

Т.М. Ногина, Т.У. Думанская, Л.А. Хоменко, А.Г. Кистень

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного НАН Украины,  
ул. Академика Заболотного, 154, Киев ГСП, Д03680, Украина

## ВЛИЯНИЕ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ И ЖЕЛЕЗА НА УРОВЕНЬ УСВОЕНИЯ ДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА ШТАММАМИ АКТИНОБАКТЕРИЙ

Установлено, что присутствие в среде ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$  в 1,2–1,3 раза увеличивает уровень усвоения углеводов актинобактериями. Показана возможность совместного роста бинарных культур актинобактерий на минеральной среде с дизельным топливом без снижения уровня усвоения этого субстрата по сравнению с монокультурами. В условиях совместного культивирования штаммов *Rhodococcus erythropolis* IMB В-7277 и *Dietzia maris* IMB В-7278 в течение 30 ч в лабораторном ферментере «Biotec» (скорость перемешивания 500 об/мин, степень аэрации 0,3 л/л культуральной жидкости в мин, сульфитное число 1,5 г  $\text{O}_2$  / л ч.) на среде с 1,0 % дизельного топлива в присутствии 4 мг/л ионов  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  и 1 г/л дрожжевого экстракта уровень усвоения субстрата составил 87,8 %, а концентрация биомассы – 2,0 г/л.

Ключевые слова: актинобактерии, дизельное топливо, ионы  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ , деструкция углеводов, совместное культивирование.

Эффективность усвоения углеводов актинобактериями в значительной степени зависит от их способности к сверхсинтезу основных липидных компонентов клеточных стенок (КС) – миколовых кислот, как свободных, так и ковалентно связанных с арабиногалактаном. Они локализованы на внешней поверхности КС и образуют вместе с миколатами трегалозы основу внешнего липидного барьера проницаемости гидрофобного субстрата в клетку [4, 15]. Эти вещества увеличивают уровень липофильности КС актинобактерий, обеспечивая прямой контакт клеток с водонерастворимым субстратом, и преобладают в составе поверхностно активных веществ (ПАВ), которые синтезируются данными микроорганизмами при росте на средах с углеводородами, способствуя тем самым их более активной деструкции [4, 7].

На степень усвоения углеводов этими микроорганизмами значительное влияние оказывают условия культивирования, состав сред, в частности, наличие в них микроэлементов и факторов роста, и другие параметры. Данные литературы свидетельствуют о том, что такие компоненты среды как ионы  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  и дрожжевой автолизат стимулируют у актинобактерий накопление биомассы и образование ПАВ липидной и гликолипидной природы [5, 12, 14]. Стимулирующее влияние ионов  $\text{Ca}^{2+}$  на рост, липидсинтезирующую и углеводородокисляющую активность актинобактерий, в частности представителей вида *Rhodococcus erythropolis*, связан с участием этих ионов в ряде важных метаболических процессов, в том числе, синтезе АТФ, активации протеинкиназы С, фосфолипаз А2 и С. Показано, что для нормального функционирования клетки необходима низкая концентрация ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , а накопление их в цитозоле приводит к гибели клетки [5, 14]. Необходимость присутствия в среде культивирования достаточного количества ионов  $\text{Fe}^{2+}$  у многих нефтеокисляющих микроорганизмов, включая и актинобактерии, объясняется тем, что окисление углеводов у них осуществляется под действием трехкомпонентного железосодержащего алкангидроксилазного ферментного комплекса, состоящего из мембраносвязанных алканмонооксигеназ двух растворимых белков – железосеропротеида рубредоксина и рубредоксинредуктазы [5, 6, 12].

В последние годы показано успешное применение совместного культивирования штаммов актинобактерий с целью оптимизации биотехнологии получения высокоэффективных нефтеокисляющих полибактериальных препаратов [3, 10, 11]. Целью работы было определение влияния ионов  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  и дрожжевого экстракта на уровень

усвоения углеводов штаммами актинобактерий в условиях их отдельного и совместного глубинного культивирования на минеральной среде с дизельным топливом.

**Материалы и методы.** Объектами исследований были штаммы *Rhodococcus erythropolis* IMB B-7012 и IMB B-7277, *Dietzia maris* IMB B-7278 и *Gordonia rubripertincta* IMB Ac-5005, входящие в состав препарата «Эколан-М» и депонированные в Депозитарии Института микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного НАН Украины.

При определении влияния ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$  на уровень усвоения дизельного топлива (ДТ) штаммы выращивали на жидкой минеральной среде следующего состава (г/л):  $\text{KNO}_3$  – 3,0,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,28,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$  – 1,2,  $\text{NaCl}$  – 2,0,  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,2, вода – до 1 дм<sup>3</sup>. В среду дополнительно вносили по 4 мг/л ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$  в составе солей  $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ . Источником углерода и энергии служило ДТ – 0,5 % (по объему). Влияние на рост штаммов дрожжевого экстракта, при его концентрации в среде – 1,0 г/л определяли на среде, содержащей ионы  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ . Как инокулят использовали суспензию клеток 48 ч культур, выращенных на мясопептонном агаре (МПА) или культуры из экспоненциальной фазы роста (48 ч), выращенные на жидкой минеральной среде с 0,5 % ДТ. Количество посевного материала с титром клеток  $10^8$  КОЕ/мл при отдельном культивировании составляло 5 % от объема засеваемой среды, а при совместном росте – 10 % (по 5 % каждой культуры). Культивирование штаммов проводили в колбах емкостью 750 мл с рабочим объемом 100 мл на качалках (210 об/мин) при температуре 28 °С в течение 72 ч.

Определение параметров отдельного и совместного культивирования штаммов в лабораторном ферментере «Biotec» (Швеция) объемом 4 л (рабочий объем – 2,4 л) проводили на минеральной среде, дополнительно содержащей по 4 мг/л ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ , 1 г/л дрожжевого экстракта и 1 % ДТ. Ферментацию осуществляли в течение 30 час при температуре 28 °С, степени аэрации – 0,3 л/л культуральной жидкости в мин и скорости перемешивания – 500 об/мин. Интенсивность аэрации, которая характеризуется скоростью растворения кислорода в единице объема культуральной жидкости за единицу времени, оценивали по сульфитному числу [13]. Инокулятом служили 48 ч культуры штаммов, выращенные отдельно на минеральной среде с 0,5 % ДТ. Количество посевного материала при отдельном культивировании составляло 4 %, а при совместном – 8 % (по 4 % каждой культуры). В процессе роста культур корректировку pH среды проводили с помощью 5 N раствора HCl.

Количество углеводов в среде определяли на анализаторе нефтепродуктов АН-1 с предварительной их экстракцией четыреххлористым углеродом [9]. Уровень усвоения углеводов дизельного топлива (Д, %) рассчитывали по формуле:

$$Д (\%) = \frac{C_n - C_o}{C_o} \times 100$$

где:  $C_n$  – начальное количество углеводов в среде в мг/л;

$C_o$  – остаточное количество углеводов в среде в мг/л.

Биомассу определяли по оптической плотности культуральной жидкости (КЖ) и весовым методом (абсолютно сухая биомасса) после отмывки КЖ гексаном для удаления из нее остатков дизельного топлива. Титр клеток (КОЕ/мл) определяли по методу Коха на среде МПА.

Все опыты выполняли в трех повторностях, статистическую обработку данных проводили с использованием компьютерной программы Microsoft Office Excel 2003.

**Результаты и их обсуждение.** Проведенные нами ранее исследования показали, что штаммы *Rhodococcus erythropolis* IMB B-7012, IMB B-7277, *Dietzia maris* IMB B-7278 и *Gordonia rubripertincta* IMB Ac-5005 в процессе роста на углеводородных субстратах синтезируют ПАВ, основными компонентами которых являются моно- и димиколаты трегалозы [1]. Учитывая литературные данные о том, что наличие в среде культивирования ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$  [5, 6, 12, 14], стимулирует у актинобактерий синтез ПАВ, способствующих более активной утилизации углеводов, мы предположили, что указанные ионы могут оказать положительное влияние на уровень усвоения исследованными штам-

мами ДТ, которое используется как субстрат для наработки культуральной жидкости при получении нефтеокисляющего биопрепарата «Эколан-М».

При отборе штаммов для совместного культивирования мы исходили из того, что они должны отличаться уровнем гидрофобности клеточной поверхности. Это давало бы возможность культурам проводить усвоение субстрата не только на границе раздела фаз углеводород/вода, но и непосредственно в пленке углеводородов за счет проникновения в нее клеток с высокими показателями гидрофобности, что характерно, в частности, для представителей родов *Rhodococcus* и *Dietzia*. [2]. Наши предыдущие исследования показали, что штаммы *R. erythropolis* IMB B-7012 и *G. rubripertincta* IMB Ac-5005 при росте на гексадекане повышали уровень гидрофобности клеточной поверхности соответственно с 2,4 % до 59,0 % и с 9,6 % до 37,0 % [8]. Также, нами установлено (не опубликованные данные), что у штамма *D. maris* IMB B-7278 показатель гидрофобности клеток в тех же условиях увеличивался с 1,8 % до 53,0 %, а у *R. erythropolis* IMB B-7277 – с 12,0 % до 19,8 %. Учитывая эти результаты, для совместного культивирования были отобраны бинарные композиции штаммов: *R. erythropolis* IMB B-7277 и *D. maris* IMB B-7278, а также *G. rubripertincta* IMB Ac-5005 и *R. erythropolis* IMB B-7012.

Проведенные в данной работе исследования показали, что при использовании инокулята, выращенного на МПА, присутствие ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$  в среде культивирования приводило к повышению уровня деструкции ДТ монокультурами актинобактерий на 11,9–18,4 % по сравнению с этими показателями на среде без  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$  (табл. 1). Нами установлено, что совместное культивирование штаммов *R. erythropolis* IMB B-7277 и *D. maris* IMB B-7278 увеличивало усвоение ДТ на 4,6–18,5 %, а штаммов *G. rubripertincta* IMB Ac-5005 и *R. erythropolis* IMB B-7012 – на 5,3–10,8 %. Это может свидетельствовать о наличии элементов симбиотических взаимоотношений между культурами, что требует дополнительных исследований. При внесении в среду дрожжевого экстракта наблюдалось повышение уровня усвоения ДТ у всех штаммов, как в условиях отдельного, так и совместного культивирования; наибольшее увеличение этого показателя (на 11,0 %) обнаружено у штамма *R. erythropolis* IMB B-7277.

Таблица 1

**Влияние ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$  на уровень усвоения дизельного топлива актинобактериями при использовании инокулята, выращенного на МПА**

Вид, штамм	Варианты сред/уровень усвоения дизельного топлива, %		
	без $\text{Ca}^{2+}$ и $\text{Fe}^{2+}$	$\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Fe}^{2+}$	$\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Fe}^{2+}$ , ДЭ
<i>R. erythropolis</i> IMB B-7277	48,2±1,9	60,1±2,9	71,1±3,1
<i>D. maris</i> IMB B-7278	55,6±2,4	74,0±4,3	78,3±3,4
<i>G. rubripertincta</i> IMB Ac-5005	54,9±3,1	71,2±3,7	77,6±4,0
<i>R. erythropolis</i> IMB B-7012	49,8±2,3	65,7±3,9	72,4±3,8
<i>R. erythropolis</i> IMB B-7277 + <i>D. maris</i> IMB B-7278	59,8±3,5	78,6±4,1	83,9±4,9
<i>G. rubripertincta</i> IMB Ac-5005 + <i>R. erythropolis</i> IMB B-7012	58,1±3,3	76,5±3,2	81,5±4,4

**Примечание:** ДЭ – дрожжевой экстракт.

Изучение влияния способа приготовления инокулята на показатели роста штаммов показало, что использование инокулята, выращенного на минеральной среде с ДТ, при отдельном культивировании всех (за исключением *R. erythropolis* IMB B-7277) штаммов и их смешанных культур в присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$  почти не влияло на уровень усвоения ими ДТ по сравнению с использованием инокулята, выращенного на МПА (табл. 2). В отличие от этого уровень усвоения ДТ штаммом *R. erythropolis* IMB B-7277 в данных условиях уменьшился в 1,5 раза, что свидетельствует о его потребностях в дополнительных факторах роста. Подтверждением этого служит тот факт, что наличие в

среде дрожжевого экстракта повышало уровень усвоения ДТ этим штаммом в 1,8 раза. У других исследованных штаммов (за исключением *D. maris* IMB B-7278) в присутствии дрожжевого экстракта этот показатель увеличивался не так значительно.

Наибольший уровень усвоения ДТ (86,4 %) наблюдался на среде с ионами  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  и дрожжевым экстрактом при совместном культивировании штаммов *R. erythropolis* IMB B-7277 и *D. maris* IMB B-7278, которые были отобраны для дальнейших исследований. Учитывая то, что одним из основных факторов, влияющих на активность усвоения углеводов, является интенсивность аэрации среды, для установления значения этого показателя в условиях совместного роста штаммов, мы определяли сульфитное число, косвенно характеризующее этот процесс [13]. Установлено, что при данных параметрах культивирования штаммов *R. erythropolis* IMB B-7277 и *D. maris* IMB B-7278 сульфитное число было равно 0,5 г  $\text{O}_2$  / л ч.

Таблица 2

**Влияние ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$  на уровень усвоения дизельного топлива штаммами актинобактерий при использовании инокулята, выращенного на среде с углеводородами**

Вид, штамм	Варианты сред/уровень усвоения дизельного топлива, %	
	$\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Fe}^{2+}$	$\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Fe}^{2+}$ , ДЭ
<i>R. erythropolis</i> IMB B-7277	40,9±2,4	74,4±2,3
<i>D. maris</i> IMB B-7278	78,8±2,9	80,1±3,4
<i>G. rubripertincta</i> IMB Ac-5005	69,7±3,5	79,8±1,7
<i>R. erythropolis</i> IMB B-7012	65,0±1,7	73,8 ±1,9
<i>R. erythropolis</i> IMB B-7277 + <i>D. maris</i> IMB B-7278	80,7±3,2	86,4±3,6
<i>G. rubripertincta</i> IMB Ac-5005 + <i>R. erythropolis</i> IMB B-7012	79,8±2,7	84,0±3,1

Примечание: ДЭ – дрожжевой экстракт.

Исследование параметров роста этих штаммов в лабораторном ферментере «Biotec» показало, что в условиях отдельного культивирования через 30 часов концентрация биомассы у *R. erythropolis* IMB B-7277 составила 1,4 г/л, а у *D. maris* IMB B-7278 – 1,7 г/л, при этом уровень усвоения ДТ этими штаммами достигал соответственно 76,0 % и 81,5 % (табл. 3). Более высокие показатели роста изученных штаммов получены в условиях их совместного культивирования, так титр клеток увеличивался в 1000 раз, биомасса достигла 2,0 г/л, а степень усвоения ДТ составила 87,8 %. Определение сульфитного числа, которое соответствует выбранному режиму культивирования (степень аэрации – 0,3 л/л культуральной жидкости в мин, скорость перемешивания – 500 об/мин), показало, что его значение в 3 раза превышает, выявленное при культивировании в колбах на качалках и составляет 1,5 г  $\text{O}_2$  / л ч.

Таблица 3

**Показатели процесса культивирования штаммов актинобактерий в лабораторном ферментере «Biotec»**

Вид, штамм	Биомасса, г/л		Титр клеток, КОЕ/мл	Уровень усвоения дизельного топлива, %
	начальная	конечная		
<i>R. erythropolis</i> IMB B-7277	0,09±0,01	1,4±0,2	$4,7 \times 10^8$	76,0±3,1
<i>D. maris</i> IMB B-7278	0,10±0,01	1,7±0,3	$5,0 \times 10^8$	81,5±4,0
<i>R. erythropolis</i> IMB B-7277 + <i>D. maris</i> IMB B-7278	0,13±0,02	2,0±0,2	$5,4 \times 10^9$	87,8±3,6

Примечание: начальный титр клеток в среде составлял  $1 - 3,4 \times 10^6$  КОЕ/мл.

Таким образом, нами установлено стимулирующее влияние ионов  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  и дрожжевого экстракта на показатели роста и уровень усвоения дизельного топлива штаммами актинобактерий – компонентами препарата «Эколан-М». Полученные в работе данные свидетельствуют, также, о возможности использования совместного культивирования штаммов актинобактерий для наработки культуральной жидкости с высокими титрами клеток, адаптированных к усвоению углеводородного субстрата и не требующих дополнительной активации перед использованием в биотехнологиях очистки нефтезагрязненных экосистем.

**Ногіна Т.М., Думанська Т.У., Хоменко Л.А., Кістень О.Г.**

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України*

## **ВПЛИВ ІОНІВ КАЛЬЦІЮ І ЗАЛІЗА НА РІВЕНЬ ЗАСВОЄННЯ ДИЗЕЛЬНОГО ПАЛИВА ШТАМАМИ АКТІНОБАКТЕРІЙ**

### **Резюме**

Встановлено, що присутність у середовищі іонів  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{Fe}^{2+}$  в 1,2–1,3 рази збільшує рівень засвоєння вуглеводнів актинобактеріями. Показана можливість спільного росту бінарних культур актинобактерій на мінеральному середовищі з дизельним паливом без зниження рівня засвоєння цього субстрату порівняно з монокультурами. В умовах спільного культивування штамів *Rhodococcus erythropolis* IMB B-7277 і *Dietzia maris* IMB B-7278 протягом 30 год у лабораторному ферментері «Biotec» (швидкість перемішування 500 об/хв., ступінь аерації 0,3 л/л культуральної рідини за хв, сульфитне число 1,5 г  $\text{O}_2$  / л год) на середовищі з 1,0 % дизельного палива за наявності 4 мг/л іонів  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  та 1 г/л дріжджового екстракту рівень засвоєння субстрату склав 87,8 %, а концентрація біомаси – 2,0 г/л.

Ключові слова: актинобактерії, дизельне паливо, іони  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{Fe}^{2+}$ , деструкція вуглеводнів, спільне культивування.

**T.M. Nogina, T.U. Dumanskaya, L.A. Homenko, A.G. Kisten**

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,  
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

## **INFLUENCE OF CALCIUM AND IRON IONS ON THE LEVEL OF UTILIZING OF DIESEL FUEL BY ACTINOBACTERIA STRAINS**

### **S u m m a r y**

It has been established that the presence in the medium  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{2+}$  ions in 1.2 – 1.3 times increases the assimilation of hydrocarbon by actinobacteria. The possibility of joint growth of binary actinobacteria cultures on mineral medium with diesel fuel without reducing the assimilation of this substrate compared to monocultures it was shown. In the conditions of co-batch culture *Rhodococcus erythropolis* IMV B-7277 and *Dietzia maris* IMV B-7278 strains in the laboratory fermenter “Biotec” (stirring speed 500 r.p.m., degree of aeration 0.3 l/l per min, sulfite number 1.5 g  $\text{O}_2$  / l h,) on the medium with 1.0 % diesel oil in the presence of 4 mg/l  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  and 1 g/l yeast extract for 30 hours the substrate assimilation rate was 87.8 % and the concentration of biomass – 2.0 g/l.

The paper is presented in Russian.

Key words: actinobacteria, diesel fuel,  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{2+}$  ions, destruction of hydrocarbon, co-cultivation.

The author’s address: Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv MSP, D03680, Ukraine.

1. Думанська Т.У., Карпенко О.В., Ногіна Т.М., Вільданова-Марцишин Р.І., Підгорський В.С. Поверхнево-активні властивості штамів *Rhodococcus erythropolis*, *Gordonia rubropertinctus* та *Acinetobacter calcoaceticus* // Наукові записки НаУКМА. Біологія та екологія. (Нац. ун-т Києво-Могилянська академія). – 2006. – 54. – С.35–39.

2. Звягинцева И.С., Поглазова М.Н., Готоева М.Т., Беляев С.С. Влияние солености среды на деструкцию нефтяных масел нокардиоподобными бактериями // Микробиология. – 2001. – 70, № 6. – С. 759–764.
3. Карасёва Э.В., Волченко Н. Н., Худокормов А. А., Самков А.А., Карасёв С. Г., Батина Е.В., Самкова С.М. Нефтеокисляющий штамм *Rhodococcus erythropolis* как основа для создания биопрепарата для ликвидации углеводородных загрязнений и рекультивации земель // Научный журнал КубГАУ. – 2012. – 83(09). – С.1–14.
4. Коронелли Т.В. Липиды микобактерий и родственных микроорганизмов. – Москва: Изд-во Моск. ун-та, 1984. – 160 с.
5. Костина Е. Г. Изучение физиологических свойств бактерии *Rhodococcus erythropolis* штамм Ас-858 Т для оптимизации условий получения углеводородразрушающего препарата: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саранск, 2008. – 22 с.
6. Костина Е.Г., Ревин В.В., Атыкян Н.А. Влияние pH и ионов железа на липидсинтезирующую способность *Rhodococcus erythropolis* Ас-858 Т // II Всероссийский с международным участием конгресс студентов и аспирантов-биологов «Симбиоз Россия 2009» (Пермь, 25-29 мая 2009 г.): Тез. докл. – Пермь: Перм. гос. ун-т, 2009. – С.37–38.
7. Куюкина М.С. Биосуфактанты актинобактерий рода *Rhodococcus*: (индуцированный биосинтез, свойства, применение): Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Пермь, 2006. – 45 с.
8. Ногіна Т.М., Думанська Т.У., Підгорський В.С. Гідрофобно-гідрофільні та емульгуючі властивості клітин *Rhodococcus erythropolis*, *Gordonia rubropertinctus* та *Acinetobacter calcoaceticus* при рості на різних субстратах // Наукові записки НаУКМА. Біологія та екологія. (Нац. ун-т Києво-Могилянська академія). – 2003. – 21. – С.15–19.
9. ОСТ 38.01378-85. Охрана природы. Гидросфера, определение нефтепродуктов в сточных водах методом инфракрасной спектрофотометрии. – Москва: Изд-во стандартов, 1985. – 8 с.
10. Пат. 2378060 RU МПК В09С1/10, С12N 1/26. Биопрепарат для очистки почв от загрязнений нефтью и нефтепродуктами // Филонов А.Е., Кошелева И.А., Самойленко В.А., Шкидченко А.Н., Нечаева И.А., Пунтус И.Ф., Гафаров А.Б., Якшина Т.В., Боронин А.М., Петриков К.В. Опубл. 10.01.2010. – Бюл. №1.
11. Пат. № 2295403 RU МПК С12N1/20, С02F3/34, В09С1/10. Способ получения бактериального препарата Родер для очистки почв, почвогрунтов и нефтешламов, пресных и минерализованных вод от нефти и нефтепродуктов // Мурыгина В. П., Калужный С. В., Войшвилло Н.Е. Опубл.: 20.03.2007. Бюл. № 8.
12. Пирог Т.П., Волошина И.Н., Игнатенко С.В., Вильданова-Марцишин Р.И. Некоторые закономерности синтеза поверхностно-активных веществ при росте штамма *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 на гексадекане // Биотехнология. – 2005. – № 6. – С. 27–36.
13. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений. / Под ред. А. И. Нетрусова – Москва: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.
14. Ревин В.В., Атыкян Н.А., Костина Е.Г., Гоготов И.Н. Влияние кальция на изменение состава липидов клеток *Rhodococcus erythropolis* Ас-858 Т в процессе периодического и полунепрерывного культивирования на средах с различной концентрацией гексадекана // Вестник ОГУ. – 2008. – №11. – С. 143–149.
15. Sokolovska I., Rozenberg R., Riez C., Rouxhet P.G., Agathos S.N., Wattiau P. Carbon source-induced modifications in the mycolic acid content and cell wall permeability of *Rhodococcus erythropolis* E1 // Appl. Envir. Microbiol. – 2003. – 69, – N 12. – P. 7019–7027.

Отримано 16.03.2014