

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии

ОХРЕМЧУК
Артур Эдуардович

ХАРАКТЕРИСТИКА УГЛЕВОДОРОДУТИЛИЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ
RHODOCOCCLUS PYRIDINIVORANS

Аннотация дипломная работы

Научный руководитель:
к.б.н. М. И. Чернявская

Минск, 2017

АННОТАЦИЯ

Объектами исследования служили бактерии *R. pyridinivorans* 5Ap и полученные на его основе инсерционные мутанты, трансконъюганты и бесплазмидный вариант; а также нуклеотидные последовательности генома *R. pyridinivorans* 5Ap.

В результате проведенного исследования было установлено, что эффективность деградации нефти (начальная концентрация 50 000 мг/кг) бактериями *R. pyridinivorans* 5Ap в модельной почвенной системе (песчаная почва, влажность 10 %, температура 28 °C) составила $56,62 \pm 2$ % за 14 сут. при использовании их в качестве единственного деструктора и снижалась до $22,5 \pm 2$ % за 14 сут в присутствии аборигенной микробиоты.

В геноме бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap выявлено большое количество ОРС, кодирующих ферменты, которые могут участвовать в окислении углеводородов алифатического и ароматического ряда. При этом наблюдается наличие дубликаций этих генов, например, выявлены два гена алканмонооксигеназ, три гена катехол-1,2-диоксигеназы, два гена катехол-2,3-диоксигеназы (один из которых локализован на хромосоме, а другой – на плазмиде), два гена муконатциклоизомеразы. Показано, что гены биodeградации нафталина ассоциированы с генами, определяющими конъюгативность плазмиды, выявленными на контиге NODE_25. Вторая конъюгативная плаزمида (*tra*-гены выявлены контиге NODE_35) поддерживается в клетках более стабильно и не утрачивается при длительном культивировании в неселективных условиях. Конъюгационный перенос плазмиды деградации нафталина наблюдался только в изогенной системе с частотой $1-6 \times 10^{-4}$. В случае использования в качестве реципиентов бактерий *R. opacus*, *R. erythropolis*, *Gordonia* sp. в выбранных условиях перенос плазмиды не фиксировался. Было установлено, что ген *alkB* определяет способность бактерий утилизировать такие алифатические углеводороды, как гексан, гексадекан и смеси алканов C₁₂-C₁₈ (дизельное топливо и керосин). Плазмида биodeградации нафталина и ген *narAa*, в частности, определяет способность утилизировать полициклические ароматические соединения, например, нафталин, антрацен, бифенил, фенантрен.

МИНИСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАУНЫ УНИВЕРСИТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікрабіялогіі

АХРЭМЧУК
Артур Эдуардавіч

ХАРАКТАРЫСТЫКА ВУГЛЕВАДАРОДУТЫЛІЗУЮЧІХ БАКТЭРЫЙ
RHODOCOCCLUS PYRIDINIVORANS

Анатацыя да дыпломнай работы

Навуковы кіраўнік:
к.б.н. М. І. Чарняўская

Мінск, 2017

АНАТАЦЫЯ

У выніку праведзенага даследавання было ўсталявана, што эфектыўнасць дэградацыі нафты (зыходная канцэнтрацыя 50 000 мг/кг) бактэрыямі *R. pyridinivorans* 5Ap у мадэльнай глебавай сістэме (пясчаная глеба, вільготнасць 10 %, тэмпература 28 °C) складала $56,62 \pm 2$ % за 14 сут пры выкарыстанні ў якасці адзінага дэструктара і зніжалася да $22,5 \pm 2$ % за 14 сут у прысутнасці абарыгеннай мікрабіёты.

У складзе генома *R. pyridinivorans* 5Ap выяўлена вялікая колькасць адкрытых рамак счытвання, што кадуюць ферменты, якія могуць удзельнічаць у акісленні вуглевадародаў аліфатычнай і араматычнай прыроды. Пры гэтым назіраецца наяўнасць дуплікацый гэтых генаў, напрыклад, выяўлены два гена алканмонааксігеназ, тры гена катэхол-1,2-дзіоксігеназы, два гена катэхол-2,3-дзіоксігеназы (адзін з якіх лакалізаваны на храмасоме, а іншы – на плазмідзе), два гена муканатцыклаізамеразы. Гены біядэградацыі нафталіна асацыяваны з генамі, што вызначаюць кан'югатыўнасць плазміды, якія выяўлены на кантыгу NODE_25. Другая кан'югатыўная плазмід (tra-гены выяўлены на кантыгу NODE_35) падтрымліваецца ў клетках больш стабільна і не губляецца пры працяглым культываванні ў неселектыўных умовах. Кан'югацыйны перанос плазміды дэградацыі нафталіну назіраўся толькі ў ізагеннай сістэме з частатой $1-6 \times 10^{-4}$. У выпадку выкарыстання ў якасці рэцыпіентаў бактэрыі *R. opacus*, *R. erythropolis*, *Gordonia sp.* у абраных умовах перанос плазміды не фіксаваўся. Было ўсталявана, што ген *alkB* вызначае здольнасць бактэрыі ўтылізаваць такія аліфатычныя вуглевадароды, як гексан, гексадекан і сумесі алканаў C₁₂-C₁₈ (дызельнае паліва і газа). Плазмід біядэградацыі нафталіну і ген *narAa*, у прыватнасці, вызначае здольнасць ўтылізаваць поліцыклічныя араматычныя злучэнні, напрыклад, нафталін, антрацэн, біфеніл, фенантрэн.

MINISTRY OF EDUCATION OF THE REPUBLIC OF BELARUS
BELARUSIAN STATE UNIVERSITY
THE FACULTY OF BIOLOGY
Department of Microbiology

AKHREMCHUK
Artur Eduardovich

**CHARACTERISATION OF HYDROCARBONS-DEGRADING
BACTERIA *RHODOCOCCUS PYRIDINIVORANS***

Annotation to the diploma work

Supervisor:
Ph. D. M.I. Charniauskaya

Minsk, 2017

ANNOTATION

The oil degradation experiment in artificial soil system was conducted (sandy soil, humidity 10 %, temperature of 28 °C). In the result of work it was founded that efficiency of degradation was $56,62 \pm 2$ % per 14 days in case of using *R pyridinivorans* 5Ap as a sole destructor and decreased to $22,5 \pm 2$ % per 14 days as a result of interaction with resident soil microbiota.

Numerous ORFs that encode degradation of paraffinic and aromatic compounds enzymes were identified. In this case the alkane monooxygenase, muconate cycloisomerase genes were presented in two copies, catechol-1,2 dioxygenase genes – in three copies in chromosome, while catechol-2,3 dioxygenase genes were identified both in chromosome, and in plasmid. It was shown naphthalene degradation genes associated with transmission genes (NODE_25 contig). Another conjugative plasmid (*tra* genes locates on NODE_35 contig) was more stable and wasn't exclude in non-selective circumstances. Conjugative transfer in isogenic system was detected with frequency $1-6 \times 10^{-4}$ and wasn't detected in *R. opacus*, *R. erythropolis*, *Gordonia* sp. It was founded that *alkB* determine ability to utilize aliphatic hydrocarbons (hexane, hexadecane, C₁₂-C₁₈ alkanes (*i.e.* diesel fuel & kerosene). Naphthalene degradation plasmid and *narAa* determined degradation of aromatic compounds (naphthalene, anthracene, biphenyl, phenantrene).