

Характеристика микроорганизмов с фенолдеградирующими свойствами

¹Кувичкина Т.Н., ²Носулич В.Е., ¹Капаруллина Е.Н., ¹Доронина Н.В.,
³Макаренко А.А., ¹Решетилов А.Н.

¹ФИЦ «Пушинский научный центр биологических исследований РАН»,
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
² Самарский национальный исследовательский университет им. С.П. Королева, г. Самара,
³ООО Эмульсионные технологии, г. Самара

Наиболее перспективным методом утилизации фенола из загрязненных почв является биоремедиация с помощью микроорганизмов, что обуславливает актуальность проблемы поиска новых фенолдеградирующих микроорганизмов. Из почвы промышленной зоны г. Самара выделены 2 штамма *Zima* и *Leto* - деструкторы фенола. Цель данной работы – характеристика новых грамположительных штаммов-деструкторов фенола и исследование их окисления на амперометрическом биосенсоре. Микроскопия штамма *Zima* показала, что он представляет собой палочковидные клетки диаметром от 2,5 до 4,0 мкм. Видовую принадлежность штаммов определяли по результатам исследования основных морфологических признаков, а также изучения их филогенетического положения согласно особенности строения последовательности гена 16S рНК. По данным, помещенным в базу данных GenBank, было построено филогенетическое дерево для штамма *Zima*. Филогенетически штамм *Zima* имеет наибольшее сходство с представителями рода *Pseudomonas*: 99,9% с *P. monteilii*. Изолят *Leto* представлен грамположительными неподвижными короткими овоидными палочками. Оптимально растет при 28-37 °С и pH 7.5 с 0.25 г/л (2,7 мМ) фенола в качестве единственного источника углерода и энергии, а также на широком спектре полиуглеродных субстратов (углеводы, спирты и органические кислоты). Секвенирование гена 16S рНК штамма *Leto* выявило высокое сходство (99,7%) с *Rhodococcus gordoniae* W4937T, что дало основание отнести изолят к этому виду.

Микроорганизм выращивали при глубинном культивировании в периодических условиях в колбах на качалке. Выращенную биомассу отделяли центрифугированием, ресуспендировали в буфере и помещали на носитель (иммобилизация методом физической адсорбции), подсушивали и сопрягали биорецептор с кислородным электродом типа Кларка. Регистрируемым параметром являлась максимальная скорость изменения выходного сигнала dI/dt (нА/с), связанная пропорциональной зависимостью со скоростью изменения концентрации потреблённого кислорода.

Для изучения влияния концентраций фенола на потребление кислорода иммобилизованными клетками концентрации субстрата варьировали от 10 до 500 мкМ. Исследуя субстратную специфичность, показано, что большой ответ наблюдался при введении в кювету пирокатехина (катехола), промежуточного соединения при окислении фенола. Долговременная стабильность наблюдалась в течение 9 суток. Продолжительность анализа была 10 мин.