

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии**

ОХРЕМЧУК Артур Эдуардович

**ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИРОДНЫХ
НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ**

Аннотация к магистерской диссертации

Научный руководитель:
Чернявская Мария Ивановна
кандидат биологических наук

Минск, 2018

АННОТАЦИЯ

Целью работы являлось выявление бактерий, пригодных для биоремедиации загрязненных углеводородами нефти сред с неблагоприятными условиями (повышенная температура, соленость, щелочные значения pH), а также характеристика генома эффективных деструкторов нефти *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap. Объектами исследования служили бактерии *R. pyridinivorans* 5Ap, *Gordonia* sp. 1D, *Bacillus flexus* 6-3, *Bacillus licheniformis* FD9, *Pseudomonas mendocina* VKMB1299, нуклеотидные последовательности генома бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap.

Все исследованные бактериальные штаммы (*R. pyridinivorans* 5Ap, *Gordonia* sp. 1D, *P. mendocina* VKMB1299, *B. licheniformis* FD9, *B. flexus* 6-3) эффективно деградировали нефть в жидкой среде в условиях повышенной температуры, повышенной солености и щелочных значений pH, а также дизельное топливо в песчаной почве при повышенной температуре. Консорциум, включающий штаммы *R. pyridinivorans* 5Ap и *Gordonia* sp. 1D наиболее эффективно деградировал нефть в щелочных условиях (убыль за 21 сут составила $50,72 \pm 8,2$ %), а также дизельное топливо в песчаной почве с низкой влажностью (убыль за 28 сут составила $59,91 \pm 9,1$ %). В условиях повышенной солености в жидкой среде наибольшую эффективность проявлял консорциум, состоящий из бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap и *B. licheniformis* FD9 (убыль нефти за 21 сут составила $51,91 \pm 5,8$ %).

В плазмидных последовательностях генома *R. pyridinivorans* 5Ap было выявлено 37 генов транспозаз и ассоциированные с ними последовательности. К наиболее распространенным семействам относятся IS110, IS1380 и ISL3. В составе фрагментов плазмидной природы (NODE_22, NODE_17 и NODE_28) были выявлены три транспозона, которые детерминируют устойчивость бактерий к неблагоприятным факторам внешней среды.

Плазмидные гены *R. pyridinivorans* 5Ap определяют их устойчивость к ионам тяжелых металлов (цинка, меди, кадмия и ртути). Выявлено 7 генов, кодирующих АТФ-зависимые транспортеры этих ионов. Отличия выявлены как в АТФ-связывающем, так и в ион-связывающем мотивах кодируемых белков, данные транспортеры могут отличаться как по специфичности к связываемым ионам, так и по условиям, в которых происходит их активация.

**МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікрабіялогіі**

Ахрэмчук Артур Эдуардавіч

**ХАРАКТАРЫСТЫКА ПРЫРОДНЫХ
НАФТААКІСЛЯЮЧЫХ БАКТЭРЫЙ**

Анатацыя да магістарскай дысертацыі

Навуковы кіраўнік:
Чарняўская Марыя Іванаўна
кандыдат біялагічных навук

Мінск, 2018

АНАТАЦЫЯ

Мэтай работы з'яўлялася выяўленне бактэрый, прыдатных для біярэмедыяцыі забруджаных вуглевадародамі нафты асяроддзяў з неспрыяльнымі ўмовамі (павышаная тэмпература, салёнасць, шчолачныя значэння pH), а таксама характарыстыка геному эфектыўных дэструктараў нафты *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap. Аб'екты даследавання: бактэрыі *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap, *Gordonia* sp. 1D, *Bacillus flexus* 6-3, *Bacillus licheniformis* FD9, *Pseudomonas mendocina* BKMB1299, нуклеатыдныя паслядоўнасці геному бактэрыі *R. pyridinivorans* 5Ap.

Усе даследаваныя бактэрыяльныя штамы (*R. pyridinivorans* 5Ap, *Gordonia* sp. 1D, *P. mendocina* BKMB1299, *B. licheniformis* FD9, *B. flexus* 6-3) эфектыўна дэградавалі нафту ў вадкім асяроддзі ва ўмовах павышанай тэмпературы, павышанай салёнасці і шчолачных значэнняў pH, а таксама дызельнае паліва ў пясчанай глебе пры павышанай тэмпературы. Кансорцыум, які ўключае штамы *R. pyridinivorans* 5Ap і *Gordonia* sp. 1D найбольш эфектыўна дэградаваў нафту ў шчолачных умовах (эфектыўнаць дэградацыі склала $50,72 \pm 8,2$ % за 21 сут), а таксама дызельнае паліва ў пясчанай глебе з нізкай вільготнасцю ($59,91 \pm 9,1$ % за 28 сут). Ва ўмовах павышанай салёнасці ў вадкім асяроддзі найбольшую эфектыўнасць праявіў кансорцыум, які складаецца з бактэрыі *R. pyridinivorans* 5Ap і *B. licheniformis* FD9 ($51,91 \pm 5,8$ % за 21 сут).

У плазмідных паслядоўнасцях геному *R. pyridinivorans* 5Ap было выяўлена 37 генаў транспазаз і асацыяваныя з імі паслядоўнасці. Да найбольш распаўсюджаных сямействаў адносяцца IS110, IS1380 і ISL3. У складзе фрагментаў плазміднай прыроды (NODE_22, NODE_17 і NODE_28) выяўлены тры транспазона, якія дэтэрмінуюць ўстойлівасць бактэрыі да неспрыяльных фактараў знешняга асяроддзя.

Плазмідныя гены *R. pyridinivorans* 5Ap вызначаюць іх устойлівасць да іёнаў цяжкіх металаў (цынку, медзі, кадмію і ртуці). Былі выяўлены 7 генаў, якія забяспечваюць сінтэз АТФ-залежных транспарцёраў гэтых іёнаў. Адрозненні выяўлены як у АТФ-звязваючым, так і ў іён-звязваючым матывах гэтых бялкоў. Дадзеныя транспарцёры могуць адрознівацца як па спецыфічнасці, так і па ўмовах, у якіх адбываецца іх актывацыя.

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

AKHREMCHUK Artur Eduardovich

**CHARACTERIZATION OF NATIVE
OIL-OXIDIZING BACTERIA**

Annotation to the master work

Supervisor:
Charniauskaya M. I.
Ph. D.

Minsk, 2018

ABSTRACT

The main aim of this study was to obtain the bacteria that can be used for a bioremediation of oil-polluted environment. Isolated bacteria utilize hydrocarbons in unfavorable environmental conditions, such as elevated temperature, high salinity and alkaline pH. The second aim of this master thesis was the characterization of the genome of *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap. Objects of study were bacterial strains *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap, *Gordonia* sp. 1D, *Bacillus flexus* 6-3, *Bacillus licheniformis* FD9, *Pseudomonas mendocina* BKMB1299 and nucleotide sequences of the genome of *R. pyridinivorans* 5Ap.

All observed bacterial strains degraded oil in a liquid media under elevated temperature, increased salinity and alkaline pH with high efficiency. Also obtained bacteria utilized diesel at elevated temperature in sand soil. Consortia that comprised *R. pyridinivorans* 5Ap and *Gordonia* sp. 1D strains showed maximum oil-degrading activity at alkaline conditions ($50,72 \pm 8,2$ % per 21 days). The consortia mentioned above also was able to effectively utilize diesel in low-humidity sand soil ($59,91 \pm 9,1$ % per 28 days). The consortium consisted of the *R. pyridinivorans* 5Ap and *B. licheniformis* FD9 showed the greatest efficiency of oil degradation at high salinity conditions ($51.91 \pm 5.8\%$ per 21 days).

There are 37 transposase genes and associated sequences in the plasmid contigs of *R. pyridinivorans* 5Ap. The most common families of transposases were IS110, IS1380, ISL3. It was found 3 transposons which located in the plasmid sequences (NOFR_22, NODE_17, NODE_28) and determined resistance to environmental factors.

Plasmid genes also determined heavy metal resistance (zink, copper, cadmium, mercury). Seven genes encoding ATP-dependent transporters of these ions were identified. The differences are revealed both in the ATP-binding and in the ion-binding motifs. These transporters may differ both in their specificity to the ions and in the conditions of activation.