

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ФАКУЛЬТЕТ БИОЛОГИЧЕСКИЙ
Кафедра микробиологии

НАРКЕВИЧ Дарья Алексеевна

**СКРИНИНГ И ХАРАКТЕРИСТИКА АКТИВНЫХ ШТАММОВ
МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ УТИЛИЗАЦИИ ЭТИЛ- И
БУТИЛЦЕЛЛОЗОВ**

Аннотация к магистерской диссертации
специальность 1-31 80 12 Микробиология

Научный руководитель
Глушень Елена Михайловна
кандидат биологических наук

Минск, 2021

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Магистерская диссертация 47 с., 10 рис., 13 табл., 24 источника литературы.

ГЛИКОЛЕВЫЕ ЭФИРЫ, ЭТИЛЦЕЛЛОЗОЛЬВ, БУТИЛЦЕЛЛОЗОЛЬВ, РАСТВОРИТЕЛИ, *RHODOCOCCUS*, БИОДЕГРАДАЦИЯ, МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ.

Объекты исследования: музейные культуры микроорганизмов-деструкторов коллекционного фонда лаборатории природоохранных биотехнологий Института микробиологии НАН Беларуси.

Цель: выделение, скрининг и характеристика наиболее активных штаммов микроорганизмов-деструкторов этил- и бутилцеллозолява.

Методы исследования: микробиологические и молекулярно-генетические методы (выделение ДНК, полимеразная цепная реакция, рестрикционный анализ).

Скрининг микроорганизмов, способных к утилизации гликолевых эфиров, проводили среди выделенных и музейных штаммов коллекционного фонда лаборатории природоохранных биотехнологий Института микробиологии НАН Беларуси. Выделение микроорганизмов, утилизирующих этил- и бутилцеллозоляв, позволило выделить в чистую культуру 15 штаммов. В результате скрининга из 120 музейных штаммов отобрано 32 бактериальные культуры, способные использовать ксенобиотики в качестве единственного источника углерода. Среди отобранных штаммов доминировали представители рода *Rhodococcus*. Наиболее активным штаммом деструктором гликолевых эфиров является *Rhodococcus opacus* 31Д. Показано, что методом адаптивной селекции можно увеличить деструктивный потенциал отобранных штаммов.

Исследована кинетика роста коллекционного штамма *Rhodococcus opacus* 31Д на среде с бутилцеллозолявом. Полученные результаты свидетельствуют о перспективе использования отобранных штаммов-деструкторов гликолевых эфиров для создания высокоэффективных препаратов для очистки промышленных сточных вод.

Разработаны праймеры для амплификации фрагмента группоспецифичного гена белка теплового шока (*groEL3*) с целью его дальнейшего рестрикционного анализа в качестве вспомогательного метода при дифференциации видов рода *Rhodococcus* внутри группы С (V). В результате рестрикционного анализа штамм *R. opacus* 31Д переидентифицирован как *R. koreensis*.

АГУЛЬНАЯ ХАРАКТАРЫСТЫКА РАБОТЫ

Магістарская дысертацыя 47 с., 10 мал., 13 табл., 24 крыніцы літаратуры.
ГЛІКОЛЕВЫЯ ЭФІРЫ, ЭЦІЛЦЭЛЛАЗОЛЬВ, БУЦІЛЦЭЛЛАЗОЛЬВ,
РАСТВОРАЛЬНІКІ, RHODOCOCUS, БІЯДЭГРАДАЦЫЯ,
МАЛЕКУЛЯРНЫЯ МАРКЕРЫ ІДЭНТЫФІКАЦЫІ.

Аб'екты даследавання: музейныя культуры мікраарганізмаў-дэструктараў калекцыйнага фонду лабараторыі прыродаахоўных біятэхналогій Інстытута мікрабіялогіі НАН Беларусі.

Мэта: выдзяленне, скрынінг і характарыстыка найбольш актыўных штамаў мікраарганізмаў-дэструктараў эціл- і буцілцэллазольва.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя і малекулярна-генетычныя метады (вылучэнне ДНК, палімеразная ланцуговая рэакцыя, рэстрыкцыйны аналіз).

Скрынінг мікраарганізмаў, здольных да ўтылізацыі гліколевых эфіраў, праводзілі сярод выдзеленых і музейных штамаў калекцыйнага фонду лабараторыі прыродаахоўных біятэхналогій Інстытута мікрабіялогіі НАН Беларусі. Выдзяленне мікраарганізмаў, якія перапрацоўваюць эціл- і буцілцэллазольв, дазволіла палучыць ў чыстай культуры 15 штамаў. У выніку скрынінга з 120 музейных штамаў адабрана 32 бактэрыяльныя культуры, якія здольны выкарыстоўваць ксенабіётыкі ў якасці адзінай крыніцы вугляроду. Сярод адабраных мікраарганізмаў дамінавалі прадстаўнікі роду *Rhodococcus*. Найбольш актыўным штамам дэструктарам гліколевых эфіраў з'яўляецца *Rhodococcus opacus* 31Д. Паказана, што метадам адаптыўнай сялекцыі можна павялічыць дэструктыўны патэнцыял адабраных штамаў.

Даследавана кінетыка росту калекцыйнага штаму *Rhodococcus opacus* 31Д на асяроддзі з буцілцэллазольвам. Атрыманыя вынікі сведчаць пра перспектыву выкарыстання адабраных штамаў-дэструктараў гліколевых эфіраў для стварэння высокаэфектыўных прэпаратаў для ачысткі прамысловых сцёкавых вод.

Распрацаваны праймеры для ампліфікацыі фрагмента групаспецыфічнага гена бялку цеплавога шоку (*groEL3*) з мэтай яго далейшага рэстрыкцыйнага аналізу ў якасці дапаможнага метаду пры дыферэнцыяцыі відаў роду *Rhodococcus* ўнутры групы C (V). У выніку рэстрыкцыйнага аналізу штаму *R. opacus* 31Д перайдэнтыфікаваны як *R. koreensis*.

GENERAL DESCRIPTION OF THE THESIS

Master's thesis 47 p., 10 figures, 13 tables, 24 Literature source.

GLYCOL ETHERS, 2-ETHOXYETHANOL, 2-BUTOXYETHANOL, SOLVENTS, RHODOCOCCUS, BIODEGRADATION, MOLECULAR IDENTIFICATION MARKERS.

Objects of study: museum cultures of microbial decomposers from the collection of the Laboratory of Environmental Biotechnology, Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus.

Objective: isolation, screening and characterization of the most active strains of microbial decomposers of ethyl- and butylcellosolve.

Research methods: Microbiological and molecular genetic methods (DNA isolation, polymerase chain reaction, restriction analysis).

Screening of microorganisms capable of glycol ester utilization was carried out among isolated and museum strains from the collection of the Laboratory of Environmental Biotechnology of the Institute of Microbiology, NAS of Belarus. The isolation of microorganisms utilizing ethyl- and butylcellosolve allowed 15 strains to be isolated in pure culture. As a result of screening, 32 bacterial cultures, capable of utilizing xenobiotics as a single source of carbon, have been selected from 120 museum strains. Among the selected strains, representatives of the genus *Rhodococcus* dominated. The most active strain of glycol ester destructor was *Rhodococcus opacus* 31D. It was shown that the destructive potential of the selected strains could be increased by adaptive selection.

The growth kinetics of *Rhodococcus opacus* 31D collection strain on medium with butylcellosolve was studied. The results obtained indicate about perspective of using the selected strains of glycol ether degraders for the development of highly effective preparations for industrial wastewater treatment.

Primers were developed to amplify a fragment of the group-specific heat shock protein (*groEL3*) gene for its further restriction analysis as an auxiliary method for the differentiation of *Rhodococcus* species within group C (V). As a result of the restriction analysis, strain *R. opacus* 31D was reidentified as *R. koreensis*.