL.

Cells of bacteria *Pedobacter* sp. 2U-K-37 are rod-shaped, cells are single or form chains. Spores don't form. Immovable. Gram-negative. On starch-ammonia agar, surface round shiny colonies of pink color with a smooth edge are formed, which darken as the colonies age (Fig. 3, A). Colonies are small, 1–3 mm in diameter. Catalase-positive, oxidase-negative. Grow at temperatures of +4...+25 °C. The optimum temperature for growth is +20±1 °C. The optimum pH is 6.8–7.3. Microaerophiles. Halotolerant, grow on starch-ammonia agar with 15% NaCl. On

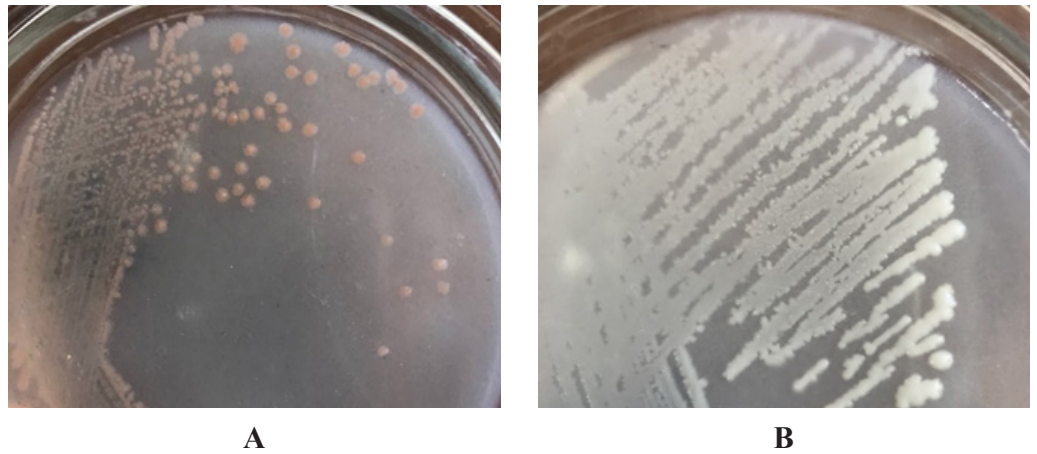


Fig. 3. Colonies of *Pedobacter* sp. 2U-K-37 (A) and *Pseudarthrobacter* sp. 2B-K-54 (B) on starch-ammonia agar

tryptone soy broth, the nature of growth is steady, which is accompanied by the production of ammonia. Hydrogen sulfide during growth on tryptone soy broth is not produced. Indole is not formed from tryptophan. When used as carbon sources lactose, maltose and glucose form an acid. During growth in Hiss medium with lactose, xylose, mannitol and glucose cause liquefaction of the medium. Characterized by amylolytic, lipolytic (hydrolysis of tween-20) and proteolytic (gelatin dilution) activities. They are capable to nitrification. Grow on agar water and on diluted tryptone soy agar.

Bacteria *Pedobacter* sp. 2U-K-37 are obligate psychrophiles that differ from closely related strains of *P. borealis* G-1^T, *P. humicola* R135^T, *Pedobacter kyonggii* K-4-11-1^T, *Pedobacter yonginense* HMD1002^T in tolerance to high concentrations of NaCl (table 1). A common feature of *Pedobacter* sp. 2U-K-37 and *P. borealis* G-1^T is the ability to hydrolyze starch. The assimilation of carbon sources differs in different strains of *Pedobacter*, so it is obviously a strain-specific feature.

Cells of bacteria *Pseudarthrobacter* sp. 2B-K-54 are wrong shape, cells are single. Spores don't form. Immovable. Gram-positive. On starch-ammonia agar form surface round shiny colonies of white color with a smooth edge, 1–3 mm in diameter (Fig. 3, B). Catalase-positive, oxidase-negative. Grow at temperatures of +4...+28 °C. The optimum temperature for growth is +20±1 °C. The optimum pH is 6.8–7.3. Aerobes. Halotolerant, grow on starch-ammonia agar with 15% NaCl. In tryptone soy broth the nature of growth is steady, which is accompanied by the hydrogen sulfide production. Ammonia is not produced during growth on tryptone soy broth. Indole is not formed from tryptophan. Assimilate L-rhamnose, N-acetylglucosamine, D-ribose, inositol, D-sucrose, D-maltose, itaconic acid, lactic acid, L-alanine, potassium 5-ketogluconate, potassium 2-ketogluconate, glycogen, 3-hydroxybenzoic acid, 4-hydroxybenzoic acid, L-serine, D-mannitol, D-glucose, salicine, D-melibiose, L-fucose, D-sorbitol, L-arabinose, 3-hydroxybutyrate, L-proline. When used rhamnose, arabinose, glucose, dulcitol, inositol, xylose, lactose, maltose, mannitol, manose, sucrose and sorbitol an acid and gas are not formed.



Table 1

Differential characteristics of strain 2U-K-37 and phylogenetically related species of the genus *Pedobacter*

Properties	<i>Pedobacter</i> sp. 2U-K-37	<i>Pedobacter</i> <i>borealis</i> G-1 ^T [5]	<i>Pedobacter</i> <i>humicola</i> R135 ^T [7]	<i>Pedobacter</i> <i>kyongii</i> K-4-11-1 ^T [4]	<i>Pedobacter</i> <i>yonginense</i> HMD1002 ^T [9]
Isolation source	Soil	Soil	Soil	Forest soil	Fresh water
Colony colour	Light pink	Reddish-pink	Light pink	Salmon-coloured	Red
Maximum growth temperature (°C)	25	30	42	32	37
NaCl tolerance (% w/v)	15.0	nd	6.0	1.5	0.5
Catalase	+	+	+	+	+
Oxidase	–	+	–	+	+
Hydrolysis of: gelatin starch	+ +	+ +	nd –	+ –	– –
Assimilation of:					
L-Rhamnose	+	+	+	w	–
Sodium acetate	–	nd	+	–	nd
Lactic acid	–	nd	w	–	–
Melibiose	–	nd	nd	w	+
Glycogen	–	–	–	–	+
3-Hydroxybenzoic acid	–	nd	w	–	nd
L-Arabinose	–	+	+	+	–
Propionic acid	–	nd	+	–	–
Valeric acid	–	nd	+	–	nd
4-Hydroxybenzoic acid	–	nd	w	–	nd
L-Proline	–	nd	–	+	+

Note: “+” – positive; “w” – weak reaction; “–” – negative; “nd” – data not available.

Do not assimilate suberic acid, sodium malonate, sodium acetate, propionic acid, capric acid, valeric acid, sodium citrate, L-histidine. They are characterized by amylolytic, lipolytic (hydrolysis of tween-20) and proteolytic (gelatin dilution) activities. They are capable to nitrogen fixation and nitrification. Grow on agar water and on starvation agar.

Bacteria *Pseudarthrobacter* sp. 2B-K-54 differ from closely related species *Pseudarthrobacter psychrotolerans* YJ56^T, *P. sulfonivorans* ALL^T, *Pseudarthrobacter oxydans* DSM 20119^T, *Pseudarthrobacter polychromogenes* DSM 20136^T in resistance to NaCl and ability to hydrolyze starch and gelatin (table 2).

During the growth of bacteria *Pedobacter* sp. 2U-K-37 and *Pseudarthrobacter* sp. 2B-K-54 on starch-ammonia agar for 14 days, they produced 10 times more expolysaccharides at a temperature of 4 °C than of 18 °C (Table 3).



Table 2
 Differential characteristics of strain 2B-K-54 and phylogenetically related species
 of the genus *Pseudarthrobacter*

Properties	<i>Pseudarthrobacter</i> 2B-K-54	<i>Pseudarthrobacter</i> <i>psychrotolerans</i> YJ56 ¹ [20]	<i>Pseudarthrobacter</i> <i>sulfovorans</i> ALL ¹ [20]	<i>Pseudarthrobacter</i> <i>oxydans</i> DSM 20119 ¹ [20]	<i>Pseudarthrobacter</i> <i>polychromogenes</i> DSM 20136 ¹ [20]
Isolation source	Antarctic soil	Antarctic soil	Soil from the root balls of <i>Allium aflatumense</i>	Air	Air
Growth temperature, °C	4–28	4–28	4–30	28–37	10–37
NaCl tolerance (% w/v)	15.0	6.0	2.5	10.0	7.5
Oxidase activity	–	–	+	+	+
Hydrolysis of: starch gelatin	+ +	– –	– –	w +	w +

Note: “+” – positive; “w” – weak reaction; “–” – negative; “nd” – data not available.



Table 3

Influence of temperature on synthesis of exopolysaccharides by bacteria *Pedobacter* sp. 2U-K-37 and *Pseudarthrobacter* sp. 2B-K-54

Bacteria	Concentration of exopolysaccharides, mg/g bacteria biomass	
	Temperature of cultivation	
	18 °C	4 °C
<i>Pedobacter</i> sp. 2U-K-37	10.86±1.29	108.86±1.84**
<i>Pseudarthrobacter</i> sp. 2B-K-54	11.45±0.59	117.73±15.96**

Note: “***” – $p \leq 0,01$ – significant changes in the concentration of exopolysaccharides of bacteria cultivated at 4 °C compared with the concentration of exopolysaccharides of bacteria cultivated at 18 °C.

We assume that the higher content of exopolysaccharides synthesized by the bacteria *Pedobacter* sp. 2U-K-37 and *Pseudarthrobacter* sp. 2B-K-54 at 4 °C is associated with their cryoprotective function, as described in bacteria *Marinobacter* W1–16 from the maritime Antarctic [3].

Conclusion

In the soil samples from sites of feed and nesting activity of *Larus dominicanus* microorganisms that metabolize nitrogen of organic compounds were the most numerous. Oligotrophic microorganisms and microorganisms that metabolize nitrogen of inorganic compounds were less numerous. The number of microorganisms of groups in the samples from the soil surface and lower layers differed statistically significant. Isolated and identified obligate psychrophilic strain *Pedobacter* sp. 2U-K-37 and psychrotolerant strain *Pseudarthrobacter* sp. 2B-K-54 are moderate halophiles that are able to hydrolyze starch, gelatin, tween-20 and synthesize exopolysaccharides.

This study was performed and partially funded under the State Target Scientific and Technical Program of Research in Antarctica for 2011–2023 within project 0121U112291 "Microbiota of terrestrial plant grouping of the maritime Antarctic".



¹С.Я. Комплікевич, ¹О.Д. Масловська, ¹Т.Б. Перетятко,
¹О.М. Мороз, ^{2,3,4}І.Ю. Парнікоза, ¹С.О. Гнатуш

¹Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Університетська, 1, Львів, 79000, Україна

²Національний антарктичний центр МОН України,
бульвар Тараса Шевченка, 16, Київ, 01601, Україна

³Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

⁴Національний університет "Кієво-Могилянська академія",
вул. Г. Сковороди, 2, Київ, 04070, Україна

ВИДІЛЕННЯ БАКТЕРІЙ З МІСЦЯ ХАРЧОВОЇ І ГНІЗДОВОЇ АКТИВНОСТІ *LARUS DOMINICANUS* (О. ГАЛІНДЕЗ, МОРСЬКА АНТАРКТИКА) ТА ЇХНЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Реферат

Метою роботи було дослідити чисельність різних груп мікроорганізмів у зразках ґрунту з місця харчової і гніздової активності *Larus dominicanus* (острів Галіндез, Морська Антарктика) та охарактеризувати фізіолого-біохімічні властивості виділених мікроорганізмів. **Методи.** У роботі використовували стандартні мікробіологічні і біохімічні методи досліджень (культуральний, методи мікроскопування, визначення ензиматичної активності). Хромосомну ДНК виділяли методом м'якого лізису. Ген 16 S рРНК ампліфікували із використанням універсальних праймерів 27F і 1492R. Ідентифікацію ізолятів проводили на основі визначення послідовності гена 16 S рРНК і фізіолого-біохімічних властивостей. **Результати.** Встановлено чисельність різних груп мікроорганізмів у зразках ґрунту з місця харчової і гніздової активності *Larus dominicanus* (острів Галіндез, Морська Антарктика). Виділено 74 ізоляти бактерій. Ізолят 2U-K-37, виділений з верхнього шару ґрунту, та ізолят 2B-K-54, виділений з глибини 2–5 см, характеризувались амілазною, ліпазною, фосфоліпазною, протеазною активностями, здатністю утворювати екзополісахариди. Їх ідентифікували за результатами секвенування гена 16 S рРНК та фізіолого-біохімічними властивостями як *Pedobacter* sp. 2U-K-37 та *Pseudarthrobacter* sp. 2B-K-54. **Висновки.** У зразках ґрунту з місця харчової і гніздової активності *Larus dominicanus* найбільш чисельними були мікроорганізми, які метаболізують нітроген органічних сполук. Менше було оліготрофів і мікроорганізмів, які метаболізують нітроген неорганічних сполук. Чисельність мікроорганізмів у зразках з поверхні ґрунту і нижчих шарів статистично відрізнялась. Виділені й ідентифіковані облигатно психрофільний штам *Pedobacter* sp. 2U-K-37 і психротолерантний штам *Pseudarthrobacter* sp. 2B-K-54 є помірними галофілами, які здатні гідролізувати крохмаль, желатин, твін-20 і синтезувати екзополісахариди.

Ключові слова: антарктичні мікроорганізми, *Pedobacter* sp., *Pseudarthrobacter* sp., екзополісахариди, галофіли, ензиматична активність



¹С.Я. Компликевич, ¹О.Д. Масловская, ¹Т.Б. Перетятко,
¹О.М. Мороз, ^{2,3,4}И.Ю. Парникоза, ¹С.А. Гнатуш

¹Львовский национальный университет имени Ивана Франко,
ул. Университетская, 1, Львов, 79000, Украина

²Национальный антарктический центр МОН Украины,
бульвар Тараса Шевченко, 16, Киев, 01601, Украина

³Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 150, Киев, 03143, Украина

⁴Национальный университет “Киево-Могилянская академия”
ул. Г. Сковороды, 2, Киев, 04070, Украина

ВИДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ ИЗ МЕСТА ПИЩЕВОЙ И ГНЕЗДОВОЙ АКТИВНОСТИ *LARUS DOMINICANUS* (О. ГАЛИНДЕЗ, МОРСКАЯ АНТАРКТИКА) И ИХ ХАРАКТЕРИСТИКА

Реферат

Целью работы было исследовать численность различных групп микроорганизмов в образцах почвы с места пищевой и гнездовой активности *Larus dominicanus* (остров Галиндез, Морская Антарктика) и определить физиолого-биохимические свойства выделенных микроорганизмов. **Методы.** В работе использовали стандартные микробиологические и биохимические методы исследований (культуральный, методы микроскопирования, определение энзиматической активности). Общую ДНК выделяли методом мягкого лизиса. Ген 16 S рРНК амплифицировали с использованием универсальных праймеров 27F и 1492R. Изоляты идентифицировали на основании определения последовательности гена 16 S рРНК и физиолого-биохимических свойств. **Результаты.** Установлена численность различных групп микроорганизмов в образцах почвы с места пищевой и гнездовой активности *Larus dominicanus* (остров Галиндез, Морская Антарктика). Выделены 74 изолята бактерий. Изолят 2U-K-37, выделенный из верхнего слоя почвы, и изолят 2B-K-54, выделенный из глубины 2–5 см, характеризовались амилазной, липазной, фосфолипазной, протеазной активностью, способностью синтезировать экзополисахариды. Их идентифицировали по результатам секвенирования гена 16 S рРНК и физиолого-биохимическим свойствам как *Pedobacter* sp. 2U-K-37 и *Pseudarthrobacter* sp. 2B-K-54. **Выводы.** В образцах почвы с места пищевой и гнездовой активности *Larus dominicanus* наиболее многочисленными были микроорганизмы, метаболизирующие азот органических соединений. Меньше было олиготрофов и микроорганизмов, метаболизирующих азот неорганических соединений. Количество микроорганизмов в образцах с поверхности почвы и нижних слоев статистически отличалось. Выделенные и идентифицированные облигатно-психрофильный штамм *Pedobacter* sp. 2U-K-37 и психротолерантный штамм *Pseudarthrobacter* sp. 2B-K-54 являются умеренными галофилами, способными гидролизовать крахмал, желатин, твин-20 и синтезировать экзополисахариды.

Ключевые слова: антарктические микроорганизмы, *Pedobacter* sp., *Pseudarthrobacter* sp., экзополисахариды, галофилы, энзиматическая активность



СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Гудзь С.П., Гнатуш С.О., Яворська Г.В., Білінська І.С., Борсукевич Б.М. Практикум з мікробіології. – Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2014. – 436 с.
2. Arenas F.A., Pugin B., Henríquez N.A., Arenas-Salinas M.A., Díaz-Vásquez W.A., Pozo M.F., Muñoz C.M., Chasteen T.G., Pérez-Donoso J.M., Vásquez C.C. Isolation, identification and characterization of highly tellurite-resistant, tellurite-reducing bacteria from Antarctica // *PolarScience*. – 2014. – Vol. 8, № 1. – P. 40–52.
3. Caruso C., Rizzo C., Mangano S., Poli A. Isolation, characterization and optimization of EPSs produced by a cold-adapted *Marinobacter* isolate from Antarctic seawater // *Antarctic science*. – 2019. – Vol. 31, № 2. – P. 69–79.
4. Chaudhary D.K., Lee S.D., Kim J. *Pedobacter kyonggii* sp. nov., a psychrotolerant bacterium isolated from forest soil // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. – 2017. – Vol. 67, № 12. – P. 5120–5127.
5. Dahal R.H., Kim J. *Pedobacter humicola* sp. nov., a member of the genus *Pedobacter* isolated from soil // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. – 2016. – Vol. 66, № 6. – P. 2205–2211.
6. Frølund B., Palmgren R., Keiding K., Nielsen P.H. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin // *Water research*. – 1996. – Vol. 30, № 8. – P. 1749–1758.
7. Gordon N.S., Valenzuela A., Adams S.M., Ramsey P.W., Pollock J.L., Holben W.E., Gannon J.E. *Pedobacter nyackensis* sp. nov., *Pedobacter alluvionis* sp. nov. and *Pedobacter borealis* sp. nov., isolated from Montana flood-plain sediment and forest soil // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. – 2009. – Vol. 59, № 7. – P. 1720–1726.
8. Green M.R., Sambrook J. *Molecular Cloning: Laboratory Manual*. – 4th ed. – Cold Spring Harbor; New York, 2012.
9. Joung Y., Kim H., Joh K. *Pedobacter yonginense* sp. nov., isolated from a mesotrophic artificial lake in Korea // *The Journal of Microbiology*. – 2010. – Vol. 48, № 4. – P. 536–540.
10. Lambrechts S., Willems A., Tahon G. Uncovering the uncultivated majority in Antarctic soils: toward a synergistic approach // *Frontiers in microbiology*. – 2019. – Vol. 10. – article 242.
11. Lamilla C., Pavez M., Santos A., Hermosilla A., Llanquinao V., Barrientos L. Bioprospecting for extracellular enzymes from culturable *Actinobacteria* from the South Shetland Islands, Antarctica // *Polar Biol*. – 2017. – Vol. 40. – P. 719–726.
12. Lee J., Cho Y.J., Yang J.Y., Jung Y.J., Hong S.G., Kim O.S. Complete genome sequence of *Pseudomonas antarctica* PAMC 27494, a bacteriocin-producing psychrophile isolated from Antarctica // *Journal of biotechnology*. – 2017. – Vol. 259. – P. 15–18.
13. Lo Giudice A., Michaud L., De Pascale D., De Domenico M., Di Prisco G., Fani R., Bruni V. Lipolytic activity of Antarctic cold-adapted marine bacteria (Terra Nova Bay, Ross Sea) // *Journal of applied microbiology*. – 2006. – Vol. 101, № 5. – P. 1039–1048.



14. *Loperena L., Soria V., Varela H., Lupo S., Bergalli A., Guigou M., Pellegrino A., Bernardo A., Calviño A., Rivas F., Batista S.* Extracellular enzymes produced by microorganisms isolated from maritime Antarctica // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. – 2012. – Vol. 28, № 5. – P. 2249–2256.
15. *Mojib N., Nasti T.H., Andersen D.T., Attigada V.R., Hoover R.B., Yusuf N., Bej A.K.* The antiproliferative function of violacein-like purple violet pigment (PVP) from an Antarctic *Janthino bacterium* sp. Ant5-2 in UV-induced 2237 fibrosar coma // *International journal of dermatology*. – 2011. – Vol. 50, № 10. – P. 1223–1233.
16. *Pan X., Liu J., Zhang D., Chen X., Li L., Song W., Yang J.* A comparison of five extraction methods for extracellular polymeric substances (EPS) from biofilm by using three dimensional excitation-emission matrix (3DEEM) fluorescence spectroscopy // *WaterSA*. – 2010. – Vol. 36, № 1.
17. *Parnikoza I., Rozhok A., Convey P., Veselski M., Esefeld J., Ochyra R., Mustafa O., Braun C., Peter H.-U., Smykla J., Kunakh V., Kozeretska I.* Spread of Antarctic vegetation by the kelp gull: comparison of two maritime Antarctic regions // *Polar Biology*. – 2018. – Vol. 41, № 6. – P. 1143–1155.
18. *Perfumo A., Banat I.M., Marchant R.* Going green and cold: biosurfactants from low-temperature environments to biotechnology applications // *Trends Biotechnol.* – 2018. – Vol. 36. – P. 277–289.
19. *Reynolds E.S.* The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy // *Journal of cell biology*. – 1963. – Vol. 17, № 1. – P. 208–212.
20. *Shin Y., Lee B.H., Lee K.E., Park W.* *Pseudarthrobacter psychrotolerans* sp. nov., a cold-adapted bacterium isolated from Antarctic soil // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 2020. – Vol. 70, № 12. – P. 6106–6114.
21. *Silva T.R., Duarte A.W., Passarini M.R., Ruiz A.L.T., Franco C.H., Moraes C.B., de Melo I.S., Rodrigues R.A., Fantinatti-Garboggini F., Oliveira V.M.* Bacteria from Antarctic environments: diversity and detection of antimicrobial, antiproliferative, and antiparasitic activities // *Polar Biology*. – 2018. – Vol. 41, № 7. – P. 1505–1519.
22. *Sushma V.K., Abha S., Chander P.* Isolation and characterization of *Bacillus subtilis* KC3 for amylolytic activity // *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. – 2012. – Vol. 2, № 5. – P. 336–341.
23. *Turner S., Pryer K.M., Miao V.P., Palmer J.D.* Investigating deep phylogenetic relationships among cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis // *Journal of Eukaryotic Microbiology*. – 1999. – Vol. 46, № 4. – P. 327–338.
24. *Yarzabal L.A.* Antarctic psychrophilic microorganisms and biotechnology: history, current trends, applications, and challenges. In *Microbial models: from environmental to industrial sustainability*. – Singapore: Springer, 2016. – P. 83–118.



REFERENCES

1. Hudz' SP, Hnatush SO, Yavorska HV, Bilinska IS, Borsukevych BM *Praktykum z mikrobiolohii* [Guidebook on microbiology]. – Lviv: Vyd. tsentr LNU imeni Ivana Franka. – 2014. – 436 p. (in Ukrainian)
2. Arenas FA, Pugin B, Henríquez NA, Arenas-Salinas MA, Díaz-Vásquez WA, Pozo MF, Muñoz CM, Chasteen TG, Pérez-Donoso JM, Vásquez CC. Isolation, identification and characterization of highly tellurite-resistant, tellurite-reducing bacteria from Antarctica. *Polar Science*. 2014; 8(1): 40–52.
3. Caruso C, Rizzo C, Mangano S, Poli A. Isolation, characterization and optimization of EPSs produced by a cold-adapted *Marinobacter* isolate from Antarctic seawater. *Antarctic Science*. 2019; 31(2): 69–79.
4. Chaudhary DK, Lee SD, Kim J. *Pedobacter kyonggii* sp. nov., a psychrotolerant bacterium isolated from forest soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2017; 67(12): 5120–5127.
5. Dahal RH, Kim J. *Pedobacter humicola* sp. nov., a member of the genus *Pedobacter* isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2016; 66(6): 2205–2211.
6. Frølund B, Palmgren R, Keiding K, Nielsen PH. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water Research*. 1996; 30(8): 1749–1758.
7. Gordon NS, Valenzuela A, Adams SM, Ramsey PW, Pollock JL, Holben WE, Gannon JE. *Pedobacter nyackensis* sp. nov., *Pedobacter alluvionis* sp. nov. and *Pedobacter borealis* sp. nov., isolated from Montana flood-plain sediment and forest soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2009; 59(7): 1720–1726.
8. Green MR, Sambrook J. *Molecular Cloning: Laboratory Manual*. (4th ed.). Cold Spring Harbor; New York, 2012.
9. Joung Y, Kim H, Joh K. *Pedobacter yonginense* sp. nov., isolated from a mesotrophic artificial lake in Korea. *The Journal of Microbiology*. 2010; 48(4): 536–540.
10. Lambrechts S, Willems A, Tahon G. Uncovering the uncultivated majority in Antarctic soils: toward a synergistic approach. *Frontiers in Microbiology*. 2019; 10: article 242.
11. Lamilla C, Pavez M, Santos A, Hermosilla A, Llanquiao V, Barrientos L. Bioprospecting for extracellular enzymes from culturable Actinobacteria from the South Shetland Islands, Antarctica. *Polar Biol*. 2017; 40: 719–726.
12. Lee J, Cho YJ, Yang JY, Jung YJ, Hong SG, Kim OS. Complete genome sequence of *Pseudomonas antarctica* PAMC 27494, a bacteriocin-producing psychrophile isolated from Antarctica. *Journal of Biotechnology*. 2017; 259: 15–18.
13. Lo Giudice A, Michaud L, De Pascale D, De Domenico M, Di Prisco G, Fani R, Bruni V. Lipolytic activity of Antarctic cold-adapted marine bacteria (Terra Nova Bay, Ross Sea). *Journal of Applied Microbiology*. 2006; 101(5): 1039–1048.
14. Loperena L, Soria V, Varela H, Lupo S, Bergalli A, Guigou M, Pellegrino A, Bernardo A, Calviño A, Rivas F, Batista S. Extracellular enzymes produced



- by microorganisms isolated from maritime Antarctica. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2012; 28(5): 2249–2256.
15. Mojib N, Nasti TH, Andersen DT, Attigada VR, Hoover RB, Yusuf N, Bej AK. The antiproliferative function of violacein-like purple violet pigment (PVP) from an Antarctic *Janthinobacterium* sp. Ant5-2 in UV-induced 2237 fibrosarcoma. *International Journal of Dermatology*. 2011; 50(10): 1223–1233.
 16. Pan X, Liu J, Zhang D, Chen X, Li L, Song W, Yang J. A comparison of five extraction methods for extracellular polymeric substances (EPS) from biofilm by using three dimensional excitation-emission matrix (3DEEM) fluorescence spectroscopy. *Water SA*. 2010; 36(1).
 17. Parnikoza I, Rozhok A, Convey P, Veselski M, Esefeld J, Ochyra R, Mustafa O, Braun C, Peter H-U, Smykla J, Kunakh V, Kozeretska I. Spread of Antarctic vegetation by the kelp gull: comparison of two maritime Antarctic regions. *Polar Biology*. 2018; 41(6): 1143–1155.
 18. Perfumo A, Banat IM, Marchant R. Going green and cold: biosurfactants from low-temperature environments to biotechnology applications. *Trends Biotechnol*. 2018; 36: 277–289.
 19. Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*. 1963; 17(1): 208–212.
 20. Shin Y, Lee BH, Lee KE, Park W. *Pseudarthrobacter psychrotolerans* sp. nov., a cold-adapted bacterium isolated from Antarctic soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2020; 70(12): 6106–6114.
 21. Silva TR, Duarte AW, Passarini MR, Ruiz ALT, Franco CH, Moraes CB, de Melo IS, Rodrigues RA, Fantinatti-Garboggini F, Oliveira VM. Bacteria from Antarctic environments: diversity and detection of antimicrobial, antiproliferative, and antiparasitic activities. *Polar Biology*. 2018; 41(7): 1505–1519.
 22. Sushma VK, Abha S, Chander P. Isolation and characterization of *Bacillus subtilis* KC3 for amylolytic activity. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. 2012; 2(5): 336–341.
 23. Turner S, Pryer KM, Miao VP, Palmer JD. Investigating deep phylogenetic relationships among cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 1999; 46(4): 327–338.
 24. Yarzabal LA. Antarctic psychrophilic microorganisms and biotechnology: history, current trends, applications, and challenges. In *Microbial models: from environmental to industrial sustainability*. Singapore: Springer, 2016. 83–118.

Стаття надійшла до редакції 01.11.2021 р.



УДК 579.22

**Н.В. Коротаєва, К.С. Потапенко, І.В. Страшнова,
І.П. Метеліцина, В.О. Іваниця**

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,
тел.: +380633548218, e-mail: korotaeva.n@onu.edu.ua

СПЕКТРИ ЖИРНИХ КИСЛОТ АКТИНОБАКТЕРІЙ З БІОЛОГІЧНИХ ОБРОСТАНЬ ОДЕСЬКОЇ ЗАТОКИ ЧОРНОГО МОРЯ

Мета. Визначення жирнокислотного складу актинобактерій, ізолюваних з біологічних обростань Одеської затоки Чорного моря, та їх ідентифікація. **Методи.** Актинобактерії 31-го виділеного штаму вирощували у рідкому середовищі TSB за 28 °C та 150 об/хв упродовж 72 год. Метиллові ефіри жирних кислот досліджуваних штамів визначали згідно MIS Operating Manual на газовому хроматографі Agilent 7890, ідентифікацію проводили з використанням системи ідентифікації мікроорганізмів MIDI Sherlock. **Результати.** За допомогою хроматографічного аналізу жирних кислот встановлено, що з 31 досліджуваного штаму актинобактерій 27 ідентифіковано до роду *Streptomyces*, а 4 – до роду *Nocardiosis*. Встановлено, що у профілях досліджених актинобактерій роду *Nocardiosis* переважали жирні кислоти: 15:0 ANTEISO, 16:0 ISO, 17:0 ANTEISO, 18:1 CIS 9, а у бактерій роду *Streptomyces* – 14:0 ISO, 15:0 ANTEISO, 16:0 ISO, 17:0 ANTEISO. **Висновки.** Актинобактерії з біологічних обростань Одеської затоки відносяться до родів *Streptomyces* та *Nocardiosis*, а їх жирнокислотні профілі характеризуються перевагою ізомерів розгалужених насичених жирних кислот.

Ключові слова: жирнокислотні профілі, морські актинобактерії, *Streptomyces*, *Nocardiosis*

Морське середовище характеризується екстремальними умовами (високий тиск, висока солоність, зміни температури, обмежена доступність поживних речовин). Все це змушує морські організми адаптуватися до таких умов шляхом формування незвичайних для суходолу, отже, цікавих метаболічних шляхів [1, 2].

Морські актинобактерії відомі не тільки як джерела нових антибіотиків, а також метаболітів з протипухлинною активністю. Вони мають здатність до пригнічування утворення біоплівки стійкими до антибіотиків патогенами людини. Утворення біоплівки самими актинобактеріями сприяє розкладанню складних полімерів у навколишньому середовищі. Більшість морських актинобактерій є представниками видів роду *Streptomyces* і слугують багатим джерелом біологічно активних сполук, які широко досліджуються у всьому світі [1, 3, 4].

© Н.В. Коротаєва, К.С. Потапенко, І.В. Страшнова, І.П. Метеліцина, В.О. Іваниця, 2021



Аналіз жирнокислотного складу загальних клітинних ліпідів є важливою хемотаксономічною характеристикою, яка корелює з результатами ідентифікації за молекулярно-генетичними показниками [5, 6], та використовується для ідентифікації мікроорганізмів за допомогою бібліотек спектрів жирних кислот [7].

Актинобактерії за складом жирних кислот розділяють на два типи. До першого типу відносять види, у клітинах яких переважають жирні кислоти з розгалуженим ланцюгом, тоді як види другого типу демонструють значний відсоток насичених або мононенасичених жирних кислот з прямим ланцюгом [8].

Метою роботи було визначення складу жирних кислот актинобактерій, ізольованих з біологічних обростань Одеської затоки Чорного моря, та їх ідентифікація.

Матеріали і методи

Матеріалом дослідження слугували 31 штамп актинобактерій, які виділили у 2020 році з біологічних обростань поверхонь бетонних споруд, природного черепашника, пластика, металу та води Одеської затоки Чорного моря.

Визначення метилових ефірів жирних кислот досліджуваних штамів проводили згідно MIS Operating Manual [9]. Для цього актинобактерії вирощували у 20 мл рідкого середовища Tryptic Soy Broth (Biolife, Italia) за 28 ± 1 °C та 150 об/хв упродовж 72 год. Отриману рідку культуру пропускали через фільтри з розміром пор 0,45 мкм, близько 40 мг відділеної біомаси клітин переносили в скляні віали, оснащені кришками з тефлоновим покриттям для екстракції жирних кислот. Виділення та хроматографічне розділення жирних кислот здійснювали згідно стандартного протоколу. Лізис клітин та омилення ліпідів клітин мікроорганізмів здійснювали шляхом додавання одного мілілітра суміші 1,125 M розчину NaOH у метанолі при температурі 95–100 °C впродовж 30 хв. Подальше метилювання жирних кислот здійснювали додаванням кислого розчину (2 мл 6.0 N HCl у метанолі) при 80 °C впродовж 10 хв. Екстраговані метилові ефіри жирних кислот нейтралізували 0,3 M розчином NaOH [7].

Визначення жирнокислотного складу бактерій виконували методом хроматографії з використанням автоматичної системи ідентифікації мікроорганізмів MIDI Sherlock на базі газового хроматографа Agilent 7890 (Agilent Technologies, США), колонка капілярна ULTRA 2 (25 м x 0,2 мм x 0,33 мкм), детектор полум'яно-йонізаційний. Пробу (2 мкл) вводили в режимі split з коефіцієнтом 40:1, температура випаровувача 250 °C. Розділення проводили в режимі програмування температури – початкова температура 170 °C з наступним градієнтом 5 °C/хв до 270 °C. Вміст жирних кислот виражали у відсотках до загальної суми площ піків. Для ідентифікації досліджуваних штамів використовували бібліотеку Sherlock Microbial Identification System (MIDI Sherlock version 6.2, MIDI Library ACTIN 3.80) [9].

Статистичний аналіз жирнокислотних профілів проводився за допомогою програмного забезпечення MIDI Library Generation System (Microbial ID, Inc., Newark, Del.). Ця програма використовує двовимірний кластерний аналіз. Спорідненість виражається в евклідовій відстані (EDs), як відстань у двовимірному просторі [10].



Результати дослідження та їх обговорення

За допомогою бібліотеки MIDI Sherlock (ACTIN 3.80) штами актинобактерій з біологічних обростань поверхонь бетонних споруд, природного черепашника, пластика, металу та води було попередньо ідентифіковано з різними індексами подібності до роду *Streptomyces* та *Nocardiosis*. До роду *Streptomyces* віднесено 27 штамів, до роду *Nocardiosis* – 4 штами (табл. 1).

Хроматографічний аналіз показав, що жирнокислотний склад клітин досліджених штамів актинобактерій роду *Nocardiosis* містить ізомери насичених та ненасичених жирних кислот із загальною кількістю атомів вуглецю від 13 до 19 (табл. 2). У профілях досліджених штамів *Nocardiosis* переважали жирні кислоти: 12-метилтетрадеканова кислота (від 6,83% до 10,36%), 14-метилпентадеканова кислота (від 1,79% до 36,71%), 14-метилгексадеканова кислота (від 9,5% до 29,42%), 9Z-октадеценева кислота (від 12,17% до 16,39%).

Порівняно з іншими штамами відмінністю жирнокислотного профілю штаму *Nocardiosis* sp. conc 29 переважала кількість загального відсотка (24,93%) пентадеканової кислоти 15:0, тоді як у інших штамів вона склала 0,31%, або не виявлялася зовсім.

Також встановлено, що для актинобактерій роду *Nocardiosis* характерним є наявність вищих жирних кислот із загальною кількістю атомів вуглецю 18–19 (16-метилгептадеканова, (9Z)-октадеценева, октадеканова, 16-метилоктадеканова та нонадеканова кислота).

Grund and Kroppenstedt показали, що бактерії роду *Nocardiosis* характеризуються розгалуженими ізомерами насичених жирних кислот. Серед яких основними є 14-метилгептадеканова кислота (C16:0 iso) і 14-метилгексадеканова кислота (C17:0 anteiso). Також виявлено наявність у меншій кількості 10-метил розгалуженої туберкулостеаринової кислоти, тобто 10-метилоктадеканової кислоти (C18:0 10-methyl), та її попередника ненасиченої цис-9,10-октадецененової кислоти (C18:1 cis) [11,12]. Такі особливості бактерій роду *Nocardiosis* підтверджуються нашими дослідженнями.

Хроматографічний аналіз виявив, що жирнокислотний склад досліджених актинобактерій роду *Streptomyces* містить ізомери насичених та ненасичених жирних кислот із загальною кількістю атомів вуглецю від 10 до 17 (табл. 3).

Встановлено, що у спектрах жирних кислот бактерій роду *Streptomyces* переважали 12-метилтетрадеканова кислота (від 22,82% до 55,09), 14-метилпентадеканова кислота (4,77%–23,43%), 12-метилтридеканова кислота (0,39%–15,69%), 14-метилгексадеканова кислота (4,72%–17,4%), 13-метилтетрадеканова кислота (3,39%–17,46%).

Згідно з даними літератури профілі клітинних жирних кислот стрептоміцетів складаються переважно з 12–17 насичених жирних кислот з розгалуженим ланцюгом з ISO- та ANTEISO- положенням метильної групи. Метилкові розгалужені жирні кислоти є маркерами актиноміцетів [11, 13, 14]. Майже усі штами містили невеликий відсоток 17:0 суцлю, що є корисним маркером для ідентифікації роду *Streptomyces* [8].



Таблиця 1

Ідентифікація актинобактерій за допомогою бібліотеки MIDI Sherlock

Table 1

Identification of actinobacteria strains by the Sherlock MIDI library

Штам	Рід	Джерело виділення
conc 1	<i>Nocardiosis</i>	бетон
conc 3	<i>Streptomyces</i>	бетон
conc 5_1	<i>Streptomyces</i>	бетон
conc 6b	<i>Streptomyces</i>	бетон
conc 6s	<i>Streptomyces</i>	бетон
conc 9	<i>Streptomyces</i>	бетон
conc 11	<i>Streptomyces</i>	бетон
conc 13	<i>Streptomyces</i>	бетон
conc 15	<i>Streptomyces</i>	бетон
conc 16a	<i>Streptomyces</i>	бетон
conc 21	<i>Streptomyces</i>	бетон
conc 24	<i>Streptomyces</i>	бетон
conc 29	<i>Nocardiosis</i>	бетон
conc 32	<i>Streptomyces</i>	бетон
lim 2.2	<i>Streptomyces</i>	черепашник
lim 3.1	<i>Streptomyces</i>	черепашник
lim 3.2	<i>Streptomyces</i>	черепашник
lim 5.2	<i>Streptomyces</i>	черепашник
lim 6.1	<i>Streptomyces</i>	черепашник
lim 6.2	<i>Streptomyces</i>	черепашник
lim 7.1	<i>Nocardiosis</i>	черепашник
lim 7.2	<i>Streptomyces</i>	черепашник
lim 9.1	<i>Streptomyces</i>	черепашник
lim 9.2	<i>Streptomyces</i>	черепашник
lim 10	<i>Streptomyces</i>	черепашник
lim 12.1	<i>Streptomyces</i>	черепашник
lim 12.2	<i>Streptomyces</i>	черепашник
lim 12.3	<i>Streptomyces</i>	черепашник
met 2	<i>Nocardiosis</i>	метал
plast 1	<i>Streptomyces</i>	пластик
sea2	<i>Streptomyces</i>	морська вода



Таблиця 2

Склад жирних кислот актинобактерій роду *Nocardioopsis*

Table 2

Cellular fatty acid (%) composition of strains of *Nocardioopsis*

Жирна кислота	Штам			
	conc 1	conc29	met 2	Lim 7.1
13:0 ISO	0,13	0,24	-	0,13
13:0 ANTEISO	0,86	0,74	1,67	0,63
14:0 ISO	1,0	1,18	12,01	1,3
14:0	0,22	0,23	0,79	0,5
15:0 ISO	1,47	1,05	1,48	1,64
15:0 ANTEISO	10,36	7,08	6,83	9,14
15:0	0,31	24,93	-	-
16:0 ISO	19,2	1,79	36,71	15,61
16:1 CIS 9	2,71	2,38		1,45
16:0	3,46	2,38	1,69	2,26
17:1 ANTEISO C	-	3,78	-	1,22
17:0 ISO	2,31	1,73	1,8	3,1
17:0 ANTEISO	29,42	22,59	9,5	22,59
17:1 CIS 9	3,25	6,18		4,59
17:0	1,55	2,26	1,93	1,67
17:0 10METHYL	0,66	1,03		0,98
18:0 ISO	1,36	1,55	1,89	1,82
18:1 CIS 9	14,45	12,17	-	16,39
18:0	4,61	4,3	1,35	3,86
19:0 ANTEISO	0,41	0,4	-	-
19:0	-	-	-	0,23

На основі статистичного аналізу жирнокислотних профілів досліджених штамів актинобактерій роду *Streptomyces*, проведеного за допомогою програмного забезпечення MIDI Library Generation System, було збудовано дендрограму на основі евклідової відстані (рис. 1).

Статистичні відмінності у кількості 9-цис-гексадеценної кислоти у жирнокислотному профілі актинобактерій роду *Streptomyces* стали основою для виділення двох груп штамів. Для першої групи характерним є процентне відношення 16:1 CIS 9 від 0,61% до 2,82%, для другої – від 3,06% до 10,42%.

Кількісні відмінності у відсотковому відношенні 13-метилтетрадеканової кислоти обґрунтовують поділ штамів першої групи на дві підгрупи (А і Б) на евклідовій відстані 15. Для підгрупи А характерним є наявність 15:0 ISO від 10,61% до 17,46%, для підгрупи Б – від 3,39% до 7,75%.



Таблиця 3
Table 3Жирнокислотний склад (%) клітин штамів актинобактерій
The composition of cellular fatty acids (%) of strains of actinobacteria

Штам	Жирна кислота																		
	10:0 ISO	11:0 ANTEISO	12:0 ISO	13:0 ISO	13:0 ANTEISO	14:0 ISO	15:0 ISO	15:0 ANTEISO	15:0	16:1 ISO H	16:0 ISO	16:1 CIS 9	16:0	16:0 9 METHYL	17:1 ANTEISO C	17:0 ANTEISO	17:0 ISO	17:1 CIS 9	17:0 CYCLO
lim 2.2	-	0,28	0,63	0,66	1,16	10,84	8,97	38,74	2,07	3,14	14,03	4,0	5,22	-	1,65	5,53	1,16	0,35	-
lim 3.1	-	-	1,73	0,39	0,66	7,13	5,9	32,14	0,84	1,77	10,84	1,07	2,23	-	3,38	5,61	1,11	0,19	2,62
lim 3.2	0,5	-	-	0,11	0,35	2,82	5,8	55,09	1,91	0,92	8,7	1,99	3,77	1,06	2,75	9,78	1,17	0,49	1,23
lim 5.2	-	-	0,47	0,7	0,7	7,6	13,71	31,77	20,9	3,06	16,14	4,86	5,26	2,17	1,88	5,16	2,09	0,51	0,49
lim 6.1	0,09	0,11	0,39	0,33	0,76	3,6	7,67	34,07	2,11	2,83	12,08	5,37	6,49	3,01	5,54	10,61	-	2,34	0,17
lim 6.2	0,05	0,26	0,48	0,49	1,4	4,78	7,55	33,87	1,86	4,0	12,78	5,13	4,87	2,65	5,05	9,04	1,72	0,83	-
lim 7.2	-	-	-	-	0,13	2,91	6,46	48,54	1,64	1,14	9,91	0,96	3,01	2,02	4,14	9,31	1,43	0,43	3,35
lim 9.1	-	0,07	0,17	0,22	0,47	6,05	10,26	34,33	1,84	3,19	19,31	3,06	4,59	1,92	1,88	8,38	2,2	0,4	0,71
lim 9.2	0,14	0,3	0,62	0,3	0,79	8,12	9,96	28,54	2,33	7,28	19,87	3,71	2,76	2,32	2,62	5,2	1,47	0,54	0,97
lim 10	-	-	0,56	0,46	0,68	9,14	10,67	26	1,96	6,89	23,43	2,82	3,65	1,83	2,06	5,16	1,92	-	1,7
lim 12.1	-	-	-	-	-	5,43	7,75	43,8	1,43	1,69	15,18	1,65	3,19	2,1	3,83	6,55	1,38	0,52	3,15



Продовження таблиці

lim 12.2	-	-	0,11	0,1	0,33	3,08	6,58	35,01	1,07	1,13	19,71	1,12	4,02	2,08	3,45	13,59	2,86	0,42	2,3
lim 12.3	-	-	-	0,06	0,16	3,1	5,35	42,62	1,32	1,39	14,68	3,48	5,5	1,18	2,57	11,06	1,47	0,54	1,19
plast 1	1,28	-	-	0,06	0,14	2,88	3,39	48,58	0,91	0,71	10,87	1,69	3,83	1,5	3,62	12,73	1,23	0,52	2,96
sea2	-	0,2	0,62	0,7	1,16	10,92	7,93	39,5	2,07	3,14	15,07	4,0	5,22	-	1,65	5,61	1,18	0,43	-
conc 3	-	-	-	-	0,24	6,65	5,63	48,34	1,08	0,9	11,69	0,61	2,81	1,22	3,17	6,22	0,99	-	1,59
conc5_1	-	-	-	0,57	0,6	2,54	17,46	41,64	0,57	2,52	10,91	1,73	2,46	0,58	0,96	12,46	4,43	-	-
conc 6b	0,08	0,1	0,14	0,33	0,46	4,86	7,52	33,16	1,86	4,14	13,8	10,17	6,6	1,81	3,19	7,25	1,54	0,74	0,26
conc 6s	-	0,08	-	0,25	0,39	2,43	7,17	35,06	1,75	1,87	9,31	10,42	9,53	1,72	3,81	10,22	2,03	0,55	0,26
conc 9	-	-	-	0,29	0,39	0,39	15,11	34,28	0,76	1,31	9,83	2,38	3,79	2,25	3,51	17,4	6,39	-	-
conc 11	0,97	-	-	0,34	0,38	7,31	6,32	27,12	2,2	4,21	14,25	7,74	5,08	1,11	2,13	4,72	0,84	0,59	-
conc 13	0,24	-	-	0,16	0,27	4,87	7,58	24,23	1,5	6,28	13,47	7,63	3,67	2,39	4,3	6,79	1,11	0,44	-
conc 15	-	-	-	0,48	0,43	5,44	12,22	33,67	2,47	2,24	11,86	6,4	9,26	2,02	1,7	6,12	2,26	0,53	0,85
conc16a	0,11	0,59	0,18	0,44	1,53	2,05	8,58	48,89	1,67	0,96	4,77	5,54	6,25	1,99	3,56	8,71	2,11	0,61	0,2
conc 21	0,74	-	-	0,14	0,32	8,59	4,37	30,3	1,71	6,03	14,43	4,7	4,05	1,32	3,81	6,45	0,64	0,48	2,04
conc 24	0,15	-	0,35	0,24	0,38	15,69	6,03	29,7	1,77	2,76	19,76	40,3	7,04	0,96	1,74	4,87	1,53	0,43	1,11
conc 32	1,94	-	-	0,16	0,34	10,66	4,61	25,82	1,59	5,17	16,28	4,24	4,01	1,07	2,84	5,95	0,78	0,39	1,15



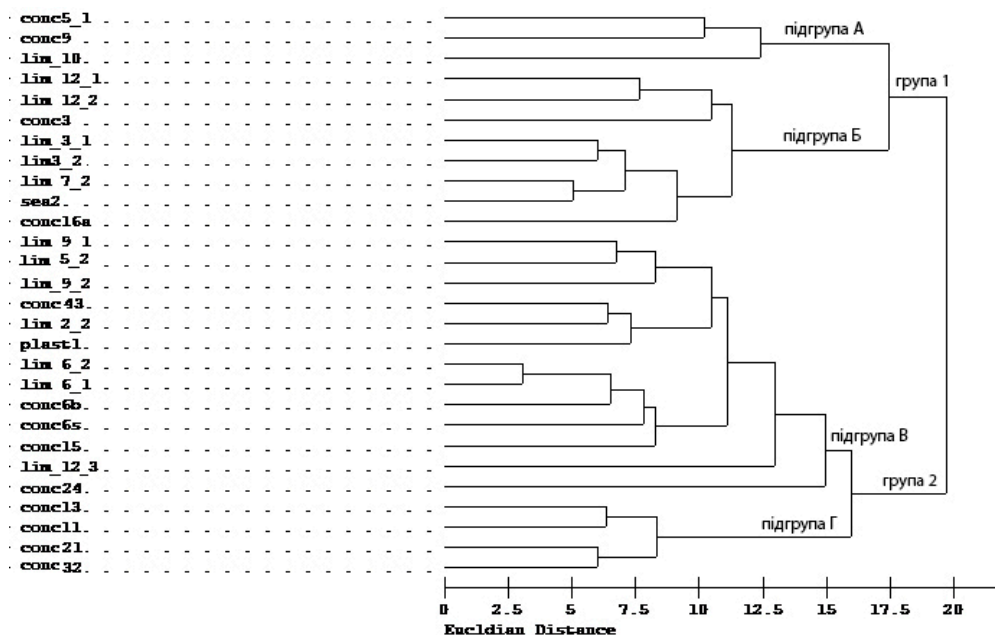


Рис. 1. Дендрограма на основі аналізу жирних кислот актинобактерій

Fig. 1. Dendrograma based on fatty acid analysis of actynobacteria

Для другої групи також має місце поділ на дві підгрупи (В і Г) на евклідовій відстані 17,5, але за іншими ознаками. У штамів підгрупи В відсоткове відношення 14-метилгексадеканової кислоти становить від 0,96% до 4%, а 15-метилпентадеканової кислоти – від 1,16% до 2,26%. Для підгрупи Г відсоткове відношення для 16:1 ISO складає від 4,21%–6,28%, а для 17:0 ISO – від 0,64% до 1%.

Таким чином, за допомогою хроматографічного аналізу жирних кислот 28 досліджуваних штамів актинобактерій ідентифіковано до роду *Streptomyces*, а 4 штами до роду *Nocardopsis*. Жирнокислотні профілі обох родів характеризуються наявністю ізомерів розгалужених насичених жирних кислот.

**N.V. Korotaeva, K.S. Potapenko, I.V. Strashnova,
I.P. Metelitsyna, V.O. Ivanytsia**

Odesa National I.I. Mechnykov University,
2, Dvorianska str., Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: korotaeva.n@onu.edu.ua

THE COMPOSITION OF CELLULAR FATTY ACIDS OF ACTINOBACTERIA FROM THE SURFACES OF BIOLOGICAL GROWTH OF THE ODESA GULF OF THE BLACK SEA

Summary

Aim. Determination of fatty acid composition of actinobacteria isolated from the surfaces of biological growth of the Odesa gulf of the Black Sea, and their identification. **Methods.** The 31 isolated strains of actinobacteria were grown in TSB at 28 °C and 150 rpm for 72 hours. Fatty acid methyl esters of the studied strains were determined according to the MIS Operating Manual on a gas chromatograph Agilent 7890, identification was performed using the identification system of microorganisms MIDI Sherlock. **Results.** Using chromatographic analysis of fatty acids, it was found that of the 27 studied strains of actinobacteria were identified to the genus *Streptomyces*, and the 4 strains - to the genus *Nocardiopsis*. It was found that the fatty acid profiles of the studied actinobacteria of the genus *Nocardiopsis* were dominated by fatty acids: 15:0 ANTEISO, 16:0 ISO, 17:0 ANTEISO, 18:1 CIS 9, and the fatty acid profiles of bacteria of the genus *Streptomyces* - 14:0 ISO, 15:0 ANTEISO, 16:0 ISO, 17:0 ANTEISO. **Conclusions.** Actinobacteria the surfaces of biological growth of the Odesa gulf of the Black Sea belong to the genera *Streptomyces* and *Nocardiopsis*, and their fatty acid profiles are characterized by the dominance of isomers of branched saturated fatty acids.

Key words: fatty acid profiles, marine actinobacteria, *Streptomyces*, *Nocardiopsis*

**Н.В. Коротаева, К.С. Потапенко, І.В. Страшнова,
І.П. Метелицына, В.А. Іваниця**

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина,
e-mail: korotaeva.n@onu.edu.ua

СПЕКТРЫ ЖИРНЫХ КИСЛОТ АКТИНОБАКТЕРИЙ ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАСТАНИЙ ОДЕССКОГО ЗАЛИВА ЧЕРНОГО МОРЯ

Реферат

Цель. Определение жирнокислотного состава актинобактерий, изолированных из биологических обрастаний Одесского залива Черного моря, и их идентификация. **Методы.** Актинобактерии 31 выделенного штамма выращивали в жидкой среде TSB при 28 °C и 150 об/мин в течение 72 часов. Метилловые эфиры жирных кислот исследуемых штаммов определяли согласно MIS Operating Manual на газовом хроматографе Agilent 7890, иден-



тифікацію проводили з використанням системи ідентифікації мікроорганізмів MIDI Sherlock. **Результати.** С допомогою хроматографічного аналізу жирних кислот встановлено, що з 31 досліджуваного штамма актинобактерій 27 ідентифіковано як род *Streptomyces*, а 4 – як род *Nocardiosis*. Встановлено, що в профілях досліджуваних актинобактерій роду *Nocardiosis* преобладали жирні кислоти: 15:0 ANTEISO, 16:0 ISO, 17:0 ANTEISO, 18:1 CIS 9, а бактерій роду *Streptomyces* – 14:0 ISO, 15:0 ANTEISO, 16:0 ISO, 17:0 ANTEISO. **Висновки.** Актинобактерії з біологічних обрастаній Одеського заливляються до родів *Streptomyces* і *Nocardiosis*, а їх жирнокислотні профілі характеризуються преобладанням ізомерів розветвлених насичених жирних кислот.

Ключеві слова: жирнокислотні профілі, морські актинобактерії, *Streptomyces*, *Nocardiosis*

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Tangerina M.M.P., Furtado L.C., Leite V.M.B., Bauermeister A., Velasco-Alzate K., Jimenez P.C. et al.* Metabolomic study of marine *Streptomyces* sp.: Secondary metabolites and the production of potential anticancer compounds // *PLoS One*. – 2020. – 15(12) . – e0244385.
2. *Wang C., Du W., Lu H., Lan J., Liang K., Cao S.* A Review: Halogenated Compounds from Marine Actinomycetes // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26(9). – 2754 p.
3. *Jagannathan S.V., Manemann E.M., Rowe S.E. et al.* Marine Actinomycetes, New Sources of Biotechnological Products // *Marine Drugs*. – 2021. – V. 19. – 365 p.
4. *Subramani R., Aalbersberg W.* Marine actinomycetes: An ongoing source of novel bioactive metabolites // *Microbiological Research*. – 2012. – V. 167 – P. 571–580.
5. *Vasyurenko Z.P., Frolov A.F.* Fatty Acid composition of bacteria as a chemotaxonomic criterion // *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* – 1986. – 30(3) . – P. 287–293.
6. *Welch D. F.* Applications of cellular fatty acid analysis // *Clin. Micro-biol. Rev.* – 1991. – 4. – P. 422–438.
7. *Sasser M.* Identification of bacteria by gas chromatography of cellular fatty acids // *MIDI Technical Note*. – 1990. – 101. – 242 p.
8. *McNabb A., Shuttleworth R., Behme R., Colby W.D.* Fatty acid characterization of rapidly growing pathogenic aerobic actinomycetes as a means of identification // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1997. – 35(6) . – P. 1361–1368.
9. *MIS Operating Manual*. – Ver 6.2. – Newark, Del. – 2012. – 149 p.
10. *Analysis User's Manual* . – Ver 6.0. – Newark, Del. – 2005. – 50 p.
11. *Kroppenstedt R.M.*, Fatty acid and menaquinone analysis of actinomycetes and related organisms. *Chemical Methods in Bacterial Systematics*. – London: Academic Press, 1985. – P. 173–199.
12. *Hozzein W.N., Trujillo M.E.* In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. Nocardiosis*. – Springer, 2005.
13. *Bossio D.A., Fleck J.A., Scow K.M., Fujii R.* Alteration of soil microbial com-



munities and water quality in restored wetlands // Soil Biol. Biochem. – 2006. – 38. – P. 1223–1233

14. Terahara T., Naemura T., Nampo Y., Kobayashi T., Imada C., Hamada M., Tamura T. *Streptomyces otsuchiensis* sp. nov., a biosurfactant-producing actinobacterium isolated from marine sediment. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2019. – 69 (12).

REFERENCES

1. Tangerina MMP, Furtado LC, Leite VMB, Bauermeister A, Velasco-Alzate K, Jimenez PC et al. Metabolomic study of marine *Streptomyces* sp.: Secondary metabolites and the production of potential anticancer compounds. PLoS One. 2020; 15(12): e0244385. doi: 10.1371/journal.pone.0244385.
2. Wang C, Du W, Lu H, Lan J, Liang K, Cao S. Halogenated Compounds from Marine Actinomycetes. Molecules. 2021; 26(9):2754. doi: 10.3390/molecules26092754
3. Subramani R, Aalbersberg W. Marine actinomycetes: An ongoing source of novel bioactive metabolites. Microbiological Research. 2012; 167: 571 – 580.
4. Jagannathan SV, Manemann EM, Rowe SE et al. Marine Actinomycetes, New Sources of Biotechnological Products. Marine Drugs. 2021; 19: 365 p.
5. Vasyurenko ZP, Frolov AF. Fatty Acid composition of bacteria as a chemotaxonomic criterion. J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol. 1986; 30(3): 287-293.
6. Welch D F. Applications of cellular fatty acid analysis. Clin. Microbiol. Rev. 1991; 4: 422–438.
7. Sasser M. Identification of bacteria by gas chromatography of cellular fatty acids. MIDI Technical Note. 1990; 101: 242.
8. McNabb A, Shuttleworth R, Behme R, Colby WD. Fatty acid characterization of rapidly growing pathogenic aerobic actinomycetes as a means of identification. Journal of Clinical Microbiology. 1997; 35(6): 1361-1368.
9. MIS Operating Manual. Ver 6.2. Newark, Del. 2012: 149.
10. Analysis User's Manual . Ver 6.0. Newark, Del. 2005: 50.
11. Kroppenstedt R.M. Fatty acid and menaquinone analysis of actinomycetes and related organisms. Chemical Methods in Bacterial Systematics / Eds. Goodfellow, M., Minnikin, D.E. London: Academic Press, 1985: 173–199.
12. Hozzein WN, Trujillo ME. *Nocardiosis*. In Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria / Eds Trujillo ME, Dedysh S, DeVos P, Hedlund B, Kämpfer P, Rainey and FA, Whitman WB, 2015. doi:10.1002/9781118960608.gbm00195
13. Bossio DA, Fleck JA, Scow KM, Fujii R. Alteration of soil microbial communities and water quality in restored wetlands. Soil. Biol. Biochem. 2006; 38: 1223–33.
14. Terahara T, Naemura T, Nampo Y, Kobayashi T, Imada C, Hamada M, Tamura T. *Streptomyces otsuchiensis* sp. nov., a biosurfactant-producing actinobacterium isolated from marine sediment. INTER. J. of Systematic and Evolutionary Microbiol. 2019; 69 (12). doi: 10.1099/ijsem.0.003638.

Стаття надійшла до редакції 23.11.2021 р..



**М.О. Фіногенова, М.Б. Галкін, А.С. Семенець,
І.В. Пріщенко, Г.С. Калєва, Б.М. Галкін, І.П. Метеліцина,
Т.О. Філіпова**

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, тел.: +38 (0482) 63 57 61,
e-mail: tphilippova@ukr.net

СИНТЕЗ БІОСУРФАКТАНТІВ БАКТЕРІЯМИ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, ІЗОЛЬОВАНИМИ З ПОВЕРХНІ МУШЕЛЬ МІДІЙ ЧОРНОГО МОРЯ

Мета. Встановлення здатності до синтезу поверхнево-активних сполук бактерій *Pseudomonas aeruginosa*, ізольованих з мушель чорноморських мідій. **Методи.** Під час досліджень було використано кілька штамів морських *Pseudomonas spp.*, виділених із забруднених нафтовими вуглеводнями ділянок Чорного моря: *P. aeruginosa M1*, *P. aeruginosa M4*, та *P. aeruginosa PA01* як референтний штаб, які вирощували у суспензійних та біоплівкових культурах у середовищах LB та Гіса. Культивування штамів *Pseudomonas aeruginosa* проводили при 37 °С протягом 120 і 168 годин. Ріст планктонної культури визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 600 нм. Масу біоплівки визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 592 нм за допомогою CV-тесту. Наявність поверхнево-активних сполук оцінювали у дрон-тесті. Кількісний вміст рамноліпідів визначали за кольоровою реакцією рамнози з орцином. **Результати.** Штами *P. aeruginosa M1* і *M4*, виділені з поверхонь чорноморських мідій, синтезують на 25% і 66% більше ПАВ, ніж штаб *PA01*. Усі штами в середовищі Гіса синтезували у 10–20 разів менше рамноліпідів ніж у середовищі LB. У біоплівкових культурах спостерігається така ж залежність синтезу біосурфактанта від складу живильного середовища, що й у суспензійних культурах. За інтенсивністю продукції рамноліпідів у біоплівкових культурах досліджувані штами можна розташувати таким чином: *P. aeruginosa M4* > *P. aeruginosa M1* >> *P. aeruginosa PA01*. **Висновки.** Штами *P. aeruginosa*, виділені з Чорного моря, є більш ефективними продуцентами рамноліпідів, ніж еталонний штаб *P. aeruginosa PA01*; Інтенсивність синтезу біосурфактантів істотно залежить від складу живильного середовища та способу вирощування.

Ключові слова: морські бактерії, *Pseudomonas aeruginosa*, біосурфактанти, суспензійні і біоплівкові культури, склад живильних середовищ

Морські мікроорганізми мають унікальні властивості завдяки своїй адаптаційній здатності до морських умов, таких як висока або низька температура, лужні або кислотні значення рН середовища, високий тиск і обмежений вміст субстратів живлення на глибині. Ці відмінні характеристики



привернули увагу багатьох дослідників до детального вивчення можливості використання морських мікроорганізмів у промисловості [10,11].

Серед різноманітних біологічно активних сполук значний інтерес представляють біосурфактанти (біоемульгатори) через їх структурну та функціональну різноманітність. Поверхнево-активні речовини біологічного походження (біоПАР) – це поліфункціональні молекули, які цікавлять багатьох дослідників завдяки своїй біосумісності, універсальності та застосуванню в біотехнології. Зараз відомі п'ять класів біосурфактантів: гліколіпіди, ліпополіцукриди та поліцукридно-ліпідні комплекси, ліпопептиди, жирні кислоти та нейтральні ліпіди. Фізіологічна роль біосурфактантів полягає в адгезії мікроорганізмів до субстрату та емульгуванні поживних речовин, десорбції з поверхонь, антибактеріальній та протигрибковій активності, а деякі мембранозв'язані біоПАР є рецепторами для бактеріофагів [16].

Біосурфактанти мають низку переваг перед хімічними поверхнево-активними речовинами, включаючи незначну токсичність, високу здатність до біологічного розкладання, кращу екологічну сумісність, високе піноутворення, селективність, толерантність до високих температур, рН і солей. Вони синтезуються з відновлюваних субстратів і ефективні за невеликих концентрацій [3].

За даними метагеномного аналізу світовий океан містить приблизно 3×10^{28} різноманітних бактерій, дослідження яких робить можливим відкриття нових речовин, таких як антибіотики, ферменти, вітаміни, ліки, біосурфактанти, біоемульгатори та інші цінні сполуки комерційного значення [7, 9]. Значна частина досліджень біосурфактантів зосереджена на ґрунтових ізолятах та, перш за все, представниках *Pseudomonas* і *Bacillus*, однак виробництво біоПАР морськими мікроорганізмами залишається практично невивченим, що пов'язується з труднощами їх культивування у лабораторних умовах [2, 18]. Це стосується і бактерій Чорного моря, біотехнологічний потенціал яких практично не оцінений.

У зв'язку з вищенаведеним, метою даної роботи було встановлення здатності до синтезу поверхнево-активних сполук бактерій *Pseudomonas aeruginosa*, ізолюваних з мушель чорноморських мідій.

Матеріали і методи

В роботі були використані 2 морських штами *P. aeruginosa*: М1 і М4 та *P. aeruginosa* РА01 як референтний штам з колекції культур кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології ОНУ імені І. І. Мечникова.

Культивування штамів *Pseudomonas aeruginosa* здійснювали при 37 °С впродовж 120 та 168 годин у конічних плоскодонних колбах за умов струшування (суспензійні культури) та у стаціонарних біоплівкових культурах.

Було використано два живильних середовища – LB (1% пептону, 1% дріжджового екстракту, 0,5% NaCl) та середовище Гіса (1% пептону, 1% глюкози, 0,5% NaCl).

По завершенні культивування спектрофотометрично при 600 нм визначали оптичну густину суспензії і встановлювали кількість клітин за калібрувальною кривою. Далі розводили суспензії живильним середовищем до



концентрації 10^9 клітин в 1 мл. Для отримання безклітинних супернатантів проби центрифугували 20 хв при 3000 обертів у хвилину. Потім супернатанти відбирали у чисті пробірки і використовували для виявлення в них біосурфактантів.

Наявність поверхнево-активних продуктів визначали у дроп-тесті [12]. Для цього до 200 мкл супернатанту додавали 5 мкл 1% розчину метиленового синього і по 20 мкл наносили у центр квадрата (1×1 см) на поверхні парафільму. За контроль слугувала проба, яка замість супернатанту містила дистильовану воду.

Після висихання крапель смужки парафільму сканували і з використанням комп'ютерної програми Altami Studio визначали діаметри плям [<https://bit.ly/2BupzWt>].

Кількісний вміст рамноліпідів оцінювали за кольоровою реакцією рамнози з орцином [13]. Після центрифугування проб до 2 мл культуральної рідини додавали 2 мл етилацетату. Верхню фазу етилацетату з розчиненими в ньому рамноліпідами відбирали у флакони і залишили до повного випаровування розчинника. Після цього додавали у флакони 0,5 мл метанолу і перенесли 0,1 мл у скляні пробірки. До пробірок додавали 1 мл розчину 10 г орцину в 25 мл 56% сірчаної кислоти. Прогрівали пробірки 20 хвилин при температурі 80–100 °С до появи жовто-коричневого кольору. У контрольну пробу до орцинового реактиву додавали 100 мкл метанолу. Після охолодження проб до кімнатної температури оптичну густину дослідних проб вимірювали проти контрольного зразка на спектрофотометрі при довжині хвилі 420 нм. Розрахунки вмісту рамноліпідів у мг/мл проводили за калібрувальною кривою, побудованою з використанням рамнози у концентраціях від 2,5 до 50 мкг/мл.

Метод визначення маси біоплівки базується на здатності барвника кристалічного фіолетового зв'язуватися з клітинами та матриксом біоплівки [6].

Після того, як планктонну культуру видаляли з лунок, біоплівку у планшетах відмивали від неприкріплених клітин фізіологічним розчином та фіксували 96% етанолом впродовж 10 хв. Після фіксації зразки висушували та забарвлювали 1% водним розчином кристалічного фіолетового впродовж 5 хв. Біоплівку у планшетах після 24 годин висушування при кімнатній температурі розчиняли у лізувальному розчині (0,1 М NaOH + 1% SDS) та інкубували при кімнатній температурі 1,5 години. Облік результатів проводили на спектрофотометрі «Quant» BioTek за довжини хвилі відповідній до максимуму поглинання використаного барвника: 592 нм.

Усі експерименти проводили у трьох незалежних дослідах з 3–4 повторами у кожному.

Статистичне опрацювання результатів досліджень здійснювали з використанням загальноприйнятих методів варіаційного аналізу. Розраховували середні значення показників (\bar{X}) та їх стандартну похибку ($S_{\bar{X}}$). Достовірність відмінностей між середніми визначали за критерієм Стьюдента, оцінюючи достовірність отриманих результатів на рівні значимості не менше 95% ($p \leq 0,05$). Математичні розрахунки проводили за допомогою комп'ютерної програми Excel [1].



Результати та їх обговорення

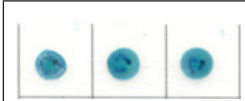
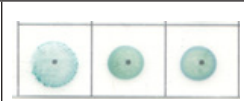
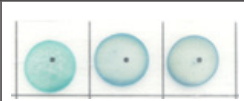

Мідії були зібрані у забруднених нафтопродуктами ділянках Чорного моря в районі Одеського порту, де на поверхні води існує райдужна плівка. З поверхні їх мушель було виділено 7 штамів бактерій. Два з виділених штамів на підставі оцінки морфологічних, біохімічних та тінкторіальних властивостей були віднесені до виду *Pseudomonas aeruginosa* і класифіковані як *P. aeruginosa* М1 та *P. aeruginosa* М4. Ідентифікація цих штамів була підтверджена визначенням складу жирних кислот з використанням системи MIDI Sherlock. У табл. 1 наведені результати оцінки їх здатності до продукції біосурфактантів. Як контрольний був використаний колекційний штам *P. aeruginosa* PA01.

Таблиця 1

Результати оцінки здатності бактерій, виділених з поверхні мушель мідій, до синтезу біосурфактантів у дроп-тесті

Table 1

The results of the evaluation of the ability of bacteria isolated from the surface of musselshells to synthesize biosurfactants in the drop test

<i>P. aeruginosa</i> PA01	<i>P. aeruginosa</i> M1	<i>P. aeruginosa</i> M4	Вода
			

Аналіз даних дроп-тесту свідчить що за здатністю синтезувати біосурфактанти штамми *P. aeruginosa* можна розташувати таким чином: *P. aeruginosa* М4 > *P. aeruginosa* М1 > *P. aeruginosa* PA01. Відповідні діаметри розповсюдження крапель по поверхні парафільму дорівнювали $7,20 \pm 0,41$ мм, $5,44 \pm 0,25$ мм та $4,35 \pm 0,18$ мм. Таким чином, у порівнянні з колекційним штамом морські ізоляти синтезували на 25% (штам М1) і 66% (штам М4) більше поверхнево-активних речовин.

Враховуючи, що від складу середовища залежать кількість синтезованих біосурфактантів та їх структура [14, 17], культивування досліджуваних штамів проводили у двох живильних середовищах: LB і Гіса. Оскільки морські штамми *P. aeruginosa* були виділені з біоплівки поверхні мушель мідій дослідження проводили як у суспензійних зі струшуванням, так і у стаціонарних біоплівкових культурах. Результати виражали у мг рамноліпідів в 1 мл на 10^9 клітин у разі суспензійних культур та у мг рамноліпідів на одиницю маси біоплівки у разі біоплівкових культур.

Дослідження вмісту рамноліпідів в суспензійних культурах (рис. 1 і 2) показало, що їх кількість при культивуванні у середовищі LB значно перевищує вміст біосурфактантів у середовищі Гіса для усіх досліджених штамів.

Так, якщо у референтного штаму *P. aeruginosa* PA01 вміст рамноліпідів на середовищі Гіса становив 1,1 мг на 10^9 КУО на п'яту добу та 1,6 мг на 10^9 КУО на сьому добу, то на середовищі LB він був у 8–10 разів вищим та



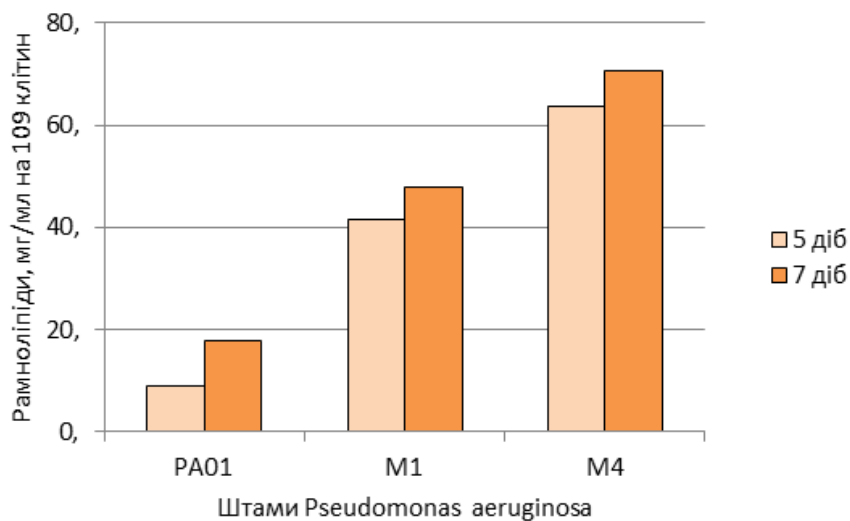


Рис. 1. Вміст рамноліпідів за культивування досліджуваних штамів у суспензійній культурі у середовищі LB

Примітка: * – різниця достовірна у порівнянні з штамом *P. aeruginosa* PA01;
** – різниця достовірна у порівнянні з штамом *P. aeruginosa* M1

Fig. 1. The content of rhamnolipids during the cultivation of the studied strains in suspension culture in LB medium

Note: * – significant difference compared with *P. aeruginosa* PA01;
** – significant difference compared with *P. aeruginosa* M1

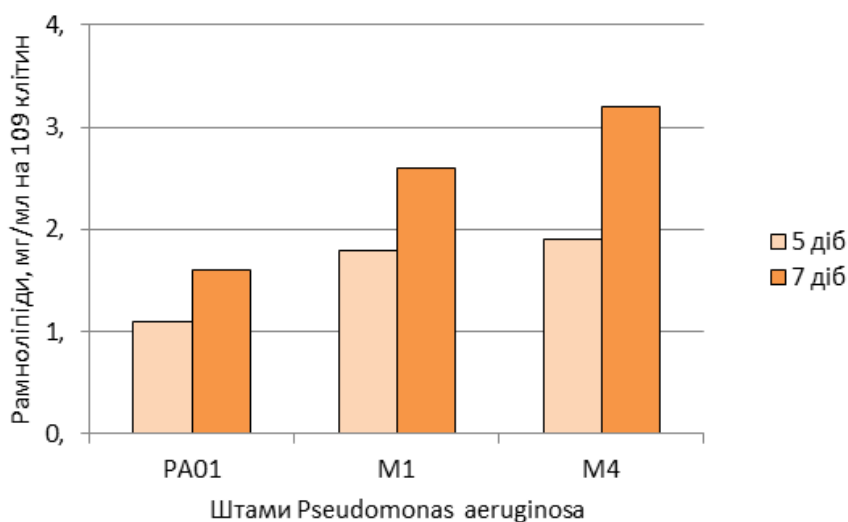


Рис. 2. Вміст рамноліпідів за культивування досліджуваних штамів у суспензійній культурі в середовищі Гіса

Примітка: * – різниця достовірна у порівнянні з штамом *P. aeruginosa* PA01;

Fig. 2. The content of rhamnolipids during the cultivation of the studied strains in suspension culture in Giss medium

Note: * – significant difference compared with *P. aeruginosa* PA01

становив 8,9 та 17,8 мг на 10^9 КУО, відповідно. Штами *P. aeruginosa* M1 та M4 виявили ще більшу здатність до синтезу рамноліпідів за умов культивування. Вміст рамноліпідів в цьому випадку також був значно вищим при використанні середовища LB. Так, вміст рамноліпідів на п'яту добу інкубування в супернатанті суспензійних культур *P. aeruginosa* M1, що росли на середовищі Гіса становив 1,8 мг на 10^9 КУО, а на сьому добу інкубації – 2,6 мг на 10^9 КУО. У той самий час, у середовищі LB вміст рамноліпідів був майже у 20 разів більшим і становив 41,5 мг на п'яту та 48 мг на сьому добу інкубації.

Найбільший рівень біосинтезу рамноліпідів спостерігався у *P. aeruginosa* M4. Загальна тенденція, що була притаманна накопиченню рамноліпідів у суспензійних культурах досліджених штамів спостерігалася і в цьому випадку. Так, якщо на середовищі Гіса на п'яту та сьому добу інкубації вміст рамноліпідів становив 1,9 та 3,2 мг на 10^9 КУО, то на середовищі LB – 63,7 та 70,6 мг, відповідно.

Враховуючи, що штами *P. aeruginosa* M1 і *P. aeruginosa* M4 були виділені з біоплівки, які знаходилися на поверхні мушель мідій, культивування здійснювали також у плоскодонних планшетах Nuclon, що забезпечувало утворення біоплівки на їх дні. В даних умовах культивування також були використані обидва живильні середовища: LB і Гіса. Вміст рамноліпідів розраховували у мг на одиницю маси біоплівки. Для цього по закінченні культивування і видалення середовища з лунок біоплівки фіксували етанолом і забарвлювали кристалічним фіолетовим. Результати наведені у табл. 2.

Таблиця 2

Маси біоплівки, утворених досліджуваними штамми *P. aeruginosa*
(ОГ 592 нм)

Table 2

Masses of biofilms formed by the studied strains of *P. aeruginosa*
(OD 592 nm)

Середовище	Доба	<i>P. aeruginosa</i> PA01	<i>P. aeruginosa</i> M1	<i>P. aeruginosa</i> M4
LB	5	3,243 ± 0,264	3,581 ± 0,286	2,283 ± 0,205
	7	2,834 ± 0,230	3,154 ± 0,261	2,106 ± 0,153
Гіса	5	3,027 ± 0,184	3,096 ± 0,193	2,185 ± 0,152
	7	2,873 ± 0,174	2,965 ± 0,180	1,937 ± 0,169

Примітка: за усіх умов культивування достовірної різниці між штамми не виявлено ($p > 0,05$)

Як видно з представлених даних суттєвих відмінностей у здатності утворювати біоплівки між штамми немає. Також цей показник не залежав від живильного середовища. Можна відмітити тенденцію до зменшення маси



біоплівки на сьому добу. Цей факт, скоріше за все, пов'язаний зі старінням біоплівок та вивільненням з них клітин [4]. Причому важливу роль в цих процесах відіграють саме рамноліпіди.

Дослідження синтезу рамноліпідів у біоплівкових культурах (рис. 3 і 4) показало у цілому таку саму картину що і у випадку суспензійної культури за виключенням того, що накопичення рамноліпідів в цих умовах було інтенсивнішим ніж у суспензійних культурах для усіх штамів на сьому добу інкубації.

Як і у попередньому випадку найбільшу здатність до продукції рамноліпідів показав штам *P. aeruginosa* M4. На п'яту добу інкубації вміст рамноліпідів при культивуванні на середовище Гіса становив 1,9 мг, що дорівнювало вмісту цих сполук при суспензійному культивуванні за тих самих умов, а на середовище LB майже у 58 разів більше – 111 мг. На сьому добу ці показники сягали 4,3 мг на середовищі Гіса, та 130 мг на середовищі LB.

Супернатанти біоплівкових культур штамів *P. aeruginosa* M1 та *P. aeruginosa* PA01 містили значно меншу кількість рамноліпідів, яка на 7 добу інкубації дорівнювала у випадку середовища Гіса 2,6 та 2,7 мг відповідно, а на середовищі LB – 20 та 84,1 мг.

Така суттєва різниця у кількості біосурфактантів на різних середовищах може пояснюватися тим, що, з одного боку, середовище LB містить набагато більше білкового компоненту ніж середовище Гіса. Зважаючи на те, що *P. aeruginosa* є облігатно протеолітичним видом та практично не утилізує цукри окрім глюкози, можна зробити висновок що середовище LB є значно оптимальнішим для росту та розвитку популяції клітин цього мікроорганізму, що також має позначатися і на синтезі різних екзопродуктів. З іншого боку, глюкоза, що міститься у використаному варіанті середовища Гіса може викликати катаболітну репресію синтезу сполук що містять цукри, зокрема, й рамноліпідів [19]. Також не можна виключати що дріжджовий екстракт, який входить до складу середовища LB може містити широкий спектр малих молекул з сигнальними властивостями (зокрема, фарнезол), які можуть впливати на клітини *P. aeruginosa* і таким чином призводити до підвищення біосинтезу рамноліпідів [8].

З даних літератури відомо, що морські штами *P. aeruginosa*, виділені з забруднених ділянок, продукують велику кількість біосурфактантів та є ефективними деструкторами біфенілів та поліциклічних вуглеводнів. Особливо це стосується штамів, які знаходилися у складі природних біоплівок [5,15]. Спираючись на ці дані, можна припустити, що виділений з біоплівок на поверхні мушель чорноморських мідій штам *P. aeruginosa* M4 може бути перспективним для використання у біоремедіації забруднених органічними поллютантами водойм.

Підсумовуючі отримані дані слід зазначити: виділені з Чорного моря штами *P. aeruginosa* є ефективнішими продуцентами рамноліпідів, ніж референтний штам *P. aeruginosa* PA01; інтенсивність біосинтезу поверхнево-активних сполук суттєво залежить від складу живильного середовища. В подальших дослідженнях буде доцільним встановити роль інших умов культивування: рН, температура, порівняти якісний склад рамноліпідів різних

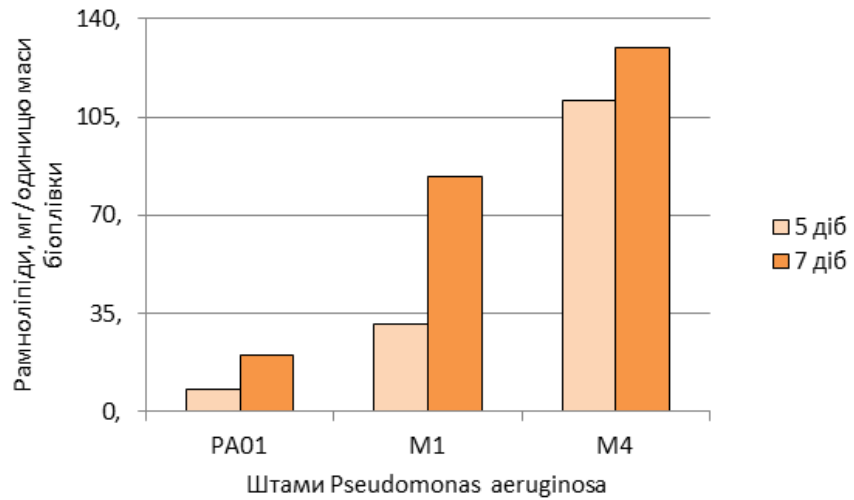


Рис. 3. Вміст рамноліпїдів за культивування досліджуваних штамів у біоплівковій культурі в середовищі LB

Примїтка: * – рїзниця достовїрна у порївнянні з штамом *P. aeruginosa* PA01;
** – рїзниця достовїрна у порївнянні з штамом *P. aeruginosa* M1

Fig. 3. The content of rhamnolipids during the cultivation of the studied strains in biofilm culture in LB medium

Note: * – significant difference compared with *P. aeruginosa* PA01;
** – significant difference compared with *P. aeruginosa* M1

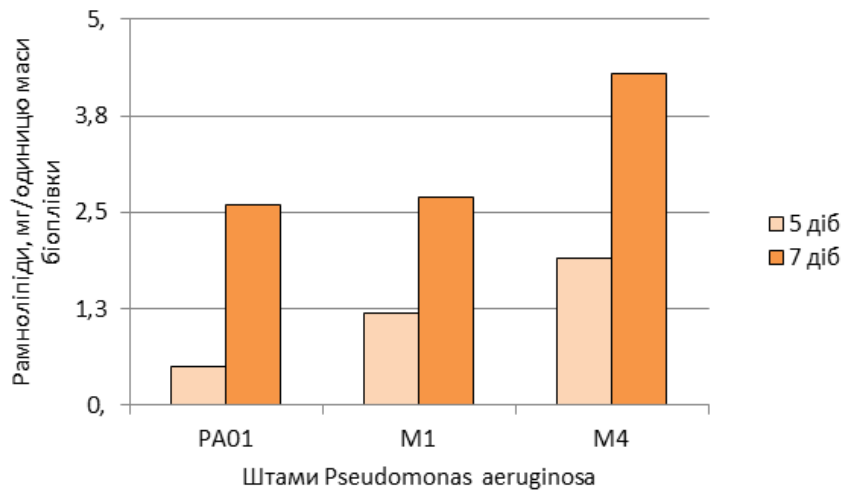


Рис. 4. Вміст рамноліпїдів за культивування досліджуваних штамів у біоплівковій культурі в середовищі G1a

Примїтка: * – рїзниця достовїрна у порївнянні з штамом *P. aeruginosa* PA01;
** – рїзниця достовїрна у порївнянні з штамом *P. aeruginosa* M1

Fig. 4. The content of rhamnolipids during the cultivation of the studied strains

Note: * - significant difference compared with *P. aeruginosa* PA01;
** - significant difference compared with *P. aeruginosa* M1

штамів та активність системи міжклітинної комунікації. Для морських штамів буде цікавим визначити ефекти морської води і синтетичного морського середовища.

**М.А. Финогенова, Н.Б. Галкин, А.С. Семенец, А.С. Калева,
И.В. Прищенко, Б.Н. Галкин, И.П. Метелицына,
Т.О. Филиппова**

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина,
тел.: +38 (048) 765 33 61, e-mail: tphilippova@ukr.net

СИНТЕЗ БИОСУРФАКТАНТОВ БАКТЕРІЯМИ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, ИЗОЛИРОВАННЫМИ С ПОВЕРХНОСТИ МИДИЙ ЧЕРНОГО МОРЯ

Реферат

Цель работы – оценка способности к синтезу поверхностно-активных соединений бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, изолированных с поверхности черноморских мидий. **Методы.** В ходе исследования были использованы несколько морских штаммов *Pseudomonas spp.*, выделенных из районов Черного моря, загрязненных нефтяными углеводородами: *P. aeruginosa* M1, *P. aeruginosa* M4, и *P. aeruginosa* PA01 в качестве эталонного штамма, которые выращивали в суспензионных и биопленочных культурах в средах LB и Гисса. Культивирование штаммов *Pseudomonas aeruginosa* проводили при 37 °C в течение 120 и 168 часов. Рост планктонных культур определяли спектрофотометрически на длине волны 600 нм. Массу биопленки определяли спектрофотометрически на длине волны 592 нм с помощью CV-теста. Присутствие поверхностно-активных соединений оценивали с помощью дроп-теста. Количественное содержание рамнолипидов определяли по цветной реакции рамнозы с орцином. **Результаты.** Штаммы *P. aeruginosa* M1 и M4, выделенные с поверхности черноморских мидий, синтезируют на 25% и 66% больше поверхностно-активных веществ, чем контрольный штамм PA01. Все штаммы в среде Гисса синтезировали в 10–20 раз меньше рамнолипидов чем в среде LB. В биопленочных культурах наблюдается такая же зависимость синтеза биосурфактантов от состава питательной среды, что и в суспензионных культурах. По интенсивности продукции рамнолипидов в биопленочных культурах исследованные штаммы можно расположить таким образом: *P. aeruginosa* M4 > *P. aeruginosa* M1 >> *P. aeruginosa* PA01. **Выводы.** Штаммы *P. aeruginosa*, выделенные из Черного моря, являются более эффективными продуцентами рамнолипидов, чем эталонный штамм *P. aeruginosa* PA01. Интенсивность синтеза биосурфактантов существенно зависит от состава питательной среды и способа выращивания.

Ключевые слова: морские бактерии, *Pseudomonas aeruginosa*, биосурфактанты, суспензионные и биопленочные культуры, состав питательной среды



**M.O. Finogenova, M.B. Galkin, A.S. Semenets, G.S. Kaleva,
I.V. Prishchenko, B.M. Galkin, I.P. Metelitsyna, T.O. Filipova**

Odesa I.I. Mechnykov National University,
2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine,
tel.: +38 (048) 765 33 61, e-mail: tphilippova@ukr.net

BIOSURFACTANTS SYNTHESIS BY *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* BACTERIA ISOLATED FROM THE SURFACE OF MUSSELS OF THE BLACK SEA

Summary

Aim. Establishing of the ability to synthesize surface-active compounds by *Pseudomonas aeruginosa* bacteria isolated from the surface of Black Sea mussels. **Methods.** During the research several marine *Pseudomonas* spp strains isolated from petroleum hydrocarbon contaminated areas of Black Sea were used: *P. aeruginosa* M1, *P. aeruginosa* M4 and *P. aeruginosa* PA01 as reference strain in suspension and biofilm cultures (LB and Giss media). Cultivation of *Pseudomonas aeruginosa* strains was performed at 37 °C for 120 and 168 hours. Planktonic culture growth was determined spectrophotometrically on the wave length 600 nm. Biofilm mass was determined spectrophotometrically on the wave length 592 nm by CV-test. The presence of surface-active compounds was determined in a drop test. The quantitative content of rhamnolipids was evaluated by the color reaction of rhamnose with orcin. **Results.** *P. aeruginosa* strains M1 and M4 isolated from Black Sea mussel's surfaces synthesize 25% and 66% more surfactants than the reference strain PA01. All strains in Giss medium synthesized 10–20 times less rhamnolipids than in LB medium. In biofilm cultures the same biosurfactant synthesis dependence on the composition of the nutrient medium is observed as in suspension cultures. According to the intensity of rhamnolipid production in biofilm cultures, the studied strains can be arranged in the following row: *P. aeruginosa* M4 > *P. aeruginosa* M1 >> *P. aeruginosa* PA01. **Conclusions.** The strains of *P. aeruginosa* isolated from the Black Sea are more efficient producers of rhamnolipids than the reference strain of *P. aeruginosa* PA01; the intensity of biosynthesis of surfactants significantly depends on the composition of the nutrient medium and the method of cultivation.

Key words: marine bacteria, *Pseudomonas aeruginosa*, biosurfactants, suspension and biofilm cultures, the composition of the nutrient medium

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Морион. – 2001. – 260 с.
2. Alyousif N. A., Luaibi Y.Y.A., Hussein W. Distribution and molecular characterization of biosurfactant-producing bacteria // Biodiversitas. – 2020. – V. 21. – P. 4034–4040.
3. Banat I.M., Satpute S.K., Cameotra S.S., Patil R., Nyayanit N.V. Cost effective technologies and renewable substrates for biosurfactants production // Front. Microbiol. – 2014. – V. 5. – P. 697.
4. Bedi B., Maurice N.M., Sadikot R.T. Microarchitecture of *Pseudomonas*



- aeruginosa* biofilms: A biological perspective // Biomed. Biotechnol. – 2018. – V. 2, № 4. – P. 227–236.
5. Chakraborty J., Das S. Characterization of the metabolic pathway and catabolic gene expression in biphenyl degrading marine bacterium *Pseudomonas aeruginosa* JP-11 // Chemosphere – 2016. – V. 144 – P. 1706–1714.
 6. Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J. et al. Adherence of coagulase-negative *Staphylococci* to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of *Staphylococci* to medical devices // J. Clin. Microbiol. – 1985. – V. 22, № 6. – P. 996–1006.
 7. Copley J. All at sea // Nature. – 2002. – V. 415. – P. 572.
 8. Cugini C., Morales D. K., Hogan D. A. *Candida albicans* produced farnesol stimulates *Pseudomonas* quinolone signal production in LasR-defective *Pseudomonas aeruginosa* strains // Microbiology. – 2010. – V. 156. – P. 3096–3107.
 9. Dang N.P., Landfald B., Willassen N.P. Biological surfaceactive compounds from marine bacteria // Environ. Technol. – 2016. – V. 37. –P. 1151–1158.
 10. Darvishi P., Ayatollahi S., Mowla D. Biosurfactant production under extreme environmental conditions by an efficient microbial consortium, ERCPPI-2 // Colloids Surf. B. Biointerfaces. – 2011. – V. 84 – P. 292–300.
 11. Fracchia L., Cavallo M. Biosurfactants and bioemulsifiers biomedical and related applications: Present status and potential M. // Biomed. Science, Engineering and Technology. – 2012. – V. 10 – P. 325– 370.
 12. Jain D.K., Collins-Thompson D.L., Lee H., Trevors J.T. A drop-collapsing test for screening surfactant-producing microorganisms // J. Microbiol. Methods. – 1991. – V. 13. – P. 271–279.
 13. Koch A. K., Kappeli O., Fiechter A., Reiser R. Hydrocarbon assimilation and biosurfactant production in *Pseudomonas aeruginosa* mutants // J. Bacteriol. – 1991. – V. 173. –P. 4212–4219.
 14. Koim-Puchowska B., Kłosowski G., Drózd-Afelt J.M., Mikulski D., Zielinska A. Influence of the Medium Composition and the Culture Conditions on Surfactin Biosynthesis by a Native *Bacillus subtilis* natto BS19 Strain // Molecules. – 2021. – V. 26. – 2985. doi:10.3390/molecules26102985.
 15. Mahto K.U., Das S. Whole genome characterization and phenanthrene catabolic pathway of a biofilm forming marine bacterium *Pseudomonas aeruginosa* PFL-P1 // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2020. – V. 206. – 111087. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111087>
 16. Maier R.M. Biosurfactants: evolution and diversity in bacteria // Adv. Appl. Microbiol. – 2003. – V. 52. – P. 101–121. 10.1016/s0065-2164(03)01004-9
 17. Nurfarahin A.H., Mohamed M.S., Phang L.Y. Culture Medium Development for Microbial-Derived Surfactants Production – An Overview // Molecules. – 2018. – V. 23. – P. 1049. doi:10.3390/molecules23051049.
 18. Tripathi L., Irorere V.U., Marchant R., Banat I.M. Marine derived biosurfactants: a vast potential future resource // Biotechnol. Lett. – 2018. – V. 40. – P. 1441–1457.
 19. Valentini M., Lapouge K. Catabolite repression in *Pseudomonas aeruginosa* PA01 regulates the uptake of C4-dicarboxylates depending on succinate concentration // Environ. Microbiol. – 2013. – V. 15, № 6. – P. 1707–1716.



REFERENCES

1. Lapach CN, Chubenko AV, Babich PN. Statisticheskie metodi v medikobiologicheskikh issledovaniyach s ispolsovaniem Excel. – K.: Morion. – 2001. – 260 p. (in Russian)
2. Alyousif NA, Luaibi YYYY, Hussein W. Distribution and molecular characterization of biosurfactant-producing bacteria. Biodiversitas. 2020;21:4034-4040. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210914>
3. Banat IM, Satpute SK, Cameotra SS, Patil R, Nyayanit NV. Cost effective technologies and renewable substrates for biosurfactants production. Front Microbiol. 2014;5: 697. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00697>
4. Bedi B, Maurice NM, Sadikot RT. Microarchitecture of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: A biological perspective. Biomed Biotechnol. 2018;2:227-236. doi: 10.4103/bbrj.bbrj_98_1
5. Chakraborty J, Das S. Characterization of the metabolic pathway and catabolic gene expression in biphenyl degrading marine bacterium *Pseudomonas aeruginosa* JP-11. Chemosphere. 2016;144:1706-1714. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.059>
6. Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ et al. Adherence of coagulase-negative *Staphylococci* to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of *Staphylococci* to medical devices. J Clin Microbiol. 1985;22: 996-1006. doi: 10.1128/jcm.22.6.996-1006.1985
7. Copley J. All at sea. Nature. 2002;415: 572. <https://doi.org/10.1038/415572a>
8. Cugini C, Morales DK, Hogan DA. *Candida albicans* produced farnesol stimulates *Pseudomonas* quinolone signal production in LasR-defective *Pseudomonas aeruginosa* strains. Microbiology. 2010;156:3096-3107. doi: 10.1099/mic.0.037911-0
9. Dang NP, Landfald B, Willassen NP. Biological surfaceactive compounds from marine bacteria. Environ Technol. 2016;37:1151-1158. doi: 10.1080/09593330.2015.1103784
10. Darvishi P, Ayatollahi S, Mowla D. Biosurfactant production under extreme environmental conditions by an efficient microbial consortium, ERCP-PI-2. Colloids Surf B Biointerfaces. 2011;84:292-300. doi: 10.1016/j.col-surf.2011.01.011
11. Fracchia L, Cavallo M. Biosurfactants and bioemulsifiers biomedical and related applications – Present status and potential. In book: Biomedical Science, Engineering and Technology. 2012;10: 325-370. doi: 10.5772/23821
12. Jain DK, Collins-Thompson DL, Lee H, Trevors JT. A drop-collapsing test for screening surfactant-producing microorganisms. J Microbiol Methods. 1991;13: 271-279. [https://doi.org/10.1016/0167-7012\(91\)90064-W](https://doi.org/10.1016/0167-7012(91)90064-W)
13. Koch AK, Kappeli O, Fiechter A, Reiser R. Hydrocarbon assimilation and biosurfactant production in *Pseudomonas aeruginosa* mutants. J Bacteriol. 1991;173: 4212-4219. doi: 10.1128/jb.173.13.4212-4219.1991
14. Koim-Puchowska B, Kłosowski G, Drózd-Afelt JM, Mikulski D, Zielinska A. Influence of the Medium Composition and the Culture Conditions on



- Surfactin Biosynthesis by a Native *Bacillus subtilis* natto BS19 Strain. *Molecules*. 2021; 26: 2985. doi:10.3390/molecules26102985
15. Mahto KU, Das S. Whole genome characterization and phenanthrene catabolic pathway of a biofilm forming marine bacterium *Pseudomonas aeruginosa* PFL-P1. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2020;206: 111087. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111087>
 16. Maier RM. Biosurfactants: evolution and diversity in bacteria. *Adv. Appl. Microbiol.* 2003;52:101-121. doi:10.1016/s0065-2164(03)01004-9
 17. Nurfarahin AH, Mohamed MS, Phang LY. Culture Medium Development for Microbial-Derived Surfactants Production – An Overview. *Molecules*. 2018;23: 1049; doi:10.3390/molecules23051049
 18. Tripathi L, Irorere VU, Marchant R, Banat IM. Marine derived biosurfactants: a vast potential future resource. *Biotechnol Lett*. 2018;40: 1441–1457. doi: 10.1007/s10529-018-2602-8
 19. Valentini M, Lapouge K. Catabolite repression in *Pseudomonas aeruginosa* PA01 regulates the uptake of C4-dicarboxylates depending on succinate concentration. *Environ Microbiol*. 2013;15:1707–1716. doi: 10.1111/1462-2920.12056

Стаття надійшла до редакції 24.11.2021 р.



**Н.В. Коротаєва, І.В. Страшнова, Н.Ю. Васильєва,
К.С. Потапенко, І.П. Метеліцина, Т.О. Філіпова,
В.О. Іваниця**

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,
e-mail: korotaeva.n@onu.edu.ua

ХАРАКТЕРИСТИКА АКТИНОБАКТЕРІЙ, ІЗОЛЬОВАНИХ ІЗ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* ОДЕСЬКОЇ ЗАТОКИ ЧОРНОГО МОРЯ

Сьогодні активно зростає як академічний, так і комерційний інтерес саме до морських актинобактерій, оскільки вони живуть в унікальному середовищі, що сприяє синтезу нових біологічно-активних метаболітів. **Метою** роботи була ізоляція, первинна ідентифікація та вивчення морфологічних, культуральних, фізіолого-біохімічних властивостей актинобактерій, виділених із мідії (*Mytilus galloprovincialis*) Одеської затоки Чорного моря. **Методи.** Матеріалом для ізоляції актинобактерій були зразки мідії, зібраних в прибережній зоні Одеської затоки. Ізоляцію актинобактерій та вивчення їх морфологічних, культуральних, фізіолого-біохімічних властивостей здійснювали традиційними мікробіологічними методами. Склад жирних кислот визначали на газовому хроматографі з полум'яно-йонізаційним детектором Agilent 7890 (Agilent Technologies, США), для ідентифікації досліджуваних штамів використовували бібліотеку Sherlock Microbial Identification System. **Результати.** Із проб мідії, зібраних у 2020 р. в районі Гідробіологічної станції ОНУ імені І.І. Мечникова, виділено 14 ізолятів актинобактерій, які було ідентифіковано за жирно-кислотними спектрами до роду *Streptomyces*. Ізоляти актинобактерій характеризуються плеоморфізмом колоній на різних живильних середовищах. Штами *Streptomyces* sp. *Mut2*, *Mut6* та *Mut7ch* синтезували меланойдні пігменти. Актинобактерії добре засвоюють більшість досліджуваних джерел карбону, крім штамів *Streptomyces* sp. *Mut12a*, *Mut12b*. Майже половина штамів має оксидазну активність та коагулює молоко. **Висновки.** Вперше ізольовано актинобактерії з мідії Одеської затоки Чорного моря, охарактеризовано їх морфологічні, культуральні і фізіолого-біохімічні властивості та визначено їх таксономічну приналежність за спектрами жирних кислот.

Ключові слова: морські актинобактерії, *Streptomyces*, фізіолого-біохімічні властивості, морфологічні властивості, хемотаксономічні властивості

Актинобактерії є розповсюдженою у природних екосистемах групою мікроорганізмів, які використовуються як джерело для пошуку корисних вторинних метаболітів з антибіотичною активністю [6]. Сьогодні активно зростає як академічний, так і комерційний інтерес саме до морських актинобак-

© Н.В. Коротаєва, І.В. Страшнова, Н.Ю. Васильєва, К.С. Потапенко, І.П. Метеліцина, Т.О. Філіпова, В.О. Іваниця, 2021



терій, оскільки вони живуть в унікальному середовищі, що сприяє синтезу нових біологічно-активних метаболітів [11].

Відомо, що значна кількість актиноміцетів асоціюється з різними представниками морських бентосних спільнот, такими як губки, корали, асцидії, актинії, морські огірки, медузи, риби, морські їжаки та водорості. З 2007 року до сьогодні від морських рослин та тварин виділено більше тридцяти нових видів актиноміцетів [3, 5, 14, 15]. Морські організми виявилися багатим джерелом нових актиноміцетів потенційних продуцентів нових антибіотиків [10]. Все це робить перспективним виділення та вивчення актинобактерій з морських гідробіонтів.

Метою роботи була ізоляція, первинна ідентифікація та вивчення морфологічних, культуральних, фізіолого-біохімічних властивостей актинобактерій, виділених із мідій (*Mytilus galloprovincialis*) Одеської затоки Чорного моря.

Матеріали та методи досліджень

Мідії (*Mytilus galloprovincialis*) зібрані у червні 2020 р. в районі Гідробіологічної станції Одеського національного університету імені І.І. Мечникова (Одеська затока Чорного моря, 46°27'01''N 30°46'14''E) з глибини 3–5 метрів. Для отримання суспензії мікроорганізмів для висіву, зібрані мідії вносили у колби зі стерильною морською водою та гойдали на шейкері упродовж 30 хв при 150 об/хв. Посів здійснювали з попереднім прогріванням отриманих суспензій (50 °C, 15 хв) та без нього.

Для виділення актинобактерій використовували живильні середовища Гаузе 2, Чапека, Ешбі, крохмаль-аміачний і ґрунтовий агар [1]. Усі середовища готували на морській воді з налідиксовою кислотою (10 мг/л). Посіви культивували за температури 28 °C упродовж 21 доби.

Попередню ідентифікацію отриманих 14 ізолятів актинобактерій проводили шляхом порівняльного аналізу спектрів жирних кислот за допомогою автоматичної системи ідентифікації Sherlock Microbial Identification System (MIDI Sherlock version 6.2, MIDI Library ACTIN 3.80). Для цього актинобактерії вирощували впродовж 3 діб у 20 мл середовища Tryptic soy broth при 28 °C та гойданні на шейкері при 150 об/хв. Виділення та визначення вмісту жирних кислот проводили згідно MIS Operating Manual [9, 12] з використанням газового хроматографа Agilent 7890 (Agilent Technologies, США) та капілярної колонки ULTRA 2 (25 м x 0,2 мм x 0,33 мкм) і полум'яно-йонізаційного детектора.

У досліджуваних ізолятів вивчали морфологічні, фізіологічні, біохімічні та хемотаксономічні властивості:

- морфологію і характер росту – на середовищах вівсяний агар з морською сіллю, Гаузе 1 та Гаузе 2 впродовж 14 діб при 28 °C;
- синтез меланоїдних пігментів – на середовищах ISP-6 і ISP-7;
- морфологію клітин вивчали шляхом мікроскопії фіксованих препаратів, забарвлених водним розчином фуксину (світловий мікроскоп Zeiss Axio, x1500);
- відношення до хлориду натрію визначали на середовищі МПА з різни-



ми концентраціями NaCl (1,0; 2,0; 5,0; 7,0; 9,0; 12,0%). Інкубацію здійснювали впродовж 14 діб при 28 °С. Ріст штамів на середовищі з різними концентраціями NaCl оцінювали як «+», «++», «+++» і «++++», або відсутність росту «-» [1];

- утилізацію джерел карбону вивчали на мінімальному середовищі ISP 9. Джерелами карбону слугували глюкоза, фруктоза, галактоза, гліцерол, лактоза, ксилоза, рамноза, манітол, сорбіт, маноза, арабіноза та цукроза, які додавали окремо до кінцевої концентрації 1%. Інкубацію проводили впродовж 14 діб при 28 °С. Ріст штамів на різних джерелах карбону оцінювали як «+», «++», «+++» і «++++», або відсутність росту «-» [2, 13];

- визначення каталазної активності проводили стандартним методом за допомогою 3% перекису водню [8];

- для визначення оксидазної активності використовували OXItest (Erba, CZ);

- наявність ферменту амілази виявляли на середовищі Гаузе 1. Посіви інкубували 21 добу при 28 °С. Залишки крохмалю виявляли за допомогою розчину Люголя [8];

- здатність до розрідження желатину визначали на середовищі МПБ з додаванням 10–15 г желатину. Інкубацію проводили 7–10 діб при 28 °С. Після інкубації пробірки з середовищем поміщали в холодильник не струшуючи їх. Під впливом ферменту желатинази за позитивного результату середовище залишається рідким після його охолодження [8];

- утворення H₂S виявляли з застосуванням тест-смужки фільтрувального паперу, просоченого ацетатом свинцю. Інкубацію проводили при 35–37 °С упродовж 24 год [1];

- відновлення нітрату до нітриту визначали на культурі актинобактерій, яку вирощували протягом 10–14 днів при 28 °С. Для цього на предметному склі змішували 50 мкл культуральної рідини та 50 мкл реагенту (крохмаль – 0,4 г, ZnCl₂ – 2,0 г на 100 мл H₂O), а потім додавали розчин 2М HCl [13];

- відновлення нітрату до молекулярного азоту визначали в рідкому середовищі МПБ з 0,2% KNO₃ [8];

- протеолітичну активність визначали на рідкому середовищі (г/л): знежирене молоко – 600 мл, CaCO₃ – 0,2 г. Інкубацію проводили 14 діб при 28 °С [8].

Кластеризацію даних здійснювали за допомогою функції `rect.hclust`, яка дозволяє виділити статистично значущі кластери (для розрахунку матриці відстані використовували метод «`canberra`», метод кластеризації «`complete`») [7].

Результати та обговорення

Із відібраних проб мідій було виділено 14 ізолятів актинобактерій (Myt1, Myt2, Myt3a, Myt3b, Myt4, Myt5, Myt6, Myt7ch, Myt7b, Myt8, Myt10, Myt11, Myt12a, Myt12b). За результатами порівняння спектрів жирних кислот за допомогою бібліотеки MIDI Sherlock (ACTIN 3.80) усі 14 штамів актинобактерій з глибоководних проб мідії було ідентифіковано з різними індексами подібності як належні до роду *Streptomyces*.



Ізольовані штами мали різні морфологічні властивості (табл. 1), що залежало не тільки від складу середовища і віку культур, а й зумовлено морфологічною варіабельністю (плеоморфізмом) видів актинобактерій, у тому числі неоднорідністю у межах одного виду (рис. 1).

Відомо, що багатьом актинобактеріям властивий плеоморфізм колоній за росту на живильних середовищах. Так, Yanti, Setyawati and Kurniatuhadi (2019) зазначають, що актиноміцети, виділені з осаду мангрових чагарників, ростуть на середовищах різного складу, утворюючи різноманітні колонії, які відрізняються структурою, краєм і висотою повітряного міцелію, кольором зрілих спор, наявністю ексудату, пігментами та текстурою колоній [17].

Виявлення меланоїдних пігментів, показало, що на середовищі ISP-6 лише штами *Streptomyces sp.* Myt2 та Myt7ch продукують пігменти, які дифундують в середовище (рис. 2).

Бактерії штаму *Streptomyces sp.* Myt6 синтезують меланоїдний пігмент на обох середовищах (рис. 3). Меланоїдні пігменти мають радіопротекторні та антиоксидантні властивості [4] і є важливим таксономічним критерієм.

Морфологію клітин ізольованих актинобактерій визначали за допомогою мікроскопії фіксованих препаратів, забарвлених фуксином Пфайфера. У препаратах одночасно спостерігали різні форми клітин: від коків до ниткоподібних. Клітини більшості актинобактерій представлено короткими паличками невеликого розміру, які розташовані поодинокі та хаотично. Також виявлено довгі ниткоподібні клітини. Клітини деяких досліджених штамів мали кокоподібну форму.

Оптимальний температурний діапазон росту усіх виділених штамів актинобактерій в межах від 28 до 37 °С. Але для штамів *Streptomyces sp.* Myt5, Myt6, Myt7b, Myt7ch, Myt8, Myt10 спостерігали ріст при 10 °С.

Стійкість до NaCl притаманна актинобактеріям, які мешкають в морських біотопах і може розглядатися як непрямий доказ їх автохтонного морського походження [16]. Встановлено (табл. 2), що 48,2% ізольованих актинобактерій характеризувалися ростом за граничної концентрації NaCl – 7%.

За внесення 5,0% NaCl гарний ріст (++++) продемонстрували 85,0% штамів, але при додаванні 9,0% NaCl для усіх штамів ріст бактерій не спостерігали. Найменш стійкими до NaCl виявились штами *Streptomyces sp.* Myt1, Myt12a та Myt12b.

Встановлено, що виділені штами актинобактерій здатні залучати у свій метаболізм різні джерела карбону (табл. 3). Штами *Streptomyces sp.* Myt1 та Myt10 не використовують фруктозу і арабінозу, та мають дуже помірний ріст на середовищах з ксилозою та сорбітом. Штами *Streptomyces sp.* Myt12a та Myt12b характеризувалися найменшою здатністю залучати до свого метаболізму різні вуглеводи. Для їх культивування використовували більш багаті на джерела карбону органічні середовища (Гаузе 2).

За результатами проведених досліджень показано, що більшість штамів добре засвоюють майже усі використані джерела карбону, що свідчить про широкі метаболічні можливості, які допомагають їм пристосовуватися до різних умов навколишнього середовища.

Вивчення фізіолого-біохімічних властивостей штамів актинобакте-



Таблиця 1

**Морфологічна характеристика колоній актинобактерій
на різних живильних середовищах**

Table 1

**Morphological characteristics of actinobacterial colonies
on different nutrient media**

Штам <i>Streptomyces</i> sp.	Середовище Вівсяний агар	Середовище Гаузе 1	Середовище Гаузе 2
Мут1	Округлі, жовті колонії, які утворюють білий міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють білий міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють сірий міцелій
Мут2	Округлі, жовті колонії, які утворюють сірий міцелій	Округлі, білі колонії, які утворюють білий міцелій	Округлі, колонії золотистого кольору, які утворюють сірий міцелій
Мут3а	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють білий міцелій	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють сірий міцелій	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють сірий міцелій
Мут3б	Округлі, колонії золотистого кольору, які утворюють білий міцелій	Округлі, колонії золотистого кольору, які утворюють біло-сірий міцелій	Округлі, колонії золотистого кольору, які утворюють біло-сірий міцелій
Мут4б	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють світло-сірий міцелій	Округлі, колонії золотистого кольору, які утворюють біло-сірий міцелій	Округлі, колонії золотистого кольору, які утворюють біло-сірий міцелій
Мут5	Округлі, жовті колонії, які утворюють білий міцелій	Округлі, колонії золотистого кольору, які утворюють білий міцелій	Округлі, колонії золотистого кольору, які утворюють біло-сірий міцелій



Продовження таблиці

Мут 6	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють сірий міцелій	Округлі, колонії сірого кольору, які утворюють світло-сірий міцелій	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють міцелій
Мут7b	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють білий міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють світло-сірий міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють темно-сірий міцелій
Мут7ch	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють білий повітряний міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють білий повітряний міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють білий міцелій
Мут8	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють світло-рожевий міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють світло-рожевий міцелій	Округлі, золоті колонії, які утворюють світло-рожевий міцелій
Мут10	Округлі, жовті колонії, які утворюють білий міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють білий міцелій	Округлі, золоті колонії, які утворюють білий міцелій
Мут11	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють світло-сірий міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють сірий міцелій	Округлі, білі колонії, які утворюють сірий міцелій
Мут12a	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють білий міцелій	Немає росту	Округлі, золоті колонії, які утворюють білий міцелій
Мут12b	Округлі, колонії, які утворюють білий міцелій	Немає росту	Округлі, золоті колонії, які утворюють білий міцелій

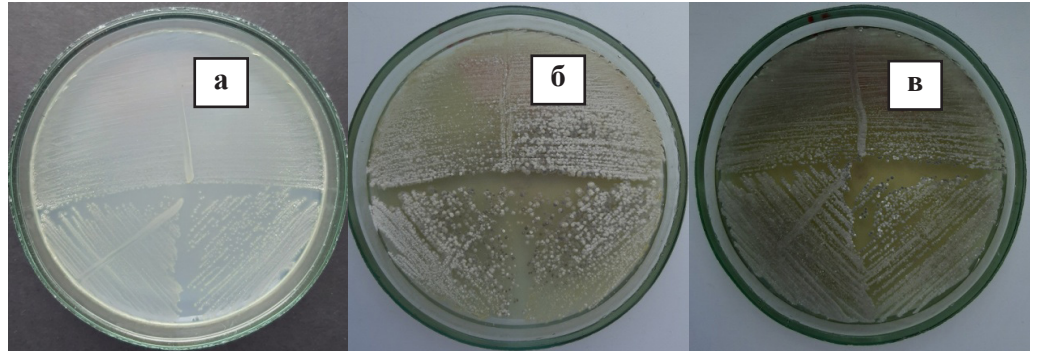


Рис. 1. Колонії актинобактерій штаму *Streptomyces sp. Myt7ch* на середовищах:
а) вівсяний агар з морською сіллю, б) Гаузе 1, в) Гаузе 2

Fig. 1. Colonies of actinobacteria of strain *Streptomyces sp. Myt7ch* on:
a) oat agar with sea salt, b) Gause 1, c) Gause 2

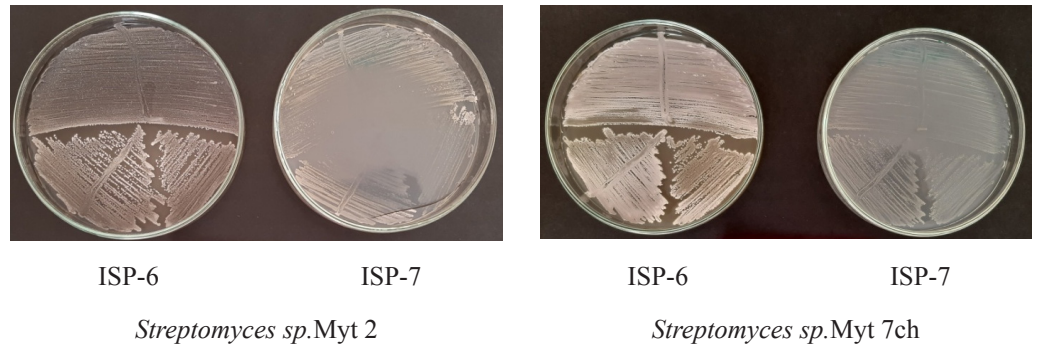


Рис. 2. Меланоїдні пігменти штамів *Streptomyces sp. Myt2* та *Myt7ch*
при рості на середовищі ISP-6 та ISP-7

Fig. 2. Melanoid pigments of *Streptomyces sp. Myt2* and *Myt7ch* growth
on ISP-6 and ISP-7



Рис. 3. Меланоїдні пігменти штаму *Streptomyces sp. Myt6* при рості на середовищі
ISP-6 та ISP-7

Fig. 3. Melanoid pigments of *Streptomyces sp. Myt6* growth on ISP-6 and ISP-7

Таблиця 2

Ріст актинобактерій на середовищі з різними концентраціями NaCl

Table 2

Growth of actinobacteria on medium with different concentrations of NaCl

Штам <i>Streptomyces sp.</i>	Концентрація NaCl			
	2%	5%	7%	9%
Myt1	++++	-	±	-
Myt2	++++	++++	++++	-
Myt3a	++++	++++	+++	-
Myt3b	++++	++++	++++	-
Myt4b	++++	++++	±	-
Myt5	+++	+++	+	-
Myt6	++++	++++	-	-
Myt7ch	+++	+++	-	-
Myt7b	++++	++++	++	-
Myt8b	++++	++++	-	-
Myt10	++++	+++	-	-
Myt11	++++	++++	++++	-
Myt12a	+++	±	-	-
Myt12b	++++	+	-	-

рій (табл. 4), виділених з мідій встановило, що каталазну активність мали усі штами, а 50% штамів виявили оксидазну активність. Актинобактерії *Streptomyces sp.* Myt1, Myt4, Myt8, Myt10 не утворюють сірководень. Тільки *Streptomyces sp.* Myt1, Myt4 та Myt8 з усіх досліджуваних штамів актинобактерій, виділених з мідій, відновлюють нітрати до нітритів, але жоден штам не відновлює до молекулярного азоту. Молоко здатні коагулювати 42,8% досліджуваних штамів актинобактерій і тільки 28,5% його пептонізують. Штами *Streptomyces sp.* Myt1, Myt2, Myt10, Myt11, Myt12a та Myt12b розріджують желатин. Усі штами характеризувалися здатністю гідролізувати крохмаль.

Результати кластеризації, проведеної на підставі сукупних культуральних, фізіологічних та біохімічних характеристик досліджених штамів, наведено на рисунку 4, на якому видно формування трьох окремих кластерів, причому кластер 2 розпадається на три підкластери. Два великих підкластери, включають в себе по 5 та 3 штами відповідно, а один – тільки штам Myt8b.



Таблиця 3

Ріст актинобактерій на середовищі з різними джерелами карбону

Table 3

Growth of actinobacteria on a medium with different carbon sources

<i>Streptomyces sp.</i>	лактоза	рамноза	маніт	сорбіт	сахароза	фруктоза	арабіноза	глюкоза	галактоза	глицерол	мальтоза	ксілоза
Мут1	++++	+++	+++	+	+++	-	-	+++	+++	++++	+	±
Мут2	++++	++++	++++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	++++
Мут3а	++++	++++	++++	+	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	+++
Мут3b	++++	++++	++++	+	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	++++
Мут4b	++++	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	++++
Мут5	++++	++++	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++++	++	++
Мут6	++++	++++	++++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++++	+++	++++
Мут7ch	+++	+	+++	++	++	±	++	+	+	++	++	+++
Мут7b	++++	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	+++
Мут8b	+++	+	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	+++
Мут10	++	+++	++++	+++	+++	-	-	++	+	+	-	±
Мут11	++++	++++	+++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	+++
Мут12а	±	±	+	-	+++	-	-	-	-	-	-	-
Мут12b	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	±



Таблиця 4

Table 4

Фізіолого-біохімічні властивості штамів актинобактерій, виділених з мідій

Physiological and biochemical properties of strains of actinobacteria from mussels

Штам <i>Streptomyces</i> <i>sp.</i>	Каталазна активність	Оксидазна активність	Утворення H ₂ S	Денітрифікація до нітритів	Денітрифікація до молекулярного азоту	Протеолітична активність на рідкому середовищі	Розрідження желатину	Гідроліз крох- малю
Мут1	+	-	-	+	-	-	+	+
Мут2	+	-	+	-	-	пептонізація, коагуляція	+	+
Мут3a	+	+	+	-	-	пептонізація, коагуляція	-	+
Мут3b	+	+	+	-	-	коагуляція	-	+
Мут4	+	-	-	+	-	-	-	+
Мут5	+	+	+	-	-	-	-	+
Мут6	+	+	+	-	-	-	-	+
Мут7b	+	+	+	-	-	-	-	+
Мут7ch	+	+	+	-	-	-	-	+
Мут8	+	-	-	+	-	пептонізація	-	+
Мут10	+	-	-	-	-	коагуляція	+	+
Мут11	+	-	+	-	-	пептонізація, коагуляція	+	+
Мут12a	+	-	+	-	-	коагуляція	+	-
Мут12b	+	+	+	-	-	-	+	-

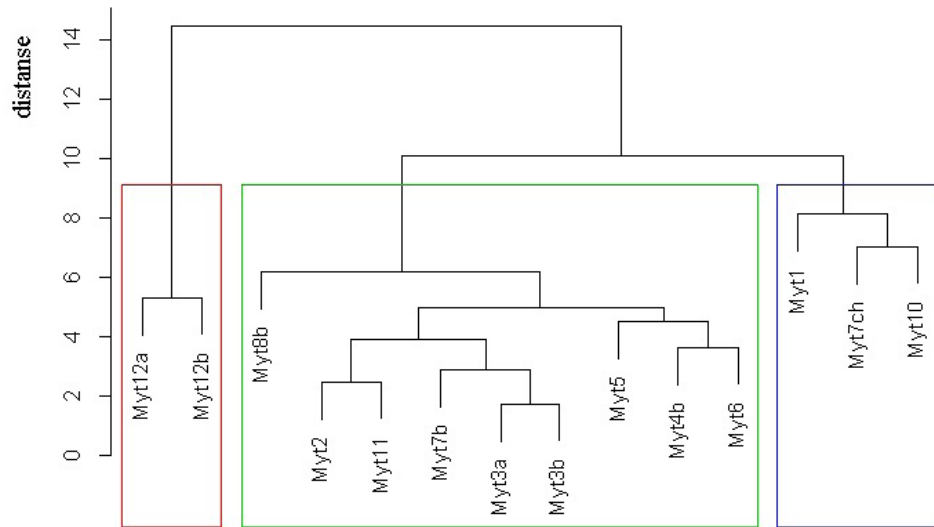


Рис. 4. Дендрограма результатів кластеризації за сукупними показниками актинобактерій, ізольованих з мідій

Fig. 4. Dendrogram of clustering results according to the aggregate indicators of actinobacteria isolated from mussels

Отже, в результаті проведених досліджень вперше актинобактерії ізольовано із мідій Одеської затоки Чорного моря, охарактеризовано морфологічні, культуральні та фізіолого-біохімічні властивості отриманих штамів та визначено, що вони належать до представників роду *Streptomyces*.

Автори статті висловлюють щирю вдячність к.б.н., директору Гідробіологічної станції Одеського національного університету імені І.І. Мечникова О.О. Ковтуну за відбір мідій для нашого дослідження.

N.V. Korotaeva, I.V. Strashnova, N.Yu. Vasylieva,
K.S. Potapenko, I.P. Metelitsyna, T.O. Filipova, V.O. Ivanysia

Odesa National I.I. Mechnykov University,
2, Dvorianska str., Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: korotaeva.n@onu.edu.ua

CHARACTERISTICS OF ACTINOBACTERIA FROM MYTILUS GALLOPROVINCIALIS OF ODESSA GULF OF THE BLACK SEA

Summary

Today both academic and commercial interests in marine actinobacteria are growing. As they live in a unique environment that promotes the synthesis of new biologically active metabolites. **The aim** of the work is isolation, primary iden-



tification and study of morphological, cultural, physiological and biochemical properties of actinobacteria, separate from mussels (*Mytilus galloprovincialis*) of the Odessa Bay of the Black Sea. **Methods.** Samples of mussels collected in the coastal zone of Odessa Bay were used as material for the isolation of actinobacteria. Isolation of actinobacteria and the study of their morphological, cultural, physiological and biochemical properties was carried out by traditional microbiological methods. The fatty acid composition was determined on an Agilent 7890 semi-ionization gas chromatograph (Agilent Technologies, USA) to identify test strains using the Sherlock Microbial Identification System library. **Results.** From samples of mussels collected in 2020 in the area of the Hydrobiological Station of Odessa National I.I. Mechnikov University were isolated 14 strains of actinobacteria. They were identified by fatty acid analysis to *Streptomyces* genus. Strains of *Streptomyces* sp. Myt2, Myt6 and Myt7ch synthesized melanoid pigments. Strains of actinobacteria are well absorbed by most of the studied sources of carbon, except strains of *Streptomyces* sp. Myt12a, Myt12b. Almost half of the strains have oxidase activity and coagulate milk. **Conclusions.** As a result of microbiological studies for the first time were characterized morphological, cultural and physiological and biochemical properties and determined taxonomic composition by fatty acid spectra for actinobacteria isolated from the mussels of the Odessa Bay of the Black Sea.

Key words: marine actinobacteria, *Streptomyces*, physiological and biological properties, morphological properties, chemotaxonomic properties

**Н.В. Коротаева, И.В. Страшнова, Н.Ю. Васильева,
Е.С. Потапенко, И.П. Метелицына, Т.О. Филиппова,
В.А. Иваньця**

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина,
e-mail: korotaeva.n@onu.edu.ua

ХАРАКТЕРИСТИКА АКТИНОБАКТЕРИЙ ИЗ MYTILUS GALLOPROVINCIALIS ОДЕССКОГО ЗАЛИВА ЧЕРНОГО МОРЯ

Реферат

Сегодня активно растет как академический, так и коммерческий интерес к морским актинобактериям. Поскольку они живут в уникальной среде, что способствует синтезу новых биологически активных метаболитов. **Целью** работы было выделение, первичная идентификация и изучение морфологических, культурных, физиолого-биохимических свойств актинобактерий, выделенных из мидий (*Mytilus galloprovincialis*) Одесского залива Черного моря. **Методы.** Материалом для выделения актинобактерий были образцы мидий, собранных в прибрежной зоне Одесского залива. Выделение актинобактерий и исследование их морфологических, культурных, физиолого-биохимических параметров осуществляли стандартными микробиологическими методами. Спектр жирных кислот определяли на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором Agilent 7890 (Agilent Technologies, США), для идентификации исследуемых штаммов использовали библиотеку



Sherlock Microbial Identification System. Результати. Из проб мидий, собранных в 2020 г. в районе гидробиологической станции ОНУ имени И.И. Мечникова, были выделены 14 штаммов актинобактерий, идентифицированных по жирно-кислотным спектрам к роду *Streptomyces*. Штаммы *Streptomyces* sp. *Mut2*, *Mut6* и *Mut7ch* синтезировали меланоидные пигменты. Штаммы актинобактерий хорошо усваивают большинство изучаемых источников карбона, кроме штаммов *Streptomyces* sp. *Mut12a*, *Mut12b*. Почти половина штаммов имела оксидазную активность и коагулировала молоко. **Выводы.** В результате проведенных микробиологических исследований впервые выделено из мидий Одесского залива Черного моря актинобактерии, охарактеризованы их морфологические, культурные и физиолого-биохимические свойства и определен таксономический состав по спектрам жирных кислот.

Ключевые слова: морские актинобактерии, *Streptomyces*, физиолого-биологические свойства, морфологические свойства, хемотаксономические свойства

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Білявська Л.О. Актинобактерії роду *Streptomyces* і їхні метаболіти у біорегуляції рослин : дис. док. біол. наук : 03.00.07. Київ. – 2018. – 485 с.
2. Anderson A.S., Wellington E.M.H. The taxonomy of *Streptomyces* and related genera // Journal Systematic and Evolution Microbiology. –2001. – Vol. 51, № 3. – P. 797–814.
3. Cumsille A., Undabarrena A., González V., Claverías F., Rojas C., Cámara B. Biodiversity of actinobacteria from the South Pacific and the assessment of *Streptomyces* chemical diversity with metabolic profiling // Mar. Drugs. – 2017. – Vol. 15. – 286 p.
4. Dastager S.G., Wen-Jun L., Dayanand A., Shu-Kun T., Xin-Peng T., Xiao-Yang Z., Li-Hua X., Cheng-Lin J. Separation, identification and analysis of pigment (melanin) production in *Streptomyces* // African Journal of Biotechnology. – 2006. – Vol. 5, № 8. – P. 1131–1134.
5. Gandhimathi R., Arunkumar M., Selvin J., Thangavelu T., Sivaramakrishnan S., Kiran G.S., Shanmughapriya S., Natarajaseenivasan K. Antimicrobial potential of sponge associated marine actinomycetes // Journal de Mycologie. – 2008. – Vol. 18, № 1. – P. 16–22.
6. Ghanem N., Sabry S., El-Sherif Z., El-Ela G. Isolation and enumeration of marine actinomycetes from seawater and sediments in Alexandria // The Journal of general and applied microbiology. – 2000. – Vol. 46. – P. 105–111.
7. Kassambara A. Practical guide to cluster analysis in R: Unsupervised machine learning. – STHDA, 2017. – 187 p.
8. Li Q., Chen X., Jiang Y., Jiang C. Cultural, physiological, and biochemical identification of actinobacteria // Actinobacteria Basics and Biotechnological Applications. – 2016. – P. 87–111.
9. MIS Operation Manual. www.midi-inc.com. September. 2012. Newark.
10. Ramesh S., Detmer S. Marine Rare Actinomycetes: A Promising Source of Structurally Diverse and Unique Novel Natural Products // Mar. Drugs. –2019. –17. – 249 p.



11. Ramesh S., Mathivanan N. Screening of marine actinomycetes isolated from the Bay of Bengal, India for antimicrobial activity and industrial enzymes // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2009. – Vol. 25. – P. 2103–2111.
12. Sasser M. Bacterial identification by gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters (GC-FAME). Technical Note 101. Newark, DE: MIDI. 2006.
13. Shirling E.B., Gottlieb D. Methods for characterization of *Streptomyces* species // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 1966. – V. 16. – P. 313–40.
14. Subramani R., Aalbersberg W. Culturable rare actinomycetes: Diversity, isolation and marine natural product discovery // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2013. – Vol. 97. – P. 9291–9321.
15. Vicente J., Stewart A., Song B., Hill R.T., Wright J.L. Biodiversity of actinomycetes associated with caribbean sponges and their potential for natural product discovery // Mar. Biotechnol. – 2013. – Vol. 15. – P. 413–424.
16. Yan C., Q. Xue, Zhan-quan C., Rong Z. Classification and salt-tolerance of actinomycetes in the Qinghai lake water and lakeside saline soil // Journal of Sustainable Development. – 2009. – Vol. 2 (1). – P. 107–110.
17. Yanti A.H., Setyawati T.R., Kurniatuhadi R. Composition and Characterization of actinomycetes isolated from nipah mangrove sediment, gastrointestinal and fecal pellets of Nipah worm (*Namalycastis Rhodhocorde*) // International Conference of Mangroves and Its Related Ecosystems:OP Conf. Series: Earth and Environmental Science. – 2019. – Vol. 550. – P. 1–11.

REFERENCES

1. Bilyavs'ka L.O. Actinobacteria of the genus *Streptomyces* and their metabolites in plant bioregulation: dis. doc. biol. nauk. Kiev. 2018: 485 p. [in Ukrainian]
2. Anderson AS, Wellington EMH. The taxonomy of *Streptomyces* and related genera. Journal Systematic and Evolution Microbiology. 2001; 51 (3): 797–814. doi:10.1099/00207713-51-3-797.
3. Cumsille A, Undabarrena A, González V, Claverías F, Rojas C, Cámara B. Biodiversity of actinobacteria from the South Pacific and the assessment of *Streptomyces* chemical diversity with metabolic profiling. Mar. Drugs. 2017; 15: 286.
4. Dastager SG, Wen-Jun L, Dayanand A, Shu-Kun T, Xin-Peng T, Xiao-Yang Z, Li-Hua X, Cheng-Lin J. Separation, identification and analysis of pigment (melanin) production in *Streptomyces*. African Journal of Biotechnology. 2006; 5 (8):1131-1134.
5. Gandhimathi R, Arunkumar M, Selvin J, Thangavelu T, Sivaramkrishnan S, Kiran GS, Shanmughapriya S, Natarajaseenivasan K. Antimicrobial potential of sponge associated marine actinomycetes. Journal de Mycologie. 2008; 18 (1):16-22. doi: 10.1016/j.mycmed.2007.11.001.
6. Ghanem N, Sabry S, El-Sherif, El-Ela G. Isolation and enumeration of marine actinomycetes from seawater and sediments in Alexandria. The Journal of general and applied microbiology. 2000; 46: 105-111.



7. Kassambara A. Practical guide to cluster analysis in R: Unsupervised machine learning. STHDA. 2017: 187 p.
8. Li Q, Chen X, Jiang Y, Jiang C. Cultural, physiological, and biochemical identification of actinobacteria. *Actinobacteria Basics and Biotechnological Applications*. 2016: 87–111.
9. MIS Operation Manual. www.midi-inc.com. September. 2012. Newark.
10. Ramesh S, Detmer S. Marine Rare Actinomycetes: A Promising Source of Structurally Diverse and Unique Novel Natural Products. *Mar. Drugs*. 2019; 17: 249. doi:10.3390/md17050249.
11. Ramesh S, Mathivanan N. Screening of marine actinomycetes isolated from the Bay of Bengal, India for antimicrobial activity and industrial enzymes. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2009; 25: 2103–2111. doi:10.1007/s11274-009-0113-4.
12. Sasser M. Bacterial identification by gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters (GC-FAME). Technical Note 101. Newark, DE: MIDI. 2006.
13. Shirling EB, Gottlieb D. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 1966; 16: 313–40.
14. Subramani R, Aalbersberg W. Culturable rare actinomycetes: Diversity, isolation and marine natural product discovery. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2013; 97: 9291–9321.
15. Vicente J, Stewart A, Song B, Hill RT, Wright JL. Biodiversity of actinomycetes associated with caribbean sponges and their potential for natural product discovery. *Mar. Biotechnol.* 2013; 15: 413–424.
16. Yan C, Xue Q, Zhan-quan C, Rong Z. Classification and salt-tolerance of actinomycetes in the Qinghai lake water and lakeside saline soil. *Journal of Sustainable Development*. 2009; 2 (1): 107–110. doi:10.5539/JSD.V2N1P107.
17. Yanti AH, Setyawati TR, Kurniatuhadi R. Composition and Characterization of actinomycetes isolated from Nipah mangrove sediment, gastrointestinal and fecal pellets of Nipah worm (*Namalycastis Rhodhocorde*): International Conference of Mangroves and Its Related Ecosystems: OP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 2019; 550: 1–11. doi:10.1088/1755-1315/550/1/012003.

Стаття надійшла до редакції 03.12.2021 р.



ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ ДЛЯ АВТОРІВ

Науковий журнал «Мікробіологія і біотехнологія» запрошує Вас до співпраці з питань висвітлення результатів наукових досліджень у галузі мікробіології і біотехнології.

Програмні цілі видання: висвітлення результатів наукових досліджень у галузі мікробіології та біотехнології, об'єктами яких є прокаріотні (бактерії, архебактерії), еукаріотні (мікроскопічні гриби, мікроскопічні водорості, найпростіші) мікроорганізми та віруси.

Тематична спрямованість: мікробіологія, вірусологія, імунологія, молекулярна біотехнологія, створення та селекція нових штамів мікроорганізмів, мікробні препарати, антимікробні засоби, біосенсиори, діагностикуми, мікробні технології в сільському господарстві, мікробні технології у харчовій промисловості; захист та оздоровлення навколишнього середовища; отримання енергоносіїв та нових матеріалів тощо.

Мова (мови) видання: українська, російська, англійська.

Рубрики журналу: «Оглядові та теоретичні статті», «Експериментальні праці», «Дискусії», «Короткі повідомлення», «Хроніка наукового життя», «Сторінки історії», «Ювілеї і дати», «Рецензії», «Книжкова полиця».

До статті додається рекомендація установ, організацій, у яких виконувалася робота, за підписом керівника та письмова згода керівників установ, організацій, де працюють автори.

Вимоги до оформлення статей, які подаються до редакції журналу:

Стаття має відповідати тематичному спрямуванню журналу і, відповідно до п. 3 Постанови ВАК України від 15.01.2003 р. №7-5/1, включати такі структурні елементи: постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями; аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано вирішення даної проблеми і на які опирається автор; виокремлення раніше не вирішених частин загальної проблеми, котрим присвячується стаття; формулювання мети статті (постановка завдання); виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням наукових результатів; висновки з даного дослідження і перспективи подальших пошуків у даному напрямі.

До друку приймаються рукописи (2 примірники) обсягом до 18 сторінок (з урахуванням рисунків, таблиць і підписів до них, анотації, реферату, списку літератури), огляди – до 30 стор., рецензії – до 3 стор., короткі повідомлення – до 2 стор. Відхилені рукописи не повертаються.

До рукопису додається електронний варіант рукопису шрифт Times New Roman, кегль 14, інтервал автоматичний, не більше 30 рядків на сторінці, поля по 2 см).

При написанні статті необхідно дотримуватися такого плану:

- індекс УДК у лівому верхньому кутку першого аркуша;
- Реферат мовою оригіналу статті:
 - назва статті великими літерами;
 - прізвища та ініціали автора (авторів);
 - місце роботи кожного автора; повна поштова адреса установи (за міжнародними стандартами); телефон, електронна адреса (e-mail);



- прізвища авторів та назви установ, де вони працюють, позначають одним і тим самим цифровим індексом (вгорі);
 - реферат із зазначенням новизни дослідження (200–250 слів);
 - ключові слова (не більше п'яти).
- Реферат англійською мовою:
 - назва статті великими літерами;
 - прізвища та ініціали автора (авторів), транслітерація;
 - місце роботи кожного автора; повна поштова адреса установи (за міжнародними стандартами); телефон, електронна адреса (e-mail);
 - прізвища авторів та назви установ, де вони працюють, позначають одним і тим самим цифровим індексом (вгорі);
 - реферат із зазначенням новизни дослідження (200–250 слів);
 - ключові слова (не більше п'яти);
 - Повний текст статті мовою оригіналу.

Текст статті має включати такі складові:

вступ; матеріали і методи; результати та їх обговорення; висновки; список використаної літератури мовою оригіналу цитованої статті, список використаної літератури (Referens) англійською мовою (за вимоги міжнародних наукометричних баз).

До кожного примірника статті додається реферат мовою оригіналу статті (українською/російською) та англійською мовою.

Враховуючи, що реферат відображає основний зміст статті і використовується в інформаційних, в тому числі автоматизованих системах для пошуку документів та інформації, необхідно дотримуватися певних вимог при його написанні:

- реферат має бути інформативним (не містити зайвих слів);
- структурованим, тобто містити розділи: мета; методи, що використані в роботі та/або методологія проведення досліджень; результати та сфера їх застосування; висновки;
- англійська версія реферату має бути написана якісною англійською мовою (за потреби доцільно користуватися послугами кваліфікованих спеціалістів-лінгвістів з подальшим науковим редагуванням тексту автором), з використанням термінології, яка використовується в англійськомовних медикобіологічних журналах, уникати використання термінів, які є прямою українською/російською калькою;
- компактним (200–250 слів);
- ключові слова (не більше 5-ти) розміщуються з абзацу після реферату.

У кінці тексту статті указати прізвища, імена та по-батькові усіх авторів, поштову адресу, телефон, факс, e-mail (для кореспонденції).

Стаття має бути підписана автором (усіма авторами) з зазначенням дати на останній сторінці.

Автори несуть повну відповідальність за бездоганне мовне оформлення тексту, особливо за правильну наукову термінологію (її слід звіряти з фаховими термінологічними словниками).

Латинські біологічні назви видів, родів подаються курсивом латиницею.



Якщо часто повторювані у тексті словосполучення автор вважає за потрібне скоротити, то абревіатури за першого вживання обумовлюють у дужках. Наприклад: полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

Посилання на літературу подаються у тексті статті, цифрами у квадратних дужках, згідно з порядковим номером у списку літератури.

Розділ «Матеріали і методи»:

- Методи дослідження та схеми експерименту мають бути представлені так, щоб їх можна було відтворити.
- Для використаних реактивів та матеріалів вказати назву компанії та країни-виробника.
- Одиниці вимірювання вказати в системі СІ.
- Концентрацію розчинів представляти в М, мМ, мкМ (молярна концентрація).
- Молекулярку масу (Мм) – Да (дальтони) або кДа.
- При використанні ферментів навести їх номенклатурну систематичну назву та шифр.
- Активність ферментів виражають в мкмольх використаного субстрату або утвореного продукту за 1 хв на 1 мг протеїну або використати стандартну одиницю активності U (IU) і катал (скорочено кат), питома активність ензиму виражається в ммольх/хв на 1 мг протеїну або в од.акт/мг, кат/кг.
- Вказати умови проведення ферментативної реакції (температура, рН, концентрація субстрату).
- Вказати використані методи статистичного аналізу, програму статистики.

Таблиці мають бути компактними, мати порядковий номер; графи, колонки мають бути точно визначеними логічно і графічно. Матеріал таблиць (як і рисунків) має бути зрозумілим і не дублювати текст статті. Цифровий матеріал таблиць слід опрацювати статистично.

Рисунки виконуються у вигляді чітких креслень (за допомогою комп'ютерного графічного редактора у форматі Word, TIF, JPG). Осі координат на графіках мають бути позначені. Рисунки розміщуються у тексті статті.

До рисунків мають бути підписи не згруповані з ним і не вставлені в об'єкт рисунка.

Позначення на рисунку мають бути інтегровані в нього, тобто копіюватися разом з рисунком, а не окремими частинами.

Всі ілюстрації мають бути розміщені в файлі рукопису, також обов'язково додані до електронного варіанту у вигляді файлів формату JPEG.

Підписи, а також пояснення, примітки до таблиць та рисунків подаються мовою оригіналу та англійською мовою.

Розділ «Результати досліджень та їх обговорення» має бути написаний коротко: необхідно чітко викласти виявлені ефекти, показати причинно-результативні зв'язки між ними, порівняти отриману інформацію з даними літератури, дати відповідь на питання, поставлені у вступі.



Список використаної літератури

1. Список використаної літератури в оригіналі цитованої статті складається за алфавітно-хронологічним порядком (спочатку кирилиця, потім латиниця). Якщо перший автор у декількох працях один і той самий, то праці розміщуються у хронологічному порядку. Список посилань треба пронумерувати, а у тексті посилатися на відповідний номер джерела літератури (у квадратних дужках).

У посиланні пишуть прізвища усіх авторів. В експериментальних працях має бути не більше 15 посилань літературних джерел.

Патентні документи розміщуються у кінці списку посилань.

2. Список використаної літератури англійською мовою (Referens), за вимогами міжнародних наукометричних баз.

Стиль шрифту – NLM (National Library of Medicine).

Прізвища, імена та по-батькові авторів, назву цитованого видання (журнал, монографія, збірник тощо) наводять послуговуючись безкоштовними сайтами (<http://www.easybib.com/>, <http://www.bibme.org/>, <http://www.sourceaid.com/>, <https://www.citethisforme.com/>), що дозволяють здійснити переклад з використанням однієї з міжнародних систем транслітерації.

Назви статей наводять англійською мовою.

Порядок подання посилань Referens (список 2) має повністю співпадати зі списком використаної літератури (список 1).

Зразки посилання літератури

Вимоги до оформлення бібліографічних посилань мовою оригіналу (в тому числі цитовані англійські джерела)

На книги

Векірчик К. М. Мікробіологія з основами вірусології. – К.: Либідь, 2001. – 312 с.

Патика В. П., Тихонович І. А. Мікроорганізми і альтернативне землеробство. – К.: Урожай, 1993. – 176 с.

Промышленная микробиология / Под ред. Н. С. Егорова. – М.: Высш. шк., 1989. – 688 с.

Методы общей бактериологии: В 3 т. / Под ред. Ф. Герхардта. – М.: Мир, 1983. – Т. 1. – 536 с.; Т. 2. – 470 с.; – Т. 3. – 263 с.

Шлегель Г. Общая микробиология. – М.: Мир, 1987. – 566 с.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. – 9th ed. – Baltimore; London, 1986. – Vol. 2. – 1599 p.

Rogers H., Perkins H., Ward I. Microbial cell walls and membranes. – London; New York: Fcfd. Press, 1980. – 364 p.

На журнальні статті

Подгорский В. С. Систематическое положение, экологические аспекты и физиолого-биохимические особенности микроорганизмов, имеющих промышленное значение // *Мікробіол. журн.* – 1998. – 60, № 5. – С. 27–42.

Андреюк Е. И., Козлова И. А., Рожанская А. М. Микробиологическая коррозия строительных материалов // *Биоповреждения в строительстве*. – М.: Стройиздат, 1984. – С. 209–221.



Глоба Л. І., Подорван Н. І. Біотехнологія очищення забрудненої природної води // Вісник ОНУ. – 2001. – т. 6, в. 4. – С. 65 – 67.

Eaton R. W., Ribbons D. V. Utilization of phtalate esters by micrococci // Arch. Microbiol. – 1982. – 132, № 2. – P. 185–188.

На тези доповідей

Мацелюх Б. П. Розробка біотехнології одержання ландоміцину E // Міжнародна наук. конф. «Мікробні біотехнології» (Одеса, вересень, 2006 р.): тез. доп. – О.: «Астропринт», 2006. – С. 17.

На депоновані наукові роботи

1. Лопатина Н. В., Терентьев А. Н., Наталич Л. А., Янгулов Ш. У. Оптимизация питательной среды для культивирования вакцинного штамма чумного микроба с применением метода математического планирования эксперимента / Редкол. «Микробиол. журн.» – К., 1991. – 7 с. – Деп. в ВИНТИ 03.01.92, № 1-B92.

На стандарти

ГОСТ 20264.4-89. Препараты ферментные. Методы определения амилалитической активности. – М.: Изд-во стандартов, 1989. – 17 с.

На автореферати дисертацій

Онищенко О. М. Таксономія і антибіотична активність *Alteromonas*-подібних бактерій Чорного моря: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. К., 2003. – 21 с.

Зразки посилань літератури в романській абетці

References

Стиль шрифту для англomовного варіанту списку джерел – NLM (National Library of Medicine), зразок:

Author AA, Author BB, Author CC. Title of article. Title of Journal. 2005; 10 (2):49–53.

Статті в журналах:

DeLong EF, Karl DM. Genomic perspectives in microbial oceanography. Nature. 2015;(437):336–342.

Klochkov VK, Kavok NS, Malyukin YuV. The effect of specific interaction of nanocrystals GdYVO₄:Eu³⁺ with cell nuclei. Dop Nats Akad Nauk Ukr. 2010;(10):81–86.

Книги:

Best RJ. Tomato spotted wilt virus. In: Advances Virus Res Eds Smith KM, Lauffer MA. Academic Press, New York, 1968:65–146.

Speissel B, Beahrs OH, Hermanek P, Hutter RVP, Scheibe O. TNM atlas: illustrated guide to the TNM. pTNM classification of malignant tumours. Berlin New York: Springer-Verlag. 1989. 12.

Sastry SK. Seed-borne plant virus diseases. India: Springer, 2013. 327 p.

Матеріали з'їздів, конференцій:

Dikova B, Djourmanski A, Lambev H. Establishment of economically important viruses on *Echinacea purpurea* and their influence on the yield. In: Proceedings of the conference «Innovative aspects to coneflower study». Ed. Pospelov S. Poltava: Dyvosvit, 2013:36–45.



Увага: передрук, усі види копіювання та відтворення матеріалів,
що надруковані у журналі «Мікробіологія і біотехнологія»,
можливі лише за умови посилання на джерело інформації
та з дозволу редакційної колегії.
Усі права захищені згідно законодавства України.

Верстка С. О. Остапенко

Підписано до друку 15.12.2021 р. Формат 70x100/16.
Ум.-друк. арк. 8,45. Тираж 50 пр.
Зам. № 2398.

Видавець та виготовлювач
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011.
65082, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12, Україна
Тел.: +38 (048) 723 28 39
e-mail: druk@onu.edu.ua