

О. Г. Горшкова

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,
тел.: +38 068 278 02 05, e-mail: helen-good@ukr.net

АНТАГОНІСТИЧНА І ДЕСТРУКТИВНА АКТИВНІСТЬ МОРСЬКИХ БАКТЕРІЙ

Мета. Дослідити антагоністичну, нафто- і ПАР-деструктивну активність бактерій, ізольованих із прибережних зон Чорного моря. **Методи.** Для ізоляції бактерій – деструкторів з морської та порової води зони заплеску Одеської затоки, о. Зміїний використовували метод накопичувальних культур на рідкому синтетичному середовищі МКД з подальшим висівом на живильні середовища МПБ та М-9, що містили окремо нафту і додецилсульфат натрію у концентрації 1%. Дослідження антагоністичної активності, що оцінювали за величиною зон затримки росту тест-штамів, проводили за методом відстрочених посівів. **Результати.** Вивчено деструктивну і антагоністичну активність 58 штамів бактерій, ізольованих із прибережних зон Чорного моря. Деструктивну активність що до нафти і ПАР виявили 36 досліджуваних штамів. З найактивніших відібрано 3 штами-деструктори, які проявили найбільшу інгібуючу дію щодо тест-штамів умовно патогенних мікроорганізмів, у тому числі санітарно-показових. Найбільшу кількість штамов-антагоністів ізольовано з порової та морської води у районі скиду міських господарсько-фекальних вод на Дачі Ковалевського, що свідчить про хронічне хімічне та біологічне забруднення зони заплеску в цьому районі одеського узбережжя Чорного моря. **Висновок.** Поліфункціональні штами *M. barkeri* 5, *M. barkeri* 13, *P. fluorescens* 55, які виявили високий рівень антагоністичної активності щодо широкого спектра представників умовно-патогенної мікробіоти і мали високу здатність окислювати вуглеводні нафти і ПАР, можуть бути рекомендовані для подальшого використання в біотехнологіях ремедіації морських вод від біологічного і хімічного забруднення.

Ключові слова: морські бактерії-деструктори, нафта, поверхнево-активні речовини, антагоністична активність.

В останні роки погіршився екологічний та мікробіологічний стан морської води в прибережних районах Чорного моря України, що суттєво відображається на їх рекреаційній привабливості та умовах проживання місцевого населення. З прибережних населених пунктів, з річковим стоком в море разом з небезпечними мікроорганізмами надходить велика кількість біогенних елементів, що призводить до значної евтрофікації та погіршення рекреаційної якості берегової зони моря. Хімічні поллютанти, у тому числі йони важких металів, нафтопродукти, біорезистентні поверхнево-активні речовини (ПАР), негативно впливають на метаболічний та генетичний апарат гідробіонтів. Мі-



кробне забруднення моря також є небезпечним з епідеміологічних позицій: може безпосередньо впливати на здоров'я людей [3, 5].

Псамоко́нтур (кордон "море – піщаний берег", зона заплеску) грає важливу роль у процесах самоочищення моря. На піщані пляжі постійно впливає прибій, вода проникає в пори між піщинками – інтерстиціальні порожнини. При цьому в порові води надходить велика кількість поллютантів різної природи. Піски складаються з кварцевих зерен, алевритових і глинистих часточок, що відрізняються сорбційною здатністю щодо поллютантів [3]. У зоні заплеску морської води на берег в міжпіщинкових порожнинах (або інтерстиціях) живуть організми мікро- і мейобентосу – споживачі мінеральних і органічних поживних речовин, антагоністів патогенної мікробіоти [1]. Саме бактерії є потужним агентом трансформації і акумуляції практично всіх видів забруднюючих речовин. Тому важливим є активація природної морської мікробіоти, що відповідає за процеси самоочищення від хімічного та мікробного забруднення, створення нових біотехнологій ремедіації морських вод, які передбачають використання відібраних з природних біоценозів штамів бактерій-деструкторів, що володіють антагоністичними властивостями щодо патогенних, умовно-патогенних і санітарно-показових мікроорганізмів [7, 8].

Мета дослідження – дослідити антагоністичну, нафто- і ПАР- деструктивну активність бактерій, ізольованих із прибережних зон Чорного моря.

Матеріали та методи

Матеріалом для дослідження були проби морської та порової води, відібрані у рекреаційних зонах узбережжя Чорного моря з різним рівнем антропогенного забруднення: Одеське узбережжя – у районі випуску міських стічних вод у море на Дачі Ковалевського; в умовно чистому районі узбережжя – на Гідробіологічній станції ОНУ; острів Зміїний – на пляжі «Дівочий». Також досліджували проби прибережного нафтозабрудненого ґрунту зони заплеску острову Зміїний.

Морську воду відбирали за стандартною методикою з поверхневого горизонту 50 см на відстані 15 м від урізу води. Порову воду зони псамоко́нтуру (заплеску) відбирали на відстані 2 м від урізу води з горизонту 50 см, нафтозабруднений ґрунт – з поверхневого горизонту.

Для ізоляції бактерій-деструкторів використовували метод накопичувальних культур з подальшим висівом на м'ясо-пептонний агар (МПА) та мінеральне середовище М-9, що містили окремо нафту і додецилсульфат натрію (ДДСН) у концентрації 1%. Культивування проводили за температури 30 °С впродовж місяця.

В експериментах використовували сиру нафту (густина 0,84 г/см³) Тюменського родовища. Деструктивну активність гетеротрофних сапрофітних бактерій, що використовують як єдине джерело карбону і енергії нафту, оцінювали візуально за трансформацією, зменшенню у розмірах, руйнуванню і зникненню нафтової плями з поверхні рідкого живильного середовища.

Для виділення мікроорганізмів – деструкторів ПАР використовували голодний агар, в який вносили ДДСН у концентрації 1%. Наявність росту на чашках Петрі та зон просвітлення середовища свідчила не тільки про стійкість



штамів до ПАР, але й були показниками деструктивної активності – здатності використовувати ПАР як єдине джерело карбону. Ступінь деструктивної активності бактерій до нафти та ПАР оцінювали за розміром площі нафтової плями.

Дослідження антагоністичної активності проводили за допомогою методу відстрочених посівів [6]. Антагоністичну властивість морських бактерій вивчали щодо 9 тест-штамів умовно патогенних бактерій: *Escherichia coli* ATCC 259222/ОНУ 447, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538/ОНУ 443, *Salmonella enteritidis* ОНУ 466, *Pseudomonas aeruginosa* ОНУ 211, *Pseudomonas aeruginosa* ОНУ 446, *Bacillus subtilis* ATCC 6633/ ОНУ 66, *Bacillus cereus* ATCC 11778/ОНУ 77, *Micrococcus luteus* УКМВ 645 Т/ОНУ 645, *Proteus vulgaris* SSU8, що зберігаються у колекції мікроорганізмів кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології Одеського національного університету імені І. І. Мечникова. Рівень антагоністичної активності мікроорганізмів оцінювали за зонами затримки росту штамів патогенних мікроорганізмів, який виражали у міліметрах.

Дослідження проводили у трьох повторях. Для оцінки достовірності експериментальних даних використовували параметричні критерії нормального розподілу, обчислюючи середнє арифметичне ($X_{\text{сеп}}$), середню квадратичну похибку ($S_{X_{\text{сеп}}}$) за кількості повторів дослідів $n = 3$ та рівнях значимості 0,05. Результати оброблені за допомогою редактора MS Excel 2003.

Результати та їх обговорення

В результаті мікробіологічних досліджень морської, порової води зони заплеску узбережжя Чорного моря та прибережного нафтозабрудненого ґрунту острова Зміїний було ізольовано 58 штамів бактерій, з них 36 штамів виявили деструктивну активність до нафти і ПАР. За сукупністю морфологічних, культуральних, фізіолого-біохімічних ознак та жирнокислотним складом 5 штамів бактерій-деструкторів були ідентифіковані як *Microbacterium barkeri* 5, *Microbacterium barkeri* 13, *Pseudomonas sp.* 47, *Pseudomonas fluorescens* 55, *Bacillus megaterium* 64. Результати деструктивної активності ізольованих бактерій представлені на рис. 1.

Первинний скринінг дозволив відібрати 5 штамів, що володіли максимальними показниками активності росту на середовищі, що містило нафту (у концентрації 1%): 4, 62, *Microbacterium barkeri* 5, *Microbacterium barkeri* 13, *Pseudomonas fluorescens* 55. Вже через 10 діб експозиції за дії штаму *Pseudomonas fluorescens* 55 і штаму 62, виділених з морської води на Гідробіологічній станції та Дачі Ковалевського, вміст нафти відносно контролю зменшився на 35% і 25%, відповідно. Показниками деструктивної активності були ознаки інтенсивного приросту біомаси бактерій у рідкому середовищі, поява бактеріальних біоплівки під нижнім шаром нафти, утворення пластівців у товщі середовища, зміна кольору нафтової плями від темного до рудуватого та її руйнування. Через 30 діб за дії морських штамів *Pseudomonas fluorescens* 55 і 62 відбулося зменшення у розмірах, руйнування і зникнення, відповідно до 70% і 55% нафтової плями. Виділені з прибережного нафтозабрудненого ґрунту зони заплеску о. Зміїний штами 4, *Microbacterium barkeri* 5, *Microbacterium barkeri* 13 викликали деструкцію 45% нафти.



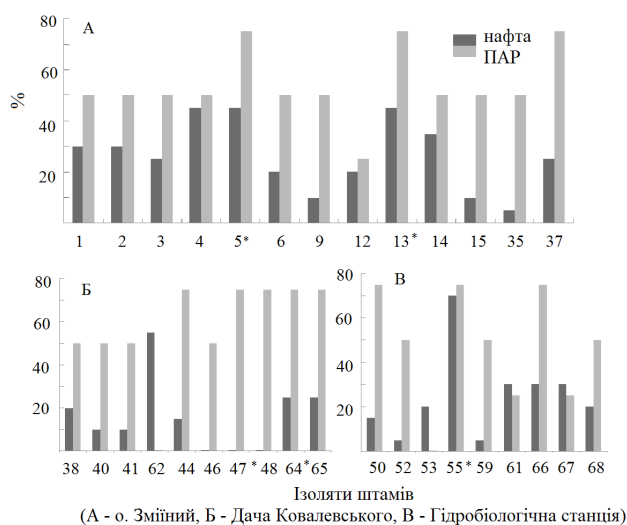


Рис. 1. Ступінь деструкції (%) нафти і ПАР штамми бактерій, ізольованими із морської води і прибережного нафтозабрудненого ґрунту:

А – о. Зміїний; Б – Дача Ковалевського; В – Гідробіологічна станція.

* Штами ідентифіковані: 5 – *Microbacterium barkeri* 5; 13 – *Microbacterium barkeri* 13; 47 – *Pseudomonas sp.* 47; 55 – *Pseudomonas fluorescens* 55, 64 – *Bacillus megaterium* 64.

Fig. 1. Degree of destruction (%) of oil and surfactants by bacterial strains isolated from sea water and coastal oil-contaminated soil:

A – the Zmiinyi island; B – the Kovalevsky's dacha; B – Hydrobiological station.

* Strains identified: 5 – *Microbacterium barkeri* 5; 13 – *Microbacterium barkeri* 13; 47 – *Pseudomonas sp.* 47; 55 – *Pseudomonas fluorescens* 55, 64 – *Bacillus megaterium* 64.

Середній рівень нафтодеструктивної активності (від 25 до 35%) був зареєстрований у штамів, виділених з порової води Одеського узбережжя (61, 65, 66, 67, *Bacillus megaterium* 64) та о. Зміїний (1, 2, 3, 14) [4].

Дослідження дозволили виділити з морської та порової води мікроорганізми, резистентні до токсичної дії ПАР та здатні до їх біодеградації. Відібрані біохімічно-активні бактерії-деструктори ПАР були виділені з порової води та прибережного нафтозабрудненого ґрунту зони заплеску о. Зміїний – 37, *Microbacterium barkeri* 5, *Microbacterium barkeri* 13; з порової води на Дачі Ковалевського – 44, 48, 65, *Pseudomonas sp.* 47, *Bacillus megaterium* 64; з морської та порової води на Гідробіологічній станції – 50, 66, *Pseudomonas fluorescens* 55. Вказані штами давали рясний ріст та зони просвітлення на голлоному агарі з додаванням ДДСН. Ступінь деструкції ПАР сягала 75%.

Порівняльний аналіз показав високу частоту виділення біохімічно активних бактерій – деструкторів ПАР з порової води зони заплеску Одеського узбережжя у районі випуску міських стічних вод у море на Дачі Ковалевського – з 8 досліджених штамів 5 виявляли максимальну ПАР-деструктивну активність. Це свідчить про велике значення мікроорганізмів псамоконтуру у процесах самоочищення моря від біорезистентних поверхнево-активних речовин (ПАР).

При вивченні антагоністичних властивостей морських бактерій встановлено різний ступінь пригнічувальної дії щодо умовно патогенних бактерій (таблиця 1).



Таблиця 1
 Антагоністична активність бактерій, ізольованих з зони заплеску прибережної частини Чорного моря
 Table 1
 Antagonistic activity of bacteria isolated from the splash zone of the coastal part of the Black Sea

Станція відбору	Штам	Зона застримки росту тест-штамів, мм									
		<i>E. coli</i> ATCC 25922/ОНУ 447	<i>S. aureus</i> ATCC 6538/ОНУ 443	<i>S. enteritidis</i> ОНУ 466	<i>P. aeruginosa</i> ОНУ 211	<i>P. aeruginosa</i> ОНУ 446	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633/ОНУ 66	<i>B. cereus</i> ATCC 11778/ОНУ 77	<i>M. luteus</i> УКМБ 645Т/ОНУ645	<i>P. vulgaris</i> SSU8	
0. Зміцни прибережний нафтозабруднений ґрунт	1	5,3 ± 0,23	5,24 ± 0,72	8,76 ± 2,07	5,33 ± 1,23	4,12 ± 0,91	3,63 ± 0,06	6,11 ± 0,21	6,14 ± 1,01	0	
	2	3,69 ± 0,06	2,59 ± 0,05	2,6 ± 0,55	3,67 ± 0,23	3,03 ± 0,33	4,05 ± 1,61	3,22 ± 0,02	4,25 ± 0,23	0	
	3	6,75 ± 0,47	4,84 ± 0,08	5,23 ± 0,02	3,71 ± 0,47	4,14 ± 1,01	3,44 ± 1,04	5,25 ± 0,53	6,32 ± 0,32	0	
	4	4,93 ± 0,09	3,52 ± 0,50	4,71 ± 0,11	2,44 ± 0,44	2,41 ± 0,04	2,75 ± 0,67	3,02 ± 0,02	3,44 ± 0,14	0	
	M. barkeri 5	12,42 ± 2,04	8,4 ± 2,05	7,6 ± 0,06	6,1 ± 0,51	4,07 ± 1,07	4,55 ± 0,05	6,33 ± 0,13	7,10 ± 1,02	0	
	6	4,07 ± 0,97	3,8 ± 0,48	3,85 ± 0,97	2,49 ± 0,54	2,23 ± 0,12	2,45 ± 0,04	4,63 ± 0,66	4,12 ± 0,12	0	
	7	6,68 ± 0,86	5,9 ± 1,09	7,69 ± 0,26	4,18 ± 0,51	3,06 ± 0,16	4,01 ± 0,54	5,43 ± 0,33	5,52 ± 0,5	0	
	8	3,55 ± 0,35	1,37 ± 0,93	2,53 ± 0,15	2,45 ± 0,24	2,02 ± 0,02	1,02 ± 0,05	2,41 ± 0,12	2,36 ± 0,36	0	
	9	4,36 ± 0,63	4,16 ± 1,01	5,63 ± 1,06	3,97 ± 0,59	4,74 ± 1,07	3,81 ± 0,98	11,66 ± 2,06	7,23 ± 1,25	0	
	11	4,21 ± 0,42	2,59 ± 0,05	2,06 ± 0,36	3,71 ± 0,37	3,43 ± 0,44	2,34 ± 0,73	4,08 ± 0,98	24,64 ± 2,62	0	
	12	4,22 ± 0,52	3,49 ± 0,04	5,29 ± 0,62	4,05 ± 0,95	3,2 ± 0,02	4,9 ± 0,29	5,32 ± 0,03	5,47 ± 0,44	0	
	M. barkeri 13	8,41 ± 0,04	2,4 ± 0,14	3,33 ± 0,03	5,55 ± 0,50	4,31 ± 0,23	1,1 ± 0,01	4,53 ± 0,65	4,22 ± 0,02	0	
	14	5,56 ± 1,05	3,46 ± 0,8	7,29 ± 0,15	3,41 ± 0,04	2,75 ± 0,37	2,36 ± 0,13	0,5 ± 0,1	6,51 ± 0,41	0	
	15	4,03 ± 0,73	2,68 ± 0,16	3,02 ± 0,02	1,79 ± 0,17	2,64 ± 0,56	2,63 ± 0,01	3,98 ± 0,09	0	0	
	16	5,76 ± 0,95	3,06 ± 0,47	5,98 ± 0,69	5,1 ± 1,11	3,88 ± 0,48	5,41 ± 0,04	4,22 ± 0,1	5,26 ± 0,24	0	
	17	5,31 ± 0,03	3,41 ± 0,94	3,95 ± 0,09	2,82 ± 0,28	2,69 ± 0,05	2,61 ± 0,16	0,50 ± 0,01	2,13 ± 0,12	0	

Продовження таблиці 1

о. Зміїний	порова	32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12,35 ± 0,31	0	
		34	0	25,57 ± 3,65	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25,56 ± 3,52	0
Дача Ковалев ського	порова	35	0	25,98 ± 2,34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		36	0	0	0	0	0	0	0	20,79 ± 3,07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35,11 ± 1,05	0
		37	8,98 ± 1,09	6,09 ± 1,02	0	0	0	0	0	5,39 ± 1,53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5,47 ± 0,45	0
	морська	38	0	0	15,44 ± 1,93	0	0	0	0	0	20,25 ± 3,72	3,54 ± 1,52	0	0	0	0	0	0	0	20,71 ± 2,41	0
		39	0	0	8,15 ± 1,02	0	0	0	0	0	18,11 ± 1,04	0	0	0	0	0	0	0	0	16,25 ± 0,22	0
		40	0	15,31 ± 1,03	10,27 ± 0,71	0	0	0	0	20,67 ± 2,22	1,51 ± 0,25	0	0	0	0	0	0	0	0	16,52 ± 0,51	0
	порова	41	20,55 ± 2,16	28,36 ± 4,13	10,66 ± 0,62	0	0	0	0	31,68 ± 5,06	2,36 ± 0,15	0	0	0	0	0	0	0	0	15,35 ± 0,25	0
		42	0	15,85 ± 2,28	15,17 ± 0,04	0	0	0	0	0	25,69 ± 2,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		43	0	0	10,58 ± 0,43	0	0	0	0	0	18,42 ± 2,04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		62	10,39 ± 1,53	11,79 ± 1,07	29,29 ± 1,15	8,43 ± 1,24	0	0	0	0	4,22 ± 0,02	4,63 ± 0,34	0	0	0	0	0	0	0	0	7,17 ± 1,07
		44	10,55 ± 2,55	15,11 ± 3,91	0	0	0	0	0	24,1 ± 4,01	16,23 ± 0,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		45	0	30,51 ± 4,15	0	0	0	0	0	14,57 ± 0,05	4,53 ± 0,47	20,46 ± 0,23	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		46	0	0	10,33 ± 0,33	0	0	0	0	20,99 ± 0,09	20,26 ± 2,13	0	0	0	0	0	0	0	0	25,65 ± 0,41	0
	<i>Pseudomonas</i> sp. 47	15,27 ± 2,11	40,5 ± 5,55	10,72 ± 0,63	0	0	0	0	28,98 ± 5,09	19,14 ± 0,07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16,21 ± 0,12	0
		0	0	5,53 ± 0,25	0	0	0	0	0	0	1,55 ± 0,15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>V. megaterium</i> 64	15,75 ± 3,27	15,31 ± 2,03	10,1 ± 0,05	5,78 ± 1,27	12,43 ± 2,34	6,93 ± 0,99	4,41 ± 0,19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10,28 ± 2,14	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	



Продовження таблиці 1

Гідробіологічна станція																							
морська		51	52	54	<i>P. fluorescens</i> 55	56	57	58	59	61	66	67	68										
		0	0	0	10,52 ± 1,05	0	0	0	0	0	20,41 ± 3,44	5,47 ± 1,27	0	10,49 ± 0,24	0	0	0	12,28 ± 3,12	10,7 ± 2,07	3,57 ± 0,26	23,17 ± 1,08	12,28 ± 0,22	0
		0	5,74 ± 0,97	0	20,58 ± 3,05	0	0	22,98 ± 3,99	0	0	20,12 ± 3,01	10,6 ± 0,06	0	0	0	8,43 ± 0,21	10,25 ± 4,12	10,78 ± 2,11	20,42 ± 5,22	0	0	0	0
		0	0	8,43 ± 0,21	0	10,25 ± 4,12	12,56 ± 2,02	0	0	7,32 ± 0,14	0	0	0	0	0	0	15,63 ± 2,56	0	2,1 ± 0,05	0	25,47 ± 4,31	0	0
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	16,41 ± 0,19	4,58 ± 0,26	0	0	0	0	0	9,45 ± 0,23	0	0	10,16 ± 0,06	0	3,25 ± 0,13
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5,65 ± 0,33	4,22 ± 1,05	9,36 ± 0,14	0	0	0	3,46 ± 0,23

З 58 досліджуваних штамів 11 не пригнічували ріст жодного з тест-штамів, 11 штамів пригнічували ріст лише 1–2 тест-штамів.

Виражену антагоністичну активність щодо широкого спектру умовно-патогенних бактерій, у тому числі санітарно-показових, виявили штами 40, 41, 44, 62, 66, *Pseudomonas sp.* 47, *B. megaterium* 64, *P. fluorescens* 55, виділені з морської та порової води на Дачі Ковалевського та Гідробіологічній станції (зони затримки росту тест-мікроорганізмів становили від $9,45 \pm 0,23$ до $40,5 \pm 5,55$ мм.). Середню антагоністичну активність виявили бактерії, виділені на о. Зміїний, у тому числі 1, 3, 7, 9, 37, *M. barkeri* 5, *M. barkeri* 13 (зони затримки росту тест-мікроорганізмів становили від $3,63 \pm 0,06$ до $8,4 \pm 2,05$ мм) [2].

Найбільш біохімічно активні штами бактерій-деструкторів органічних сполук: 66, *M. barkeri* 5, *M. barkeri* 13, *Pseudomonas sp.* 47, *B. megaterium* 64, *P. fluorescens* 55 виявляли високу здатність до пригнічення росту *E. coli* ATCC 25922/ОНУ 447, *S. aureus* ATCC 6538/ ОНУ 443, *S. enteritidis* ОНУ 466, *P. aeruginosa* ОНУ 446. Стосовно *P. vulgaris* SSU8 виражену антагоністичну активність визначено у культур 62 і *B. megaterium* 64 (зони затримки росту тест-штамів становили відповідно $7,17 \pm 1,07$ і $10,28 \pm 2,14$ мм).

Виявлення у морській та поровій воді в районі Дачі Ковалевського максимальної кількості бактерій з поліфункціональною активністю (деструкторів органічних сполук та антагоністів умовно патогенної мікробіоти) зумовлено скиданням у море каналізаційних вод станцією біологічної очистки “Південна”. Гідробіологічна станція віддалена від цих основних джерел забруднення, хоча залежно від згонно-нагонної циркуляції водних мас і направлення уздовж смугових течій, може певною мірою зазнавати їхнього впливу (крім того, поблизу цього району знаходиться скид колектору дренажних вод). Процес самоочищення в цьому районі відбувається нормально через наявність аборигенної мікробіоти з високим деструктивним та антагоністичним потенціалом.

На підставі наших досліджень можна зробити висновок про те, що досліджувані райони узбережжя Чорного моря знаходяться під великим впливом антропогенного навантаження – ізоляція великої кількості штамів бактерій-антагоністів, з високою деструктивною здатністю щодо органічних сполук (ПАР, нафта), свідчить про хронічне хімічне та біологічне забруднення зони заплеску в районі Дачі Ковалевського та о. Зміїний. Три поліфункціональних штама *M. barkeri* 5, *M. barkeri* 13, *P. fluorescens* 55, які виявили високий рівень антагоністичної активності щодо широкого спектру представників умовно-патогенної мікробіоти і виявили високу здатність окиснювати вуглеводні нафти і ПАР можуть бути рекомендовані для подальшого використання в біотехнологіях ремедіації морських вод від біологічного і хімічного забруднення.



Е. Г. Горшкова

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина,
тел.: +38 068 278 02 05, e-mail: helen-good@ukr.net

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ И ДЕСТРУКТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ МОРСКИХ БАКТЕРИЙ

Реферат

Цель. Исследовать антагонистическую, нефте- и ПАВ- деструктивную активность бактерий, изолированных из прибрежных зон Черного моря.

Методы. Для изоляции бактерий-деструкторов из морской и поровой воды зоны заплеска Одесской затоки, о. Змеиный использовали метод накопительных культур на жидкой синтетической среде МКД с дальнейшим высевом на питательную среду МПБ и М-9, которые содержали отдельно нефть и додецилсульфат натрия в концентрации 1%. Исследование антагонистической активности, которую оценивали по величине зон задержки роста тест-штаммов, проводили методом отсроченных посевов. **Результаты.** Изучено деструктивную и антагонистическую активность 58 штаммов бактерий, изолированных из прибрежных зон Черного моря. Деструктивную активность в отношении нефти и ПАВ проявили 36 исследованных штаммов. Из наиболее активных отобрано 3 штамма-деструктора, которые проявили наибольшее ингибирующее действие в отношении тест-штаммов условно-патогенных микроорганизмов, в том числе санитарно-показательных. Наибольшее количество штаммов-антагонистов изолировано из поровой и морской воды в районе сброса городских хозяйственно-фекальных вод на Даче Ковалевского, что свидетельствует о хроническом химическом и биологическом загрязнении зоны заплеска в этом районе одесского побережья Черного моря. **Выводы.** Полифункциональные штаммы *M. barkeri* 5, *M. barkeri* 13 *P. fluorescens* 55, которые проявили высокий уровень антагонистической активности в отношении широкого спектра представителей условно-патогенной микробиоты и обладали высокой способностью окислять углеводороды нефти и ПАВ, могут быть рекомендованы для дальнейшего использования в биотехнологиях ремедиации морских вод от биологического и химического загрязнения.

Ключевые слова: морские бактерии-деструкторы, нефть, поверхностно-активные вещества, антагонистическая активность.

О. Н. Horshkova

I. I. Mechnykov Odesa National University, Odesa,
2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine,
tel.: +38 068 278 02 05, e-mail: helen-good@ukr.net

ANTAGONISTIC AND DESTRUCTIVE ACTIVITY OF MARINE BACTERIA

Summary

Aim. To investigate antagonistic, oil and surfactant-destructive activity of bacteria isolated from the coastal zones of the Black Sea. **Methods.** For isolation



of bacteria-destructors from the sea and pore waters of the zone of splashes of the Odesa bay, the Zmiiny island there were used the method of accumulative crops on liquid synthetic medium MKD with further sowing on the nutrient medium MPB and M-9, contained separately oil sodium dodecyl sulfate in concentration of 1%. Researches of antagonistic activity, estimated according to the size of the growth inhibition zones of the test strains, were conducted by means of the method of the delayed crops. **Results.** The destructive and antagonistic activity of 58 strains of bacteria isolated from the coastal zones of the Black Sea was studied. The destructive activity in relation to oil and surfactants showed 36 strains studied. Of the most active, 3 strain-destructors were selected, which showed the greatest inhibitory effect on test strains of conditionally pathogenic microorganisms, including sanitary-indicative. The largest number of antagonistic strains is isolated from porous and sea water in the area of discharging urban residential sewage in the Dacha Kovalevsky, indicating the chronic chemical and biological contamination of the zone of splash in the area of the Odesa border of the Black Sea. **Conclusions.** Polyfunctional strains *M. barkeri* 5, *M. barkeri* 13, *P. fluorescens* 55, which showed a high level of antagonistic activity with respect to a wide spectrum of conditionally pathogenic microbiota representatives and had a high ability to oxidize hydrocarbon oil and surfactant, they can be recommended for further use in the biotechnology of remediation of marine waters from biological and chemical contamination.

Key words: marine bacteria-destructors, oil, surfactants, antagonistic activity.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Воробьева Л. В. Мейобентос украинского шельфа Черного и Азовского морей. – К.: Наукова думка, 1999. – 300 с.
2. Горшкова О. Г. Антагоністична активність бактерій, виділених із проб води Куяльника та ґрунту о. Зміїний // Актуальні питання розвитку біології та екології. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції (3-7 жовтня 2016 р., м. Вінниця, Україна), м. Вінниця, ТОВ «Нілан-ЛТД». – 2016. – С. 222–224.
3. Зайцев Ю. П. Экологическое состояние шельфовой зоны Черного моря у побережья Украины (обзор) // Гидробиол. журн. – 1992. – Т. 4, № 28 – С. 3–18.
4. Іваниця В. О., Горшкова О. Г., Кортаєва Н. В., Волювач О. В., Гудзенко Т. В., Остапчук А. М. Склад жирних кислот ліпідів штаму *Bacillus* spp. ОЗ-5, виділеного із забрудненого нафтою ґрунту о. Зміїний // Мікробіологія і біотехнологія. – 2015. – № 4 (32). – С. 28–36.
5. Кузнецов А. В. Санитарная охрана моря от загрязнения судами в системе эпидемиологического надзора за карантинными инфекциями: Автореф. дис. ...доктора мед. наук. Одесса, 2004 –16 с.
6. *Практикум по мікробіології*: Учеб. пособие для студ. высших учеб. заведений / А. И. Нетрусова, М. А. Егорова, Л. М. Захарчук и др.; Под ред. А. И. Нетрусова. – М.: Изд. Центр «Академия». – 2005. – 608 с.



7. Suneby Emma G., Herndon Leslie R., Schneider Tanya L. *Pseudomonas aeruginosa* LasR. DNA Binding Is Directly Inhibited by Quorum Sensing Antagonists // ACS Infection diseases. – 2017. – Vol. 3, № 3. – P. 183–189.

8. De la Fuente Mery, Vidal Jose M., Miranda, Claudio D. Inhibition of *Flavobacterium psychrophilum* biofilm formation using a biofilm of the antagonist *Pseudomonas fluorescens* FF48 // SpringerPlus. – 2013. – Vol. 2, № 176. – P. 1–9.

References

1. Vorob'eva LV. Mejobentos ukrainskogo shel'fa Chernogo i Azovskogo morej. K.: Naukova dumka, 1999: 300.

2. Horshkova OH. Antagonistic activity of the bacteria isolated from water samples of a kuyal'nyk and soil of the Zmiiny island. Materials of the international scientific and practical conference. V.: TOV "Nilan-LTD", 2016: 222-224.

3. Zaytsev YuP. Ecological condition of a shelf zone of the Black Sea at the coast of Ukraine (review). Hydrobiology. 1992; 4(28): 3–18.

4. Ivanytsya VO, Horshkova OH, Korotayeva NV, Volyuvach OV, Gudzenko TV, Ostapchuk AM. Composition of fatty acids of lipids of the strain of *Bacillus* spp. OZ-5 isolated from the oil-polluted soil of the Zmiiny island. Microbiology&Biotechnology. 2015; 4(32): 28-36.

5. Kuznetsov AV. Sanitary protection of the sea from pollution by ships in the system of epidemiological surveillance of quarantine infections. Odesa. 2004: 16.

6. Workshop on microbiology: Manual for students of higher educational institutions. AY. Netrusova, MA. Ehorova, LM. Zakharchuk and other. M.: Publishing Center «Academy», 2005: 608.

7. Suneby Emma G, Herndon Leslie R, Schneider Tanya L. *Pseudomonas aeruginosa* LasR. DNA Binding Is Directly Inhibited by Quorum Sensing Antagonists. ACS Infection diseases. 2017; 3(3): 183-189.

8. De la Fuente Mery, Vidal Jose M., Miranda, Claudio D. Inhibition of *Flavobacterium psychrophilum* biofilm formation using a biofilm of the antagonist *Pseudomonas fluorescens* FF48. SpringerPlus. 2013. 2(176): 1-9.

Стаття надійшла до редакції 20.11.2017 р.

