

БАКТЕРІЇ РОДУ *NOCARDIA* ЯК ОБ'ЄКТИ БІОТЕХНОЛОГІЇ

Т. П. ПИРОГ, Д. І. ХОМ'ЯК, Н. А. ГРИЦЕНКО,
А. П. СОФІЛКАНИЧ, А. Д. КОНОН, Х. А. ПОКОРА

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

E-mail: tapiro@nuft.edu.ua

Отримано 26.03.2013

Наведено дані літератури та результати проведених авторами експериментів, що стосуються біотехнологічного потенціалу бактерій роду *Nocardia*. Розглянуто використання цих мікроорганізмів як деструкторів аліфатичних (октан, пентадеканол, ейкозан, октакозан, гексатриаконтан, пристан), ароматичних (фенол, октилбензен, фенатрен, антрацен), нітроароматичних (4-нітрофенол), гетероциклічних (піридин, α -піколін) вуглеводнів. Показано перспективи застосування нокардій у процесах біотрансформації речовин (утворення даїдзону, ібупрофену, нікотинової кислоти) та синтезу деяких використовуваних на практиці метаболітів, зокрема антимікробних і цитотоксичних речовин (аяміцин, трансвалецин А, нокатіоцин, бразилібактин А, нокарацини та ін.), а також речовин з поверхнево-активними й емульгувальними властивостями.

Підсумовано експериментальні результати щодо оптимізації умов культивування ізольованого із забрудненого нафтою ґрунту штаму нафтоокиснювальних бактерій *Nocardia vaccinii* К-8 та інтенсифікації синтезу поверхнево-активних речовин на гліцеролі — побічному продукті виробництва біодизеля. Встановлено здатність штаму К-8 асимілювати деякі ароматичні сполуки (фенол, бензол, толуол, нафталін, гексахлорбензол, сульфанілова та N-фенілантранілова кислоти, 0,3–0,5%). Показано, що через 30 діб максимальний ступінь деструкції (94–98%) нафти (2,6 г/л) у воді спостерігався за оброблення суспензією клітин *N. vaccinii* К-8 ($9,8 \cdot 10^7$ КУО/мл), тимчасом як для очищення забрудненого нафтою ґрунту (20 г/кг) ефективнішим виявився препарат поверхнево-активних речовин (100–300 мл/кг) у вигляді постферментаційної культуральної рідини (деструкція 74–83% нафти). Встановлено, що поверхнево-активним речовинам (0,085–0,85 мг/мл) та іншим позаклітинним метаболітам штаму К-8 притаманна антимікробна дія щодо низки фітопатогенних бактерій родів *Pseudomonas* та *Xanthomonas*, кількість яких за присутності досліджуваних речовин знижувалась на 80–100%.

Ключові слова: бактерії роду *Nocardia*, деградація нафтових забруднень, біотрансформація, антибіотики, поверхнево-активні речовини.

Донедавна дані літератури щодо біотехнологічного потенціалу бактерій роду *Nocardia* були нечисленними, хоча перші повідомлення про можливість їх практичного застосування датуються 50-ми роками ХХ ст. Так, у 1956 р. Webley зі співавт. описав штами *Nocardia opaca* Т 16 і *Nocardia* sp. Р 2, здатні деградувати вуглеводневі сполуки C_{10} – C_{16} [1]. У 60–70-х рр. ХХ ст. встановлено здатність представників роду *Nocardia* до деструкції циклоалканів та вуглеводнів складної будови [2–5], біотрансформації етилбензену в 1-фенілетанол та ацетофенон [6], а також з'явилися перші повідомлення про синтезовані нокардіями антибіотики [7].

Біохімічні властивості представників цього роду було узагальнено у 80-х рр. мину-

лого століття в монографії [8]. При цьому нокардії розглядали в основному як збудників захворювань у людей, тварин та рослин, а також як шкідників, здатних до біоруйнування підземних комунікацій [9]. На сьогодні рід *Nocardia* налічує 91 вид і є типовим родом родини *Nocardiaceae*, до якої належать також роди *Gordonia*, *Millisia* і *Skermania*. Історію роду *Nocardia* докладно описано в роботі Yassin зі співавт. [10].

В останнє десятиліття з'явилась інформація стосовно синтезу представниками роду *Nocardia* антибіотиків, поверхнево-активних речовин (ПАР), про їхню здатність до деградації недоступних для більшості мікроорганізмів забрудників довкілля, зокрема таких, як поліциклічні ароматичні

вуглеводні, та можливість здійснення процесів біотрансформації [11–40]. В огляді підсумовано сучасні дані про використання бактерій роду *Nocardia* та їх метаболітів у біотехнології.

Використання представників роду *Nocardia* для деградації нафтових забруднень

Нафта являє собою комплекс різних вуглеводнів (аліфатичних, аlicиклічних, ароматичних) та інших сполук гетероциклічної і металоорганічної природи [5, 22]. Процеси видобутку, транспортування, перероблення нафти постійно супроводжуються аварійними викидами сировини у навколишнє середовище. На сьогодні вона є основним забруднювачем довкілля. Біоремедіація належить до пріоритетних методів очищення довкілля від забруднення нафтопродуктами. До потенційних переваг штамів роду *Nocardia* у деградації нафтових забруднень можна віднести: широкі катаболічні можливості, високу стійкість до несприятливих чинників зовнішнього середовища та здатність синтезувати ПАР [32, 41].

Деградація аліфатичних вуглеводнів. Нерозгалужені алкани є одним з найменш реакційноздатних класів органічних сполук. Проте, незважаючи на нерозчинність їх у воді, гідрофобність та високу частоту забруднення ними довкілля, вони є цілком придатним джерелом вуглецю для низки мікроорганізмів [42, 43]. Проблема природного забруднення нафтою також загострюється у зв'язку з наявністю у її складі розгалужених алканів. Останні є стійкішими до біодеградації, ніж лінійні алкани. Однією з причин стійкості може бути ускладнене споживання цих сполук у зв'язку з тим, що через розгалуженість вуглецевого ланцюга їм складно потрапити до клітини. Іншою причиною є те, що ці сполуки погано піддаються β -окисненню [12, 30].

Досліджено здатність мікроорганізмів, ізольованих із забрудненого внаслідок аварійного розливу нафти піщаного узбережжя Середземного моря, до деградації вуглеводнів нафти [32]. У складі мікробного угруповання ідентифіковано п'ять видів, з яких один — представник роду *Nocardia*, два — *Rhodococcus* і ще два — *Gordonia*. Встановлено, що штам *Nocardia* sp. SoB асимілював дизельне паливо, лінійні алкани (C_{12} – C_{16}), *n*-октан, октан, пентадеканол, проте не ароматичні сполуки, що можна пояснити відсутністю необхідних ензиматичних систем.

Ступінь деградації ейкозану (C_{20}), октакозану (C_{28}) та гексатриаконтану (C_{36}), початкова концентрація яких становила 1 г/л, досягла 95–98% на 28-му добу за умов культивування в рідкому живильному середовищі [32]. У подальших дослідженнях встановлено, що біодеградація вуглеводнів штамом SoB у ґрунті залежала від його фізико-хімічних властивостей, а максимальний ступінь деградації становив 75% на 28-му добу [14].

В інших дослідженнях виявлено високу здатність *Nocardia cyriacigeorgica* SBUG 1472, виділеного із забруднених нафтою зразків піску пустелі в Саудівській Аравії, до деградації широкого спектра вуглеводнів: *n*-алканів з довжиною ланцюга C_6 – C_{16} , розгалужених алканів, зокрема пристану, а також ароматичних сполук [30]. Було встановлено залежність ефективності споживання *n*-алканів від довжини вуглеводневого ланцюга. Так, на C_{12} – C_{16} -сполуках ріст спостерігався вже з першої доби культивування, тимчасом як для коротших гомологів (C_6 – C_{12}) — з третьої. Для визначення можливого шляху споживання алканів у безклітинних екстрактах, одержаних з клітин, вирощених на тетрадекані, аналізували проміжні продукти метаболізму. Наявність тетрадеканола, тетрадеканової, додеканової і деканової кислот свідчить про функціонування в *N. cyriacigeorgica* SBUG 1472 монотермінального шляху окиснення вуглеводнів [30].

Під час дослідження росту штаму SBUG 1472 на пристані (0,01%, об'ємна частка) було встановлено, що ступінь споживання становив 90% за 8 год, а за концентрації пристану 0,5% — понад 84% за 3 тижні. Результати свідчать про можливість використання цього штаму в процесах очищення довкілля від широкого спектра вуглеводнів, у тому числі й з розгалуженими ланцюгами [30].

У складі мікробних угруповань, ізольованих із забрудненого пристаном та нафтою ґрунту, ідентифіковано штами *Nocardia coralline* та *Nocardia paraffinea*, яким були притаманні такі властивості, як стійкість до арсену (III, V) і кадмію (за концентрації клітин не менше $4 \cdot 10^5$ КУО/г) та здатність до утилізації широкого спектра аліфатичних і ароматичних вуглеводнів. Варто зазначити, що в деяких випадках за низьких концентрацій металів спостерігали стимуляцію деградації вуглеводнів [11].

Деградація ароматичних вуглеводнів. До складу нафти входять ароматичні сполуки, наприклад бензен, а також поліциклічні ароматичні вуглеводні (ПАР), які є най-

більш екологічно небезпечними і надзвичайно стійкими до біодеструкції. Відомо, що представникам родини *Nocardiaceae* притаманна здатність до деструкції ароматичних вуглеводнів [12, 18, 30, 35, 40]. Актуальним на сьогодні залишається вивчення особливостей метаболізму ароматичних субстратів у клітинах деструкторів, що дасть змогу регулювати метаболічні процеси та інтенсифікувати біоремедіацію [44].

Встановлено шляхи метаболізму октилбензену (2-фенілоктану) в *N. cyriacigeorgica* SBUG 1472 за умов культивування штаму в рідкому живильному середовищі з 0,25 мл/л ароматичного субстрату [30]. Перетворення октилбензену розпочиналося з окиснення бічного ланцюга, при цьому як проміжний продукт було ідентифіковано 5-фенілгексанову кислоту, яка далі внаслідок β -окиснення перетворювалася на 3-фенілбутират.

У роботі [40] описано термофільний штам (оптимальна для росту температура 50 °C), здатний рости на поліциклічних ароматичних вуглеводнях, ідентифікований як *Nocardia* TSH1. Термофільні штами-деструктори ароматичних ксенобіотиків є перспективними для очищення води та ґрунту в регіонах зі спекотним кліматом. У ході досліджень було встановлено здатність штаму TSH1 розкласти фенатрен і антрацен (0,5 г/л) на 90 та 25% відповідно за умов культивування в рідкому живильному середовищі упродовж семи діб. Різний ступінь деструкції цих ароматичних сполук пояснюється відмінністю в їхній хімічній будові та різною розчинністю у воді.

Лінійні алкілбензени (ЛАБ) з ароматичною структурою є також небезпечними забруднювачами довкілля. Було селекціоновано штам *Nocardia amarae* MB-11, здатний використовувати ці сполуки як ростові субстрати [12]. Ступінь деградації ЛАБ з довжиною ланцюга $C_{11}-C_{14}$ та $C_{10}-C_{13}$ становив 70% на 96-ту год та 57% на 144-ту год культивування штаму MB-11 відповідно [12].

У роботі [35] досліджено очищення фенолвмісних стічних вод у тарілчастому біореакторі іммобілізованими на скляних часточках клітинами *Nocardia hydrocarbonoxydans* NCIM 2386. Слід зазначити, що іммобілізовані клітини виявили стійкість до вищих концентрацій фенолу (100 мг/л) порівняно із суспензійною культурою, для якої така концентрація була токсичною. Зниження кількості фенолу в стічних водах у результаті його асиміляції іммобілізованими клітинами штаму NCIM 2386 показано на рис. 1 [35].

У забруднених екосистемах часто наявні нітроароматичні сполуки — органічні речовини, що містять щонайменше одну нітрогрупу, приєднану до ароматичного кільця (нітробензен, 3-нітронафтален, 3-нітробіфеніл, а також різноманітні нітрополіароматичні вуглеводні). На сьогодні відомо, що в клітинах мікроорганізмів-деструкторів на першому етапі катаболізму нітроароматичних сполук відбувається відновлення нітрогрупи, після чого вони перетворюються на відповідні феноли, хінони або катехоли, з яких у подальшому утворюються інтермедіати циклу трикарбонових кислот (ЦТК) [44].

Встановлено, що штам *Nocardia* sp. TW2 здатен рости на 4-нітрофенолі та здійснювати його перетворення за двома шляхами: 1,2,4-тригідроксибензолем або гідрохіноном [18].

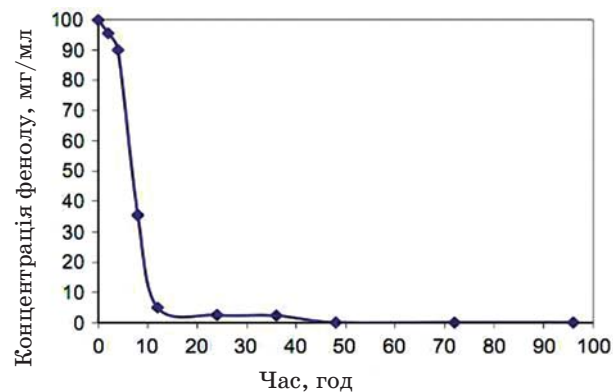


Рис. 1. Біодеградація фенолу іммобілізованими клітинами *N. hydrocarbonoxydans* NCIM 2386 [35]

У результаті функціонування першого шляху 4-нітрофенол окиснюється через 4-нітрокатехол до 1,2,4-тригідроксибензолу. Про функціонування у клітинах другого шляху свідчить пряме окиснення 4-нітрофенолу за участю монооксигенази до бензохінону, який згодом відновлюється до гідрохінону. Далі, незалежно від шляху катаболізму 4-нітрофенолу, відбувається розрив ароматичного кільця, після чого як 1,2,4-тригідроксибензол, так і гідрохінон перетворюються на малілацетат, який відновлюється до β -кетoadипіну — попередника інтермедіатів ЦТК.

Деградація гетероциклічних сполук. Поряд з аліфатичними й ароматичними вуглеводнями безпеку для довкілля становлять також гетероциклічні сполуки, зокрема піридин та його похідні. Ці сполуки є стійкими до біодеструкції та добре розчинними у воді, тому часто ідентифікуються в забруд-

нених екосистемах, особливо у ґрунтових водах [45, 46].

У роботі [31] показано здатність штаму *Nocardia* sp. до росту на середовищі з піридином та α -піколіном (0,05–0,2 мг/л). Тривалість подвоєння біомаси *Nocardia* sp. за умов культивування на піридині й α -піколіні становила 8,25–16,9 та 6,9–9,05 діб відповідно. У процесі біодеградації піридину азот, що міститься у гетероциклі, перетворюється на аміак. За збільшенням концентрації амонійного азоту оцінювали ефективність споживання піридину. Згідно з теоретичними розрахунками було встановлено, що за умови 98% -ї деструкції піридину (200 мг/л) має утворитися 35,08 мг/л амонійного азоту. Проте експериментально показано, що за умов росту *Nocardia* sp. на піридині утворювалося 22 мг/л аміаку, що свідчить про деструкцію 61,5% субстрату.

Узагальнену інформацію стосовно біодеструктивного потенціалу деяких представників роду *Nocardia* наведено в табл. 1.

Біосинтез використовуваних на практиці метаболітів

У сучасній літературі бактерії роду *Nocardia* розглядають як продуценти ПАР [47], речовин з антимікробною активністю та здатністю до пригнічення розвитку клітин злоскісних пухлин [15–17, 19–21, 22–24, 26–29, 33, 36, 37, 39]. Окрім того, клітини нокардій, а також їхні ензиматичні системи можуть бути використані для

проведення реакцій біотрансформації [13, 25, 34, 38].

Використання представників роду *Nocardia* у процесах біотрансформації. У роботі [13] показано можливість застосування цитохрому P 154, виділеного з *Nocardia farcinica* IFM10152, для здійснення трансформації ізофлавоноїду формонетину (100 мкМ) у частіше застосовувані продукти — даїдзен (естрогенподібна сполука з протипухлинною активністю) та 3',4',7-тригідроксіізофлавіон (антиоксидант) (рис. 2). Встановлено, що ефективність перетворення формонетину на даїдзен та 3',4',7-тригідроксіізофлавіон становить 2,09% та 3,62% відповідно.

Уперше показано, що клітини *Nocardia corallina* В-276 можуть бути використані у процесі дерацемізації ібупрофену [25]. Клітини штаму В-276 у фосфатному буфері (0,1 М, рН 7,0) ефективно гідролізували ібупрофену нітрил до ібупрофену амід, який далі перетворювався на ібупрофен з ефективністю 99%. У роботі [38] описано ензим *цис*-епоксисукцинатгідролазу (КФ 3.3.2.3) бактерій *Nocardia tartaricans*, що бере участь у трансформації *цис*-епоксисукцинату в L(+)-тартарову кислоту. *Nocardia globerula* NHV-2 розглядають як продуцент нікотинової кислоти, яка утворюється з 3-ціанопіридину за участю високоактивної нітрилази (ензим нітриламіногідролаза, КФ 3.5.5.1, 6,67 од/мг АСБ, 18,7 од/мл). Показано, що з додаванням досліджуваного ензиму (10 од/мл) відбувалася повна трансформація 300 мМ 3-ціанопіридину в нікотинову кислоту упродовж 1 год [34].

Таблиця 1. Деградація ксенобіотиків вуглеводневої природи мікроорганізмами роду *Nocardia*

Штам	Сполука, що піддається деградації	Початкова концентрація, г/л	Спосіб культивування	Тривалість, год	Ефективність, %	Література
<i>Nocardia</i> TSH1	Фенатрен Антрацен	0,5 0,5	У колбах на качалці	168 168	90 25	[40]
<i>Nocardia</i> sp.	Піридин α -Піколін	0,1 0,1	У колбах на качалці	168 168	61,5 53	[31]
<i>Nocardia</i> sp. SoB	Ейкозан (C ₂₀) Октакозан (C ₂₈) Гексатриаконтан (C ₃₆)	1 1 1	У пробірках з рідким середовищем	672 672 672	98,9 99,0 95,2	[32]
<i>N. cyriacigeorgica</i> SBUG 1472	Пристан	0,1 5	У колбах на качалці	8 504	90 84	[30]
<i>N. amarae</i> MB-11	Лінійні алкілбензени C11–C14 C10–C13	10 10	У колбах на качалці	96 144	70 57	[12]
<i>N. hydrocarbonoxydans</i> NCIM 2386	Фенол	0,1	Імобілізовані клітини	48	99,9	[35]
<i>Nocardia opaca</i> T 16	Фенілалкани	0,1	У колбах на качалці	40	67	[1]

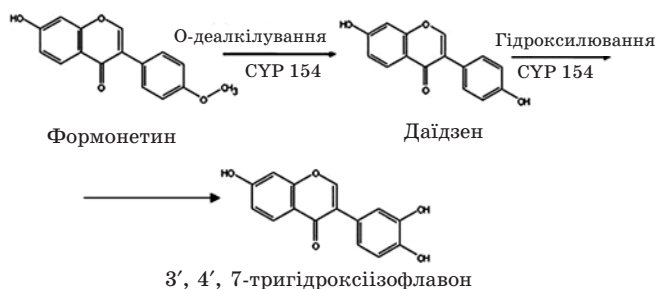


Рис. 2. Схема трансформації формонетину цитохромом P 154, виділеним з *N. farcinica* IFM10152 [13]

Представники роду *Nocardia* як продуценти антимікробних та цитотоксичних речовин. Однією з глобальних проблем сьогодення є виникнення мультирезистентних форм патогенних мікроорганізмів, стійких до більшості використовуваних на практиці антибіотичних речовин. Актуальним є пошук сучасних ефективних антимікробних сполук, зокрема синтезованих рідкісними та патогенними представниками актиноміцетів [48]. Так, велику кількість метаболітів з антибіотичними властивостями було виявлено у представників роду *Nocardia* [28].

У роботі [22] описано штам *Nocardia levis* МК-VL 113, що синтезував біс-(2-етилгексил)-фталат та біс-(5-етилгептил)-фталат. Цим сполукам була притаманна антимікробна дія щодо низки бактерій, дріжджів та грибів, причому більшу активність виявляв біс-(2-етилгексил)-фталат. Найчутливішими до дії цих метаболітів були *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermis* — серед бактерій, *Candida albicans*, *Epidermophyton floccosum* — серед дріжджів та *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* — серед мікроміцетів. Мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) біс-(2-етилгексил)-фталату при цьому становили 30–50, 40–50, 50–70 мкг/мл, відповідно. Хоча є досить багато даних про біосинтез біс-(2-етилгексил)-фталату мікроорганізмами, для роду *Nocardia* здатність синтезувати цю сполуку було показано вперше, як і здатність мікроорганізмів продукувати біс-(5-етилгептил)-фталат [22].

У роботі [15] повідомляється про синтез штамом *Nocardia* sp. ALAA 2000 хризофанолу 8-метилового ефіру, асфоделін-4,7-біхризофанолу, юстицидину B та нової біологічно активної сполуки аяміцину (1,1-дихлор-4-етил-5-(4-нітрофеніл)-гексан-2-он), особливість структури якої полягає в наявності одночасно як дихлор-, так і нітрогруп (рис. 3).

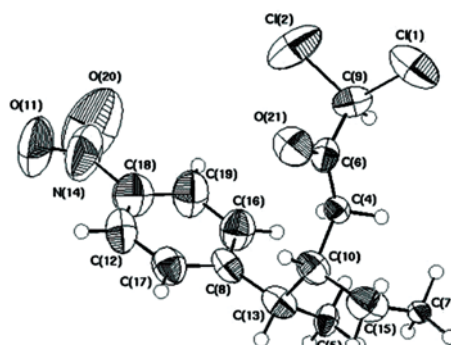


Рис. 3. Кристалічна будова аяміцину [15]

Було проведено масштабування процесу культивування штаму ALAA 2000 на біотехнологічне обладнання. Утворення метаболітів починалося на 3-тю добу культивування і досягало максимуму на 7-му. Синтезованому *Nocardia* sp. ALAA 2000 аяміцину (0,1–0,5 мг/мл) була притаманна антимікробна активність щодо широкого спектра мікроорганізмів (*Escherichia coli* ATCC 10536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Bacillus cereus* ATCC 9634, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Mycobacterium smegmatis* ATCC 607, *Corynebacterium xerosis* NRRL B-1397, *Rhodotorula acuta*, *Pichia angusta*, *Candida albicans*) [15].

Патогенний для людини мікроорганізм *Nocardia brasiliensis* [16, 21, 36, 37] утворює велику групу речовин з антимікробними властивостями. Так, бразилібактин А є найвідомішим антибіотиком, що синтезується *N. brasiliensis* IFM 0995; за хімічною будовою це — індоліновий алкалоїд [37]. Встановлено антимікробну активність бразилібактину А щодо *Micrococcus luteus* та *Staphylococcus aureus* (МІК 0,73 і 4,5 мг/мл, відповідно), потенційну цитотоксичність щодо клітин лейкозу мишей L1210 та раку шкіри людей KB (загибель 50% клітин за концентрації (СД₅₀) 0,02 і 0,04 мкг/мл), а також здатність посилювати каспазну активність (0,3–3 мкМ) в клітинах лінії HL60.

Описано штам *N. brasiliensis* IFM 0667 — продуцент нокарацинів А, В, С та бразиліхінону D [36]. Показано, що компоненти А, В та D пригнічували розвиток грампозитивних бактерій, зокрема кислотостійких *Nocardia asteroides* (МІК 3,13, 1,56 і 1,56 мкг/мл відповідно), *Gordonia bronchialis* (МІК 0,39, 0,78 і 0,78 мкг/мл відповідно) та *Mycobacterium smegmatis* (МІК 6,25, 6,25 і 12,5 мкг/мл відповідно). Нокарацинам А, В, С була притаманна цитотоксична дія *in vitro* щодо клітин промієлоцитарного лейкозу

людини HL-60 (СД₅₀ 0,91, 0,51 і 0,60 мкг/мл відповідно), а бразиліхінону D — щодо клітин лейкозу мишей L1210 (СД₅₀ 11 мкг/мл) та раку шкіри людей (СД₅₀ 20 мкг/мл) [36].

У роботі [29] досліджено тіопептидний антибіотик нокардитіацин, синтезований штамом *Nocardia pseudobrasiliensis* IFM 0757, що був високоефективним проти рифампіцинрезистентних штамів *Mycobacterium tuberculosis* у концентрації 0,025–1,56 мкг/мл.

Leet зі спіавт. [23] описали тіазолілпептидні антибіотики нокатіацини I–III та дослідили їхню антимікробну активність щодо грампозитивних бактерій *in vitro* та *in vivo*. Нокатіацини I–III ефективно діяли на представників родів *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* та *Moraxella*, у тому числі й на мультирезистентні патогенні штами *Staphylococcus aureus* (МІК 0,003–0,007 мкг/мл), *Enterococcus faecium* (0,015–0,03 мкг/мл), *Streptococcus pneumoniae* (0,0005–0,002 мкг/мл). Показано ефективність цих антибіотиків у організмі мишей щодо *Staphylococcus aureus* [24].

У роботі [16] встановлено антимікробну активність супернатанта культуральної рідини *N. brasiliensis* щодо патогенних для риб мікроорганізмів *Vibrio damsela*. Методом дифузії в агар встановлено, що максимальний діаметр зони затримки росту тест-культури був 17 мм за додавання 50 мкл супернатанту.

Досліджено антибіотик феназин, синтезований штамом *Nocardia dassonvillei* VM-17, виділеним з Північно-Льодовитого океану. Встановлено, що цій сполуці притаманна сильна антифунгальна активність щодо *Candida albicans* (МІК 64 мкг/мл), а також цитотоксичність щодо онкологічно трансформованих клітин HepG2, A549, HCT-116 та СОС1 [17]. *Nocardia* sp., також виділені зі зразків морської води, були здатні до синтезу п'яти нових ліпопептидів, названих пептидоліпінами В–F [39]. Компоненти В та Е чинили помірну антибактеріальну дію щодо метицилінрезистентного та метицилінчутливого штамів *Staphylococcus aureus*. Сильна антимікробна активність щодо метицилінрезистентного стафілокока притаманна також антибіотику наргеніцину А₁, синтезованому *Nocardia* sp. CS682 [26, 27]. Окрім того, цей антибіотик за присутності 1,25-дигідроксивітаміну D₃ або ретинолової кислоти пригнічував проліферацію та стимулював диференціацію клітин лейкозу HL-60 [33].

У роботі [20] описано антибіотик трансваленцин А, що є комплексом цинку з органічною кислотою, яка містить фенол як

замісник, та синтезується патогенним штамом *Nocardia transvalensis* IFM 10065. Трансваленцин А виявляв антимікробну дію щодо грибів *Trichophyton mentagrophytes* IFM 10489, *Paecilomyces variotii* IFM 40913 і *Cryptococcus neoformans* ATCC 92112 (МІК 16,0, 2,0 та 4,0 мкг/мл відповідно) і бактерій *Micrococcus luteus* IFM 2066 (МІК 16,0 мкг/мл) [19].

Узагальнену інформацію щодо здатності представників роду *Nocardia* синтезувати антибіотичні речовини наведено в табл. 2.

Біосинтез ПАР

Окрім антибіотиків, представники роду *Nocardia* є продуцентами ПАР, однак у літературі дані про їх синтез обмежені. Так, у 2000 р. з'явилося перше повідомлення про здатність *Nocardia* sp. L-417 синтезувати ПАР на гідрофобних субстратах [47]. За хімічною природою ПАР штаму L-417 представлені сумішшю жирних кислот, які знижували поверхневий натяг води до 28 мН/м, виявляли високу емульгувальну активність, а значення критичної концентрації міцелування становило 20 мг/л. Також ПАР *Nocardia* sp. L-417 були стійкими в широкому діапазоні рН (2–12) і не втрачали своїх властивостей під час кип'ятіння упродовж 3 год.

У сучасних оглядах літератури, присвячених мікробним ПАР, є інформація про здатність бактерій роду *Nocardia* синтезувати поверхнево-активні гліколіпіди, у тому числі трегалозоміколати [49]. При цьому автори послуговуються інформацією кінця 80-х рр. ХХ ст., коли в літературі було описано штам *Nocardia erythropolis* — продуцент трегалозоміколатів. Однак дещо пізніше штам *Nocardia erythropolis* був рекласифікований як *Rhodococcus erythropolis*.

Таким чином, дослідження синтезу метаболітів представниками роду *Nocardia* та можливості їх застосування для очищення довкілля від ксенобіотиків, а також для створення альтернативних антимікробних препаратів є актуальним завданням сьогодні.

Біотехнологічний потенціал *Nocardia vaccinii* К-8

У попередніх дослідженнях із забруднених нафтою зразків ґрунту нами було ізолювано штам нафтоокиснювальних бактерій, ідентифікований як *Nocardia vaccinii* К-8, та встановлено його здатність до асиміляції вуглеводневих субстратів (нафта,

Таблиця 2. Антибіотичні речовини, синтезовані деякими бактеріями роду *Nocardia*

Штам	Біологічно активна сполука	Антимікробна дія щодо	Література
<i>Nocardia levis</i> МК-VL 113	Біс-(2-етилгексил)фталат, біс-(5-етилгептил)фталат	<i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>E. floccosum</i> , <i>A. niger</i> , <i>F. oxysporum</i>	[22]
<i>Nocardia</i> sp. ALAA 2000	Аяміцин (1,1-дихлоро-4-етил-5-(4-нітрофеніл)-гексан-2-он)	<i>E. coli</i> ATCC 10536, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 10145, <i>B. subtilis</i> ATCC 6051, <i>B. cereus</i> ATCC 9634, <i>S. aureus</i> ATCC 6538, <i>M. luteus</i> ATCC 9341, <i>M. smegmatis</i> ATCC 607, <i>C. xerosis</i> NRRL B-1397, <i>R. acuta</i> , <i>P. angusta</i> , <i>C. albicans</i>	[15]
<i>Nocardia transvalensis</i> IFM 10065	Трансвалецин А	<i>T. mentagrophytes</i> IFM 10489, <i>P. variotii</i> IFM 40913, <i>C. neoformans</i> ATCC 92112 <i>M. luteus</i> IFM 2066	[19, 20]
<i>Nocardia</i> sp. ATCC 202099	Нокатіоцин	представників родів <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i> та <i>Moraxella</i> , у тому числі й мультирезистентних	[23, 24]
<i>Nocardia brasiliensis</i> IFM 0995	Бразилібактин А	<i>M. luteus</i> , <i>S. aureus</i>	[37]
<i>Nocardia brasiliensis</i> IFM 0667	Нокарацин А, В Бразиліхінон D	кислотостійких бактерій <i>N. asteroides</i> , <i>G. bronchialis</i> , <i>M. smegmatis</i>	[36]
<i>Nocardia brasiliensis</i>	Не ідентифіковано	патогену <i>V. damsela</i>	[16]
<i>Nocardia pseudobrasiliensis</i> IFM 0757	Нокардитіацин (тіопептид)	рифампіцинрезистентного штаму <i>M. tuberculosis</i>	[29]
<i>Nocardia</i> sp. CS682	Наргеніцин А1	метицилінрезистентного штаму <i>S. aureus</i>	[26, 27]
<i>Nocardia</i> sp.	Пептидоліпін В, Е (ліпопептид)	метицилінрезистентного та метицилінчутливого штамів <i>S. aureus</i>	[39]
<i>Nocardia dassonvillei</i> BM-17	Феназин	<i>C. albicans</i>	[17]

рідкі парафіни, гексадекан), причому ступінь утилізації цих гідрофобних сполук підвищувався за умов іммобілізації бактеріальних клітин [50].

На першому етапі встановлено можливість синтезу метаболітів з поверхнево-активними та емульгуювальними властивостями за умов росту *N. vaccinii* К-8 на гідрофільних (глюкоза, етанол) і гідрофобних (гексадекан, рідкі парафіни) субстратах. Підібрано оптимальні умови культивування на середовищі з глюкозою та етанолом (концентрація субстратів 1%, тривалість культивування 120–168 год, наявність у середовищі іонів заліза та дріжджового автолізу), які дали змогу збільшити показники синтезу ПАР майже утричі.

Подальші дослідження були спрямовані на пошук шляхів інтенсифікації синтезу ПАР під час культивування *N. vaccinii* К-8 на гліцеролі [51, 52]. Вибір такого субстрату зумовлений тим, що на сьогодні у світі досить гостро постала проблема утилізації гліцеролу — побічного продукту, утворюваного у величезних кількостях під час виробництва біодизеля з рослинної і тваринної сировини [53–55]. Найперспективнішим

шляхом вирішення цієї проблеми вважають використання гліцеролу як ростового субстрату в біотехнологічних виробництвах практично цінних продуктів. Використання однофакторних експериментів і математичних методів планування для оптимізації складу живильного середовища (0,5 г/л NaNO_3 , 0,3 г/л дріжджового екстракту і 1,5% гліцеролу) уможливило підвищення синтезу ПАР *N. vaccinii* К-8 у 4 рази [52]. За хімічним складом ПАР, синтезовані *N. vaccinii* К-8 на гліцеролі, є комплексом нейтральних, гліко- та аміноліпідів. Нейтральні ліпіди представлені міколовими кислотами та *n*-алкановими кислотами, гліколіпіди — трегалозодіацелатами та трегалозоміколатами [52].

Отже, одержані нами результати є одними з перших даних, що свідчать про здатність представників роду *Nocardia* синтезувати незвичайні за хімічним складом ПАР на гліцеролвмісному середовищі.

Виходячи з хімічної природи ПАР ми припустили, що можна підвищити ефективність процесу їх біосинтезу внесенням у середовище цитрату натрію — регулятора синтезу ліпідів і C_4 -дикарбонових кислот — попередників глюконеогенезу, що функціо-

нує за вирощування бактерій на неуглеводних субстратах. Показано, що одночасне внесення в середовище з гліцеролом 0,2% фумарату і 0,2% цитрату на початку стаціонарної фази росту штаму К-8 супроводжувалося підвищенням на 40% кількості синтезованих ПАР порівняно з культивуванням бактерій на середовищі без органічних кислот [52].

Наступними дослідженнями встановлено здатність *N. vaccinii* К-8 рости на таких ароматичних сполуках (0,3–0,5%), як фенол, бензол, толуол, нафталін, гексахлорбензол, сульфанилова та N-фенілантранілова кислота. При цьому під час послідовних пересівів *N. vaccinii* К-8 на цих субстратах спостерігали не лише стабільний ріст штаму К-8, а й підвищення концентрації біомаси в середньому на 30–40% (табл. 3). У деяких випадках асиміляція сполук ароматичної природи штамом К-8 супроводжувалася синтезом ПАР. Враховуючи стабільний ріст *N. vaccinii* К-8 на зазначених субстратах, можна вважати досліджуваний штам ефективним для очищення довкілля від ксенобіотиків ароматичної природи.

Практичне використання позаклітинних метаболітів *N. vaccinii* К-8

Серед продуктів мікробного синтезу, широко застосовуваних у різних галузях промисловості та в природоохоронних технологіях для очищення довкілля від ксенобіотиків, що вкрай актуально на тлі сучасної екологічної кризи, є мікробні ПАР, у тому числі й синтезовані представниками роду *Nocardia* [47, 49]. Однією з основних переваг мікробних ПАР перед синтетичними аналогами є їхня біодеградабельність. Разом з тим біологічна деструкція ПАР може бути суттєвою перешкодою для їх ефективного практичного використання. Наші експерименти показали, що мікроорганізми різних таксономічних груп (бактерії, гриби і дріжджі) здатні асимілювати ПАР *N. vaccinii* К-8 як єдине джерело вуглецю та енергії, а штам К-8 не спроможний використовувати власні ПАР як джерело вуглецевого живлення. Застосування як біоциду формаліну в концентрації 0,5% дає змогу подовжити до 30 діб термін зберігання ПАР *N. vaccinii* К-8 без суттєвої втрати їх поверхнево-активних властивостей.

Таблиця 3. Ріст *Nocardia vaccinii* К-8 на ароматичних сполуках

Ароматичні сполуки	Концентрація, % (об'ємна частка)	Біомаса (г/л) за умови послідовних пересівів		
		1	2	3
Фенол	0,3	0,2±0,01	0,25±0,01	0,3±0,01
	0,5	0,25±0,01	0,35±0,01	0,45±0,02
Бензол	0,3	0,18±0,01	0,2±0,01	0,2±0,01
	0,5	0,25±0,01	0,3±0,01	0,35±0,01
Толуол	0,3	0,17±0,01	0,2±0,01	0,2±0,01
	0,5	0,2±0,01	0,25±0,01	0,3±0,01
Нафталін	0,3	0,2±0,01	0,23±0,01	0,25±0,01
	0,5	0,25±0,01	0,3±0,01	0,4±0,02
N-фенілантранілова кислота	0,3	0,2±0,01	0,22±0,01	0,25±0,01
	0,5	0,25±0,01	0,25±0,01	0,3±0,01
Сульфанилова кислота	0,3	0,15±0,01	0,15±0,01	0,17±0,01
	0,5	0,16±0,01	0,18±0,01	0,2±0,01
Гексахлорбензол	0,3	0,2±0,01	0,25±0,01	0,25±0,01
	0,5	0,3±0,01	0,3±0,01	0,35±0,01

Примітка: як інокулят для послідовних пересівів використовували культуру із середини експоненційної фази росту в кількості 10% від об'єму середовища.

Показано можливість використання клітин *N. vaccinii* К-8 та їх метаболітів для очищення води, ґрунту і піску від нафти. Досить високих результатів біодеградації нафти у воді було досягнуто із застосуванням іммобілізованих клітин *N. vaccinii* К-8 на керамзиті на спеціально сконструйованій установці (рис. 4). За продуктивності 0,68 л/год ефективність установки за концентрації нафти 100 мг/л становила близько 99% і знижувалася до 90% з підвищенням концентрації нафти до 250 мг/л [50]. Установа працювала з високою продуктивністю упродовж 30 діб з періодичним внесенням діамонійсульфату в концентрації 0,01%.

Наші подальші дослідження показали можливість очищення забрудненої нафтою води (2,6 г/л) за присутності клітин *N. vaccinii* К-8. Так, через 30 діб у разі використання суспензії клітин *N. vaccinii* К-8 ($9,8 \cdot 10^7$ КУО/мл) ступінь деструкції нафти досягав 94–98% (рис. 5).

Використання як препаратів ПАР супернатанта і нативної культуральної рідини супроводжувалося розкладанням 60–67% нафти через 30 діб.

Інтенсифікація деструкції нафти за присутності препаратів *N. vaccinii* К-8 пов'язана з активацією природної нафтоокиснювальної мікрофлори ПАР. Так, контроль природної мікрофлори води, проведений упродовж експерименту, показав збільшення загальної кількості мікроорганізмів (навіть на порядки) в усіх зразках, оброблених препаратами штаму К-8 (зокрема й суспензією клітин).

Встановлено, що ступінь очищення забрудненого ґрунту (20 г/кг ґрунту) після оброблення препаратами ПАР *N. vaccinii* К-8 у вигляді супернатанта і нативної культуральної рідини в концентрації 100–300 мл/кг ґрунту на 30-ту добу спостереження становив 55–85% (табл. 4).

Наступні експерименти показали, що нативній культуральній рідині *N. vaccinii* К-8 притаманні високі нафтовідмивальні властивості. Так, за присутності препаратів ПАР *N. vaccinii* К-8 (30 мл) відмивання піску від нафти (0,1 мл нафти/1 г піску) становило 90%.

Позаклітинні метаболіти представників роду *Nocardia* багато науковців розглядають як альтернативу синтетичним антимікроб-

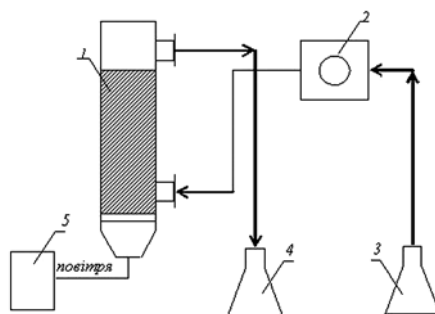


Рис. 4. Схема установки для очищення води від нафтопродуктів іммобілізованими мікроорганізмами:

1 — колонка з керамзитом; 2 — перистальтичний насос; 3 — колба із забрудненою водою; 4 — колба з очищеною водою; 5 — мікрокомпресор

Таблиця 4. Ступінь деструкції нафти у ґрунті ПАР *N. vaccinii* К-8

ПАР	Концентрація ПАР, мл/кг ґрунту	Концентрація залишкової нафти в пробі, г/кг ґрунту	Ступінь деструкції нафти, %
Культуральна рідина	100	$5,3 \pm 0,16$	$74 \pm 2,3$
	200	$5,9 \pm 0,18$	$71 \pm 2,1$
	300	$3,4 \pm 0,10$	$83,5 \pm 2,5$
Супернатант	100	$9,2 \pm 0,28$	$55 \pm 1,7$
	200	$7,9 \pm 0,24$	$61,2 \pm 1,8$
	300	$5,6 \pm 0,17$	$72,7 \pm 2,2$
Контроль	0	$20,4 \pm 0,32$	0

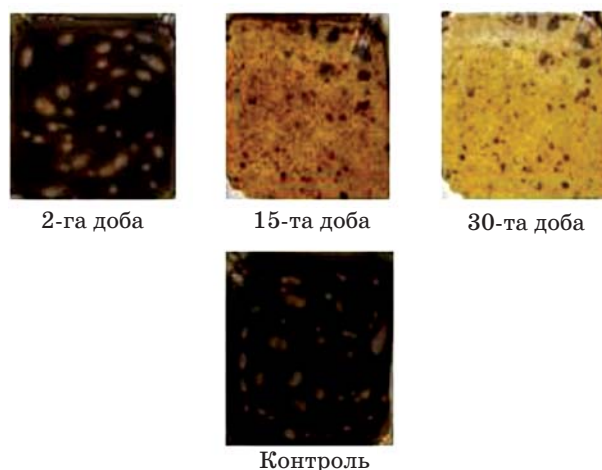


Рис. 5. Зміна структури нафтової плівки після оброблення суспензією клітин *N. vaccinii* К-8

ним препаратом [15–17, 19–21, 22–24, 26–29, 33, 36, 37, 39]. Наші експерименти показали, що за присутності ПАР *N. vaccinii* К-8 (0,085–0,85 мг/мл) кількість клітин фітопатогенних бактерій *Pectobacterium carotovorum* УКМ В-1095, *Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens* УКМ В-1154, *Pseudomonas syringae* УКМ В-1027, *Pseudomonas corrugate* 9070, *Pseudomonas syringae* pv. *atropfaciens* УКМ В-1015, *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* 8571, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* УКМ В-1049, *Xanthomonas vesicatoria* 7790, *Xanthomonas translucens* pv. *translucens* 7696 зменшувалась на 80–98%. Слід зазначити, що не тільки ПАР штаму К-8, а й іншим позаклітинним метаболітам, що містяться у водній фазі після екстракції ПАР сумішшю метанолу і хлороформу, притаманні антимікробні властивості. Причому в цьому разі спостерігали 100%-ну загибель усіх досліджуваних фітопатогенних бактерій.

Таким чином, дані літератури і результати експериментів авторів свідчать про можливість використання бактерій роду

Nocardia для деструкції аліфатичних, ароматичних та гетероциклічних ксенобіотиків, таких як лінійні алкани (C_{12} – C_{16}), *n*-октан, пентадеканол, ейкозан (C_{20}), октакозан (C_{28}), гексатриаконтан (C_{36}), пристан, октилбензен, фенатрен, антрацен, фенол, нітробензен, 3-нітронафтаден, 3-нітробіфеніл, 4-нітрофенол, піридин, α -піколін тощо.

За допомогою клітин нокардій та їхніх ензиматичних систем можуть бути здійснені процеси біотрансформації ізофлавоноїду формонетину у даїдзен та 3',4',7-тригідроксіізофлаван, *cis*-епоксисукцинату в L(+)-тартарову кислоту, 3-ціанопіридину в нікотинову кислоту, а також дерацемізація ібупрофену.

Представники роду *Nocardia* також є продуцентами ПАР та низки сполук з антимікробною і цитотоксичною дією щодо клітин злоякісних пухлин (бразилібактин А, нокарацин А, В, С, бразиліхінон D, наргеніцин А₁ тощо). Отримані результати свідчать про наявність у бактерій цього роду значного біотехнологічного потенціалу, що уможливорює використання їх у промисловості, екологічній та медичній галузях.

ЛІТЕРАТУРА

1. Webley D. M., Duff R. B., Farmer V. C. Evidence for β -oxidation in the metabolism of saturated aliphatic hydrocarbons by soil species of *Nocardia* // Nature. — 1956. — V. 178. — P. 1467–1468.
2. Розанова Е. П. Использование углеводов микроорганизмами // Успехи микробиол. — 1967. — № 4. — С. 61–96.
3. Cain R. B. The microbial metabolism of nitroaromatic compounds // J. Gen. Microbiol. — 1958. — V. 19, N 1. — P. 1–14.
4. Norris D. B., Trudgill P. W. The purification and properties of cyclohexanone oxygenase from *Nocardia globerula* CL 1 // Biochem. J. — 1972. — V. 130, N 1. — P 30.
5. Sariaslani F. S., Harper D. B., Higgins I. J. Microbial degradation of hydrocarbons. Catabolism of 1-phenylalkanes by *Nocardia salmonicolor* // Ibid. — 1974. — V. 140, N 1. — P. 31–45.
6. Cox D. P., Goldsmith C. D. Microbial conversion of ethylbenzene to 1-phenethanol and acetophenone by *Nocardia tartaricans* ATCC 31190 // Appl. Environ. Microbiol. — 1979. — V. 38, N 3. — P. 514–520.

7. *Celmer W. D., Chmurny G. N., Moppett C. E. et al.* Structure of natural antibiotic CP-47,444 // *J. Am. Chem. Soc.* — 1980. — V. 102, N 12. — P. 4203–4209.
8. *Нестеренко О. А., Квасников Е. И., Ногина Т. М.* Нокардиоподобные и коринеподобные бактерии. — К.: Наук. думка, 1985. — 336 с.
9. *Orchard V.* The ecology of *Nocardia* and related taxa / Actinomycetes. Stuttgart. — New York: Fisher, 1981. — P. 167–180.
10. *Yassin A. F., Straubler B., Schumann P. et al.* *Nocardia puris* sp. Nov // *Int. J. Syst. Bacteriol.* — 2003. — V. 53, N 5. — P. 1595–1599.
11. *Ali N., Dashti N., Al-Mailem D. et al.* Indigenous soil bacteria with the combined potential for hydrocarbon consumption and heavy metal resistance // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* — 2012. — V. 19, N 3. — P. 812–820.
12. *Bhatia M., Singh D. H.* Biodegradation of commercial linear alkyl benzenes by *Nocardia amarae* // *J. Biosci.* — 1996. — V. 21, N 4. — P. 487–496.
13. *Choi K.-Y., Park H.-Y., Kim B.-G.* Characterization of bi-functional CYP154 from *Nocardia farcinica* IFM10152 in the O-dealkylation and *ortho*-hydroxylation of formononetin // *Enz. Microb. Technol.* — 2010. — V. 47, N 7. — P. 327–334.
14. *De Pasquale C., Palazzolo E., Lo Piccolo L. et al.* Degradation of long-chain n-alkanes in soil microcosms by two actinobacteria // *J. Environ. Sci. Health. A. Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.* — 2012. — V. 47, N 3. — P. 374–381.
15. *El-Gendy M. M. A., Hawas W. U., Jaspars M.* Novel bioactive metabolites from a marine derived bacterium *Nocardia* sp. ALAA 2000 // *J. Antibiot.* — 2008. — V. 61, N 6. — P. 379–386.
16. *El-Sersy N. A., Abou-Elela M. G.* Antagonistic effect of marine *Nocardia brasiliensis* against the pathogen *Vibrio damsela*: Application of Plackett-Burman experimental design to evaluate factors affecting the production of the antibacterial agent // *Int. J. Oceans Oceanogr.* — 2006. — V. 1, N 1. — P. 141–150.
17. *Gao X., Lu Y., Xing Y. et al.* A novel anticancer and antifungus phenazine derivative from a marine actinomycete BM-17 // *Microbiol. Res.* — 2012. — V. 167, N 10. — P. 616–622.
18. *Hanne L. F., Kirk L. L., Appel S. M. et al.* Degradation and induction specificity in actinomycetes that degrade p-nitrophenol // *Appl. Environ. Microbiol.* — 1993. — V. 59, N 10. — P. 3505–3508.
19. *Hoshino Y., Mukai A., Yazawa K. et al.* Transvalencin A, a thiazolidine zinc complex antibiotic produced by a clinical isolate of *Nocardia transvalensis* I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activities // *J. Antibiot. (Tokyo).* — 2004. — V. 57, N 12. — P. 797–802.
20. *Hoshino Y., Mukai A., Yazawa K. et al.* Transvalencin A, a thiazolidine zinc complex antibiotic produced by a clinical isolate of *Nocardia transvalensis* II. Structure elucidation // *Ibid (Tokyo).* — 2004. — V. 57, N 12. — P. 803–807.
21. *Imai T., Yazawa K., Tanaka Y. et al.* Productivity of antimicrobial substances in pathogenic actinomycetes *Nocardia brasiliensis* // *Microbiol. Cult. Coll.* — 1997. — V. 13. — P. 103–108.
22. *Kavitha A., Prabhakar P., Vijayalakshmi M. et al.* Production of bioactive metabolites by *Nocardia levis* MK-VL 113 // *Lett. Appl. Microbiol.* — 2009. — V. 49, N 4. — P. 484–490.
23. *Leet J. E., Li W., Ax H. A. et al.* Nocathiacins, new thiazolyl peptide antibiotics from *Nocardia* sp. II. Isolation, characterization, and structure determination // *J. Antibiot. (Tokyo).* — 2003. — V. 56, N 3. — P. 232–242.
24. *Li W., Left J. E., Ax H. A. et al.* Nocathiacins, new thiazolyl peptide antibiotics from *Nocardia* sp. I. Taxonomy, fermentation and biological activities // *Ibid (Tokyo).* — 2003. — V. 56, N 3. — P. 226–231.
25. *Lievano R., Pürez H. I., Manjarrez N. et al.* Hydrolysis of ibuprofen nitrile and ibuprofen amide and deracemisation of ibuprofen using *Nocardia corallina* B-276 // *Molecules.* — 2012. — V. 17, N 3. — P. 3148–3154.
26. *Maharjan S., Koju D., Lee H. C. et al.* Metabolic engineering of *Nocardia* sp. CS682 for enhanced production of nargenicin A₁ // *Appl. Biochem. Biotechnol.* — 2012. — V. 166, N 3. — P. 805–817.
27. *Maharjan S., Aryal N., Bhattarai S. et al.* Biosynthesis of the nargenicin A₁ pyrrole moiety from *Nocardia* sp. CS682 // *Ibid.* — 2012. — V. 93, N 2. — P. 687–696.
28. *Mikami Y.* Biological work on medically important *Nocardia* species // *Actinomyctologica.* — 2007. — V. 21. — P. 46–51.
29. *Mukai A., Fukai T., Hoshino Ya. et al.* Nocardithiocin, a novel thiopeptide antibiotic, produced by pathogenic *Nocardia pseudobrasiliensis* IFM 0757 // *J. Antibiot.* — 2009. — V. 62, N 11. — P. 613–619.
30. *Nhi-Cong L. T., Mikolasch A., Aue S. et al.* Oxidation of aliphatic, branched chain, and aromatic hydrocarbons by *Nocardia cyriacigeorgica* isolated from oil-polluted sand samples collected in the Saudi Arabian Desert // *J. Bas. Microbiol.* — 2010. — V. 50, N 3. — P. 241–253.
31. *Padoley K. V., Mudliar S. N., Pandey R. A.* Microbial degradation of pyridine and apicoline using a strain of the genera *Pseudomonas* and *Nocardia* sp. // *Bioproc. Bios. Eng.* — 2009. — V. 32, N 4. — P. 501–510.

32. *Quatrini P., Scaglione G., De Pasquale C. et al.* Isolation of Gram-positive n-alkane degraders from a hydrocarbon-contaminated Mediterranean shoreline // *J. Appl. Microbiol.* — 2008. — V. 104, N 1. — P. 251–259.
33. *Seung H. K., Yoo J. C., Kim T. S.* Nargenicin enhances 1,25-dihydroxyvitamin D₃- and all-trans retinoic acid-induced leukemia cell differentiation via PKC β /MAPK pathways // *Biochem. Pharmacol.* — 2009. — V. 77, N 11. — P. 1694–1701.
34. *Sharma N. N., Sharma M., Bhalla T. C.* An improved nitrilase-mediated bioprocess for synthesis of nicotinic acid from 3-cyanopyridine with hyperinduced *Nocardia globerula* NHB-2 // *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* — 2011. — V. 38, N 9. — P. 1235–1243.
35. *Shetty K. V., Verma D. K., Srinikethan G.* Modelling and simulation of steady-state phenol degradation in a pulsed plate bioreactor with immobilized cells of *Nocardia hydrocarbonoxydans* // *Bioproc. Bios. Eng.* — 2011. — V. 34, N 1. — P. 45–56.
36. *Tsuda M., Nemoto A., Komaki H. et al.* Nocarasin A-C and brasiliquinone D, new metabolites from the actinomycete *Nocardia brasiliensis* // *J. Nat. Prod.* — 1999. — V. 62, N 7. — P. 1640–1642.
37. *Tsuda M., Yamakawa M., Oka S. et al.* Brasilibactin A, a cytotoxic compound from actinomycete *Nocardia brasiliensis* // *Ibid.* — 2005. — V. 68, N 3. — P. 462–464.
38. *Vasu V., Kumaresan J., Babu M. G. et al.* Active site analysis of cis-epoxysuccinate hydrolase from *Nocardia tartaricans* using homology modeling and site-directed mutagenesis // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* — 2012. — V. 93, N 6. — P. 2377–2386.
39. *Wyche T. P., Hou Y., Vazquez-Rivera E. et al.* Peptidolipins B-F, antibacterial lipopeptides from an ascidian-derived *Nocardia* sp. // *J. Nat. Prod.* — 2012. — V. 75, N 4. — P. 735–740.
40. *Zeinali M., Vossough M., Ardestani S. K.* Characterization of a moderate thermophilic *Nocardia* species able to grow on polycyclic aromatic hydrocarbons // *Lett. Appl. Microbiol.* — 2007. — V. 45, N 6. — P. 622–628.
41. *Chikere C. B., Chikere B. O., Okpokwasili G. C.* Bioreactor-based bioremediation of hydrocarbon-polluted Niger Delta marine sediment, Nigeria // *3 Biotech.* — 2012. — V. 2, N 1. — P. 53–66.
42. *Bouchez N. M., Rakatozafy H., Marchal R. et al.* Diversity of bacterial strains degrading hexadecane in relation to the mode of substrate uptake // *J. Appl. Microbiol.* — 1999. — V. 86, N 3. — P. 421–428.
43. *Coimbra C. D., Ru no R. D., Luna J. M. et al.* Studies of the cell surface properties of *Candida* species and relation to the production of biosurfactants for environmental applications // *Curr. Microbiol.* — 2009. — V. 58, N 3. — P. 245–251.
44. *Kaiser J. P., Feng Y., Bollag J. M.* Microbial metabolism of pyridine, quinoline, acridine and their derivatives under aerobic and anaerobic conditions // *Microbiol. Rev.* — 1996. — V. 60, N 3. — P. 483–498.
45. *Kaiser J. P., Feng Y., Bollag J. M.* Microbial metabolism of pyridine, quinoline, acridine and their derivatives under aerobic and anaerobic conditions // *Ibid.* — 1996. — V. 60, N 3. — P. 483–498.
46. *Rhee S. K., Lee K. Y., Chung J. C. et al.* Degradation of pyridine of *Nocardioides* sp. strain OS4 isolated from the oxic zone of a spent shale column // *Can. J. Microbiol.* — 1997. — V. 43, N 1–3. — P. 205–209.
47. *Kim S. H., Lim E. J., Lee S. O. et al.* Purification and characterization of biosurfactants from *Nocardia* sp. L-417 // *Biotechnol. Appl. Biochem.* — 2000. — V. 31, N 3. — P. 249–253.
48. *Hayakawa M.* Studies on the isolation and distribution of rare actinomycetes in soil // *Actinomycetologica.* — 2008. — V. 22, N 1. — P. 12–19.
49. *Banat I., Franzetti A., Gandolfi I. et al.* Microbial biosurfactants production, applications and future potential // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* — 2010. — V. 87, N 2. — P. 427–444.
50. *Пирог Т. П., Шевчук Т. А., Волошина И. Н. и др.* Использование иммобилизованных микроорганизмов для очистки воды от нефти // *Прикл. биохим. микробиол.* — 2005. — Т. 41, № 1. — С. 58–63.
51. *Пирог Т. П., Ігнатенко С. В.* Мікробні поверхнево-активні речовини: проблеми промислового виробництва // *Біотехнологія.* — 2008. — Т. 1, № 4. — С. 29–38.
52. *Пирог Т. П., Гриценко Н. А., Хомяк Д. И. и др.* Оптимизация синтеза поверхностно-активных веществ *Nocardia vaccinii* К-8 при биоконверсии отходов производства биодизеля // *Микробиол. журнал.* — 2011. — Т. 73, № 4. — С. 15–24.
53. *Ciesielski S., Pokoj T., Klimiuk E.* Cultivation-dependent and independent characterization of microbial community producing polyhydroxyalkanoates from raw glycerol // *J. Microbiol. Biotechnol.* — 2010. — V. 20, N 5. — P. 853–861.
54. *Da Silva G., Mack M., Contiero J.* Glycerol: A promising and abundant carbon source for industrial microbiology // *Biotechnol. Adv.* — 2009. — V. 27, N 1. — P. 30–39.
55. *Yazdani S., Gonzalez R.* Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry // *Curr. Opin. Biotechnol.* — 2007. — V. 18, N 3. — P. 213–219.

БАКТЕРИИ РОДА *NOCARDIA* КАК ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

Т. П. Пирог, Д. И. Хомяк, Н. А. Гриценко,
А. П. Софилканич, А. Д. Конон, К. А. Погора

Национальный университет
пищевых технологий, Киев, Украина

E-mail: tapirog@nuft.edu.ua

Приведены данные литературы и результаты осуществленных авторами экспериментов о биотехнологическом потенциале бактерий рода *Nocardia*. Рассмотрено использование этих микроорганизмов как деструкторов алифатических (октан, пентадеканол, эйкозан, октакозан, гексатриаконтан, пристан), ароматических (фенол, октилбензен, фенатрен, антрацен), нитроароматических (4-нитрофенол), гетероциклических (пиридин, α -пиколин) углеводородов. Показаны перспективы использования нокардий в процессах биотрансформации веществ (образование даидзена, ибупрофена, никотиновой кислоты) и синтеза некоторых применяемых на практике метаболитов, в частности антимикробных и цитотоксических веществ (аямицин, трансваленин А, нокатионин, бразилибактин А, нокарацины и др.), а также веществ с поверхностно-активными и эмульгирующими свойствами.

Обобщены экспериментальные результаты относительно оптимизации условий культивирования изолированного из загрязненной нефтью почвы штамма нефтеокисляющих бактерий *Nocardia vaccinii* К-8 и интенсификации синтеза поверхностно-активных веществ на глицероле — побочном продукте производства биодизеля. Установлена способность штамма К-8 ассимилировать некоторые ароматические соединения (фенол, бензол, толуол, нафталин, гексахлорбензол, сульфаниловая и N-фенилантраниловая кислоты, 0,3–0,5%). Показано, что через 30 сут максимальная степень деструкции (94–98%) нефти (2,6 г/л) в воде наблюдалась при обработке суспензией клеток *N. vaccinii* К-8 ($9,8 \cdot 10^7$ КОЕ/мл), в то время как для очистки загрязненной нефтью почвы (20 г/кг) эффективным оказался препарат поверхностно-активных веществ (100–300 мл/кг) в виде постферментационной культуральной жидкости (деструкция 74–83% нефти). Установлено, что поверхностно-активные вещества (0,085–0,85 мг/мл) и другие внеклеточные метаболиты штамма К-8 проявляют антимикробное действие против ряда фитопатогенных бактерий родов *Pseudomonas* и *Xanthomonas*, количество которых в присутствии исследуемых препаратов снижалось на 80–100%.

Ключевые слова: бактерии рода *Nocardia*, деградация нефтяных загрязнений, биотрансформация, антибиотики, поверхностно-активные вещества.

BACTERIA OF *NOCARDIA* GENUS AS OBJECT OF BIOTECHNOLOGY

T. P. Pirog, D. I. Khomyak, N. A. Grytsenko,
A. P. Sofilkanych, A. D. Konon, K. A. Pokora

National University of Food Technologies,
Kyiv, Ukraine

E-mail: tapirog@nuft.edu.ua

The literature and own experimental data, concerning biotechnological potential of bacteria of *Nocardia* genus are given. The use of these microorganisms as destructors of aliphatic (octane, pentadecanol, eicosane, octacosane, hexatriacontane, pristane), aromatic (phenol, octylbenzene, phenanthrene, anthracene), nitroaromatic (4-nitrophenol), heterocyclic (pyridine, α -picoline) hydrocarbons is described. The prospects of use of *Nocardia* in processes of substances bio-transformation (production of daidzein, ibuprofen, nicotinic acid) and synthesis of some valuable metabolites, in particular antimicrobial and cytotoxic substances (ayamycin, transvalencin A, nocathiacin, brasilibactin A, nocaracins etc.) as well as substances with surface-active and emulsifying properties are discussed.

The own experimental data concerning optimization of cultivation conditions and intensification of surfactant synthesis on glycerol (by-product of biodiesel production) by oil oxidizing bacteria strain *Nocardia vaccinii* K-8, that was isolated from oil polluted samples of soil are presented. The ability of strain K-8 to assimilate some aromatic compounds (phenol, benzene, toluene, naphthalene, hexachlorbenzene, sulfanilic acid and N-phenylanthranilic acid, 0.3–0.5%) was determined. It was shown that the highest oil destruction degree (94–98%) in polluted water (2.6 g/L) was achieved in the case of treatment with suspension of *N. vaccinii* K-8 cells ($9.8 \cdot 10^7$ CFU/mL) after 30 days, while surfactant preparation of post fermentative cultural liquid (100–300 mL/kg) was more effective for remediation (destruction of 74–83% of oil) of oil polluted soil (20 g/kg). It was determined that surfactants (0.085–0.85 mg/mL) and other exocellular metabolites of strain K-8 possess antimicrobial activity against some phytopathogen bacteria of *Pseudomonas* and *Xanthomonas* strains. In this connection the quantity of living cells decreased by 80–100% after the treatment with the investigated preparations.

Key words: bacteria of *Nocardia* genus, destruction of oil pollution, biotransformation, antibiotics, surfactants.