

ВЛИЯНИЕ ИЗОТОПНОГО СОСТАВА ВОДЫ НА ПРОДУКЦИЮ БИОМАССЫ *Rhodococcus erythropolis*

© 2015 г. А.А. Самков, С.С. Джимаков, М.Г. Барышев, Н.Н. Волченко,
А.А. Худокормов, С.М. Самкова, Э.В. Карасева

Кубанский государственный университет, 350040, Краснодар, ул. Ставропольская, 149

E-mail: andreysamkov@mail.ru

Поступила в редакцию 24.04.14 г.

Обнаружено влияние изотопного состава воды на концентрацию клеточной биомассы нефтеокисляющей актинобактерии *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2017Д при культивировании на жидких питательных средах. Величина эффекта определялась условиями постановки экспериментов, включающими последовательное использование гидрофильного и гидрофобного питательных субстратов – сахарозы и гексадекана. Показано, что при инокуляции клетками *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2017Д, выращенными на средах с сахарозой и содержанием дейтерия в воде 71 и 98 ppm, аналогичных по минеральному и изотопному составу средам с гексадеканом, наблюдается существенное увеличение продукции клеточной биомассы по сравнению с контрольным образцом, в котором использовали воду с концентрацией дейтерия, равной 150 ppm.

Ключевые слова: дейтерий, родококки, клеточная биомасса, питательная среда, адаптация микроорганизмов.

Влияние физико-химических свойств среды на функционирование биологических систем привлекает в настоящее время все более пристальное внимание исследователей. Расширение поля задач в этой области связано со многими нерешенными вопросами, возникшими при анализе результатов слабых воздействий на живую материю различных уровней организации. Изотопный состав воды является одним из важнейших физико-химических факторов, значение которого не вызывает сомнений [1,2]. Установлено, что биологические эффекты наблюдаются при небольших естественных вариациях изотопного состава воды как в сторону уменьшения, так и увеличения относительно стандартной средней океанской воды [2]. В результате многочисленных исследований воздействия воды с повышенным относительно природного содержанием дейтерия на биологические системы были обнаружены различные дозо- и объектозависимые эффекты как позитивного, так и, что более характерно, негативного характера [1,3–6].

В настоящее время получили значительное развитие исследования биологических эффектов воды с пониженным содержанием дейтерия. Исследования, проведенные на различных живых организмах [6–9], показали преимущественно положительные эффекты. Однако, как и в случае с тяжелой водой, эффекты носили дозоза-

висимый характер [3,10,11]. Большое значение при этом имел выбор биообъекта.

Изучение механизмов влияния изотопного состава воды на работу биологических систем показало их сложность и разнообразие. Были высказаны предположения о воздействии дейтерия на системы водородных связей, обеспечивающие структуру и функции макромолекул. Отмечалось, что водородные связи с участием дейтерия несколько прочнее обычных. При инкубации клетки в воде с измененным относительно первоначального соотношением D/H изменяется не только соотношение дейтериевой и протиевой воды внутри биологической системы как растворителя, но также осуществляется изотопный обмен в гидроксильных, сульфгидрильных, карбоксильных и аминокислотных группах молекул всех органических соединений [1,12–14].

В связи с растущим количеством исследований биологических эффектов легкой воды интерес представляет изучение влияния такой водной среды на бактерии, в частности на родококков. Данная группа микроорганизмов эволюционно адаптирована к утилизации и трансформации широкого круга соединений углеводородной природы. Природными соединениями, утилизируемыми актинобактериями, в том числе представителями рода *Rhodococcus*, являются углеводороды нефти, поступающие в био-

сферу естественным или техногенным путем, а также различные другие природные биологически устойчивые соединения, в том числе гидрофобные. Основным местообитанием актинобактерий являются почвы, гуминовые и другие органические соединения которых служат практически неисчерпаемым депо углерода, доступного для поддержания жизнедеятельности данной группы бактерий. Для осуществления характерной для родококков экологической К-стратегии у них имеется соответствующий катаболический ферментный аппарат, а также система энергоэффективного транспорта углеводородных молекул в клетку, представленная продукцией биогенных поверхностно-активных веществ, развитой клеточной стенкой, гидрофобизованной миколовыми кислотами и другими соединениями [15–17]. Спектр физиолого-биохимических особенностей актинобактерий обусловил их применение в качестве биологического агента в биотехнологии трансформации гидрофобных соединений и, прежде всего, в экологической биотехнологии. В настоящее время родококки являются основой или, по меньшей мере, важным компонентом практически любого нефтеокисляющего биопрепарата или микробиологической технологии биоочистки углеводородзагрязненных почв и грунтов [18,19].

Родококки способны к утилизации как сахарозы, так и гексадекана в составе жидкой питательной среды. Известно, что при потреблении данных субстратов используются принципиально разные катаболические механизмы, включающие экспрессию соответствующих генов, работу ферментов и структурных компонентов клетки. В случае утилизации актинобактериями гексадекана большое значение придается формированию и работе специфических атрибутов катаболизма углеводов – развитой гидрофобной клеточной стенки, обеспечивающей сольюбилизацию гидрофобного субстрата, синтезу биогенных поверхностно-активных веществ, связанных с клеточной стенкой и/или поступающих в окружающую среду, и, наконец, катаболическим ферментам. Таким образом, при последовательной замене сахарозы на гексадекан в среде культивирования бактериальной культуре требуются определенные структурно-физиологические и биохимические перестройки. В этой связи для выявления зависимости ответа растущей бактериальной культуры на изменение соотношения Д/Н воды жидкой питательной среды был поставлен эксперимент, совмещающий многоэтапную адаптацию культуры к условиям пониженного содержания дей-

терия и замену субстрата, рассматриваемую как стрессовый фактор.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Воду с пониженным содержанием дейтерия производили на установке ЛВ-1 [10,20] в Бизнес-инкубаторе Кубанского государственного университета.

Определение концентрации дейтерия в полученной воде было проведено на импульсном ЯМР-спектрометре JEOL JNM-ECA 400 MHz в Центре коллективного пользования «Диагностика структуры и свойств наноматериалов» КубГУ по модифицированной методике ФР.1.31.1999.00073 «Методика выполнения измерений содержания дейтерия в воде, водно-органических и органических растворах методом спектроскопии ядерного магнитного резонанса» [21].

В работе использовали штамм бактерий *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2017Д, депонированный во Всероссийской коллекции микроорганизмов, используемый в научно-исследовательской и практической деятельности [22].

Для культивирования штамма использовали жидкую минеральную среду следующего состава (г/л): KNO_3 – 4; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ – 1,4; KH_2PO_4 – 0,6; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,8; стандартный раствор микроэлементов (10 элементов) – 1 мл/л среды. В качестве единственного источника углерода и энергии использовали гексадекан ($\text{C}_{16}\text{H}_{34}$) или сахарозу в количестве 10 г/л среды. Растворы компонентов среды стерилизовали автоклавированием отдельно при разных режимах, после чего в стерильных условиях смешивали в необходимой пропорции. Культивирование вели в колбах объемом 250 мл на орбитальном шейкере при 110 об/мин и 24°C.

Определение концентрации биомассы выполняли гравиметрическим методом по усовершенствованной методике Brown [23]. Клетки осаждали центрифугированием на центрифуге РС-6МЦ при 3000 g и 10°C. При использовании гексадекана в качестве источника углерода и энергии, согласно правилам определения концентрации биомассы при культивировании на углеводородах [24], посаженные клетки дополнительно промывали гексаном для удаления остатков углеводородного субстрата, адсорбированного на поверхности микроорганизмов и посуды.

Оптическую плотность культур, растущих на сахарозе, измеряли в 3-миллиметровой кювете при $\lambda = 670$ нм. Оптическая плотность использована для учета динамики роста кон-

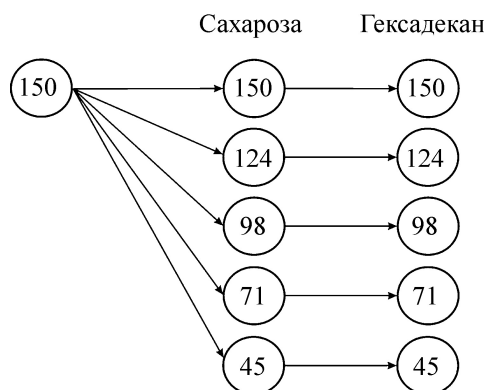


Рис. 1. Схема пересевов родококка на среды с различными соотношениями D/H (ppm) и питательными субстратами.

центрации биомассы по стандартной методике [25].

Статистическую обработку полученных данных осуществляли методами вариационной статистики с использованием *t*-критерия Стьюдента. Достоверным считали различие при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Была приготовлена серия жидких минеральных сред, различающихся соотношением D/H в воде. Для этого в стерильных условиях смешивали аликвоты сред, приготовленных на основе исходной дистиллированной воды ($150 \pm 0,9$ ppm) и воды с пониженным содержанием дейтерия ($45 \pm 1,7$ ppm). Соотношение легкая вода/обычная вода варьировали от 0 до 100% с шагом 25%. Таким образом, в эксперименте использовали пять образцов воды для приготовления сред с соотношениями D/H, равными

$45 \pm 1,7$; $71 \pm 2,1$; $98 \pm 1,4$; $124 \pm 1,7$; $150 \pm 0,9$ ppm до стерилизации растворов автоклавированием.

Схема эксперимента приведена на рис. 1. Клетки *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2017Д были дважды стерильно отмыты от остатков среды культивирования (питательного агара) минеральной средой без источника углерода, приготовленной на воде с D/H 150 ppm. Клетки были использованы для инокуляции серии сред первого этапа эксперимента, где в качестве питательного субстрата использовали сахарозу. Клетки, выросшие на сахарозе, при известных соотношениях D/H в среде, были использованы для инокуляции серии сред второго этапа эксперимента, где в качестве субстрата был использован гексадекан, а водная фаза имела те же соотношения D/H, что и на предыдущем этапе.

На первом этапе эксперимента клетки *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2017Д культивировали на серии жидких минеральных сред с сахарозой при разных соотношениях D/H. Результаты гравиметрического определения концентрации абсолютно сухой клеточной биомассы на разных сроках культивирования показаны на рис. 2.

На третьи сутки роста при малых абсолютных значениях измеряемого параметра наблюдали слабо выраженное положительное влияние пониженного до 71–98 ppm соотношения D/H. На шестые сутки на средах с пониженными менее 98 ppm соотношениями D/H также была зафиксирована более высокая концентрация биомассы по сравнению с контрольной средой 150 ppm ($p < 0,05$). Это согласуется с экспериментальными данными других авторов [6], отметивших проявление положительного влияния

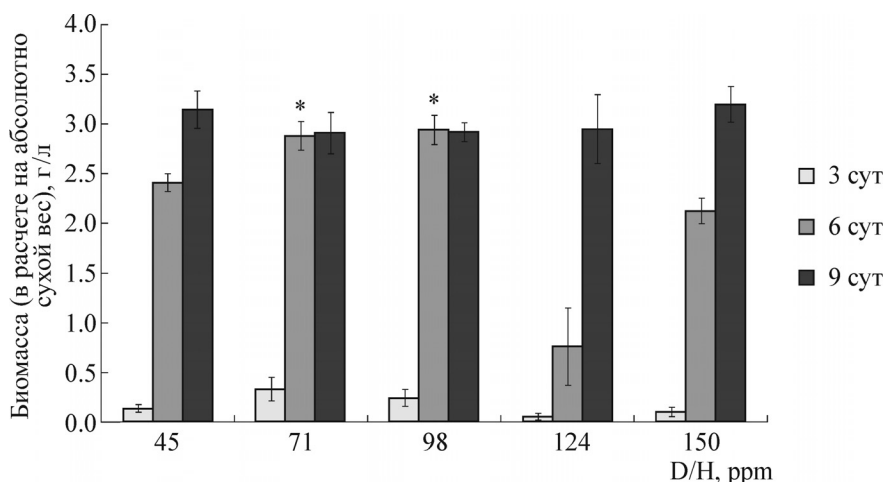


Рис. 2. Продукция биомассы *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2017Д на сахарозе в зависимости от соотношения D/H в воде жидкой минеральной среды. * – $p < 0,05$ в сравнении с показателями на контрольной среде 150 ppm.

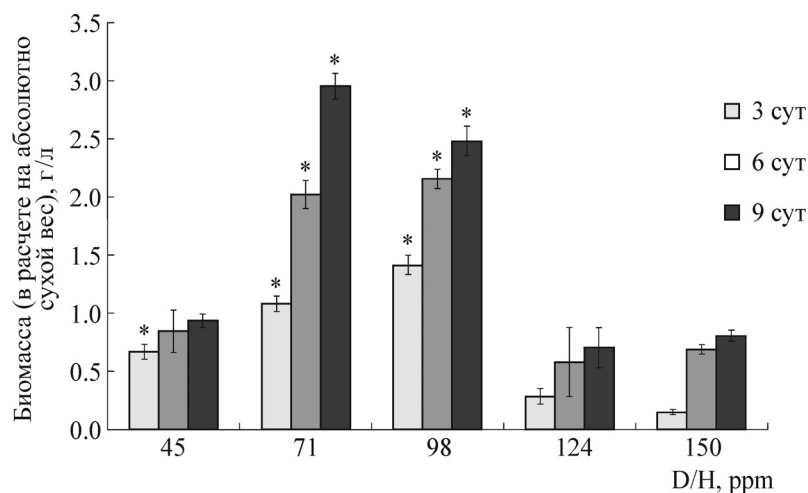


Рис. 3. Продукция биомассы *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2017Д на гексадекане в зависимости от соотношения D/H в воде жидкой минеральной среды. * – $p < 0,05$ в сравнении с показателями на контрольной среде 150 ppm.

пониженного содержания дейтерия на фазе логарифмического роста, в данных экспериментальных условиях имевшего место на третьи-четвертые сутки. Однако на девятые сутки статистически достоверные различия с контрольной средой не были обнаружены ($p > 0,05$). Достижение значения концентрации биомассы около 3 г/л (в расчете на абсолютно сухой вес) является максимальным для штамма *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2017Д при глубинном периодическом культивировании на аналогичной минеральной среде. Одной из причин лимитации роста является исчерпание более 80% углеродного субстрата, что было показано ранее при культивировании исследуемого штамма на биотехнологическом комплексе ОКА-01-100Т [22]. Сходные значения концентрации биомассы были отмечены другими авторами при глубинном культивировании родококков на углеводах в течение девяти и более суток [15].

На втором этапе эксперимента серия сред с такими же соотношениями D/H, как и на первом этапе, но отличающаяся заменой сахарозы на гексадекан, была инокулирована равными микроколичествами клеток родококков из соответствующих проб предыдущего опыта. Результаты гравиметрического определения концентрации абсолютно сухой клеточной биомассы показаны на рис. 3.

В случае переключения культуры *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2017Д с сахарозы на гидрофобный субстрат имел место значительный эффект влияния соотношения D/H на продукцию биомассы. Разница в концентрации биомассы сохранялась весь период эксперимента. Максимальные отличия были зафиксированы для минеральных сред на основе 71 и 98 ppm

воды. Характерно, что на девятые сутки культивирования на гексадекане выход биомассы около 3 г/л, характерный для такого же периода роста на сахарозе всех вариантов опыта, обеспечила только среда с содержанием дейтерия 71 ppm.

Таким образом, исследуемая культура родококка, поддерживаемая на жидких средах с постоянными пониженными соотношениями D/H в воде, при смене гидрофильного источника углерода и энергии (сахарозы) на гидрофобный (*n*-гексадекан) демонстрирует значительный эффект стимуляции роста. Поскольку синтез большинства ферментов и структурных компонентов клетки, участвующих в катаболизме алканов, имеет конститутивный характер, основные изменения, обуславливающие повышенную ростовую активность культуры *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2017Д на средах с пониженным соотношением D/H, не связаны с индукцией синтеза каких-либо специфических структурных компонентов клетки или ферментов.

Одним из свойств популяций коринеформных бактерий, к которым относятся родококки, является их гетерогенность, выражающаяся в существовании нескольких вариантов клеток, отличающихся по культуральным, морфологическим и физиолого-биохимическим признакам (явление диссоциации). Для родококков наиболее распространены R-, S- и M-варианты, или морфотипы, названные в зависимости от морфологии колоний на поверхности плотной питательной среды (rough, smooth, mucoid). Известно, что преобладание в потребляющей углеводороды культуре родококков того или ино-

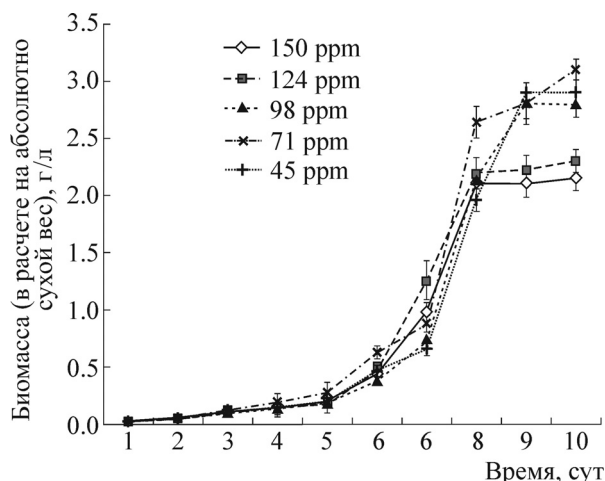


Рис. 4. Динамика роста культур родококка на среде с D/H 150 ppm на сахарозе, инокулированных клетками, выращенными на средах с содержаниями дейтерия 45–150 ppm.

го диссоцианта влияет на общую скорость роста [26,27].

Культуральные признаки, такие как размер и форма колоний на плотной среде, тип их поверхности и края, являются наиболее экспрессными в выявлении диссоциативных вариантов микроорганизмов. На девятые сутки роста жидких культур на средах с заданным соотношением D/H в воде были сделаны высевы на плотную питательную среду – питательный агар. Для всех проб выдерживался одинаковый слой среды в чашке Петри, а также сходная плотность количества изолированных колоний на единицу площади. Культивирование на плотной среде вели четверо суток при 30°C. Влияние соотношения D/H на морфотип колоний *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2017Д на питательном агаре зависело от субстрата, на котором культура развивалась в жидкой среде. При высевах из проб жидкой минеральной среды с сахарозой гетерогенность не была выражена. Вид колоний указывал на их принадлежность к M-морфотипу. При высевах из проб второго этапа эксперимента, где в качестве субстрата использовали гексадекан, при понижении соотношения D/H в среде до 98 ppm и ниже помимо колоний, характерных для указанного выше M-морфотипа, были обнаружены колонии родококка, характерные для S-морфотипа. Характерно, что наибольшее относительное количество колоний S-морфотипа было отмечено для пробы из среды, приготовленной на воде с соотношением D/H, равным 71 ppm, обеспечивающей максимальный выход биомассы при росте на гексадекане (рис. 3).

Была проверена возможность воспроизведения эффекта стимуляции роста без использования смены субстрата и пониженных соотношений D/H в среде. Для этого клетки родококка, выросшие на средах с использованными в экспериментах сочетаниями D/H в среде с сахарозой в качестве субстрата, были использованы для инокуляции аналогичной жидкой минеральной среды с сахарозой. При этом среда была приготовлена на основе обычной воды (150 ppm). Культивирование проводили в условиях, аналогичных предыдущим экспериментам. Концентрацию биомассы определяли нефелометрически (рис. 4).

Результаты показали, что соотношение D/H в среде, использованной для выращивания исходного инокулята, не оказывало значительного влияния на рост клеток *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2017Д, посеянных на аналогичную среду с характерным для природной воды соотношением D/H (150 ppm). До восьмидесяти суток включительно соотношение D/H в воде среды, на которой был выращен инокулят, не влияло на выход биомассы. На 9-е и 10-е сутки культивирования появился незначительный положительный эффект влияния воды с пониженными концентрациями дейтерия на продукцию биомассы. Положительная разница обнаружена между средами, инокулированными клетками со среды с соотношением D/H 45–98 ppm и контрольной средой (D/H 150 ppm).

Таким образом, наиболее выраженный и быстрый эффект использования воды с пониженным содержанием дейтерия проявляется при переходе с гидрофильного на гидрофобный субстрат, рассматриваемом в данном случае как создание стрессовых условий. Однако использование гексадекана и других гидрофобных субстратов ограничено в некоторых конструкциях биореакторов. Прикладной интерес может представлять выращивание инокулята на средах с пониженным содержанием дейтерия, с последующим посевом на среду с сахарозой или другими гидрофильными источниками углерода и энергии.

Совокупность катаболических и анаболических реакций бактериальной клетки опосредуется узким местом – системой накопления и преобразования энергии. Дыхательная цепь, имеющаяся и у родококков, среди прочего, обеспечивает создание трансмембранного градиента протонов, необходимого для деятельности АТФ-синтетаз и других ключевых ферментов энергетического цикла. Кроме того, сам трансмембранный градиент является способом кратковременного накопления и/или сохранения энергии, необходимой для жизнедеятельно-

сти клетки. Основой дыхательной цепи является совокупность различных цитохромов и ряда других ферментов [28,29]. Один из ключевых элементов цепи – цитохромы, обеспечивающие взаимодействие протона, атома кислорода и электрона с образованием молекулы воды [30–32]. Для некоторых родококков обнаружено несколько альтернативно действующих терминальных компонентов дыхательных цепей, обеспечивающих передачу электронов между хинонами и конечным акцептором – кислородом [33]. Структурно-функциональные особенности данных ферментов в настоящее время хорошо изучены, поскольку группа цитохромов дыхательной цепи пропускает значительный ток протонов живой клетки, в том числе и дейтерия. В исследованиях ряда авторов [34,35] описано влияние изотопного состава (соотношения D/H) на работу системы перемещения протонов. В предыдущих работах [36] также было отмечено, что скорость обработки протона цитохромоксидазой в среде D₂O была ниже по сравнению со средой протиевой воды. Этот процесс может быть опосредован вовлечением D как в трансмембранный трафик водорода, так и включением в состав протонсвязывающих гидратированных компонентов фермента [37–39].

Необходимо особо отметить, что родококки, как и остальные микроорганизмы, способные к утилизации углеводов, демонстрируют значительное увеличение удельной дыхательной (цитохромоксидазной) активности при переходе с углеводов на углеводороды [15,40]. Это связано с принципиально разным строением молекул, с иной степенью окисления углеродных атомов данных субстратов, проявляющейся в разных путях катаболизма.

ВЫВОДЫ

При выращивании клеток *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2017Д на средах с пониженным содержанием дейтерия изменяется содержание дейтерия в различных структурных компонентах клетки. При замене субстрата в среде с углевода на углеводород может происходить значительное увеличение активности ферментов и систем, касающихся переноса протонов. Предварительная адаптация к пониженным концентрациям дейтерия в среде может способствовать увеличению функциональной активности систем клетки, связанных со значительными траффиками ионов водорода, что выражается в значительном ускорении роста на углеводородах. И, напротив, при повторном культивировании на углеводном субстрате, в тех же условиях измененного изотопного состава воды, значи-

тельных изменений в росте по сравнению с контрольной средой не наблюдается. Таким образом, пониженные концентрации дейтерия в среде культивирования могут обеспечивать долговременный антистрессовый эффект, либо качественно изменять физиологию роста *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2017Д при переходе с углеводного субстрата на углеводородный, что выражается в значительном (в разы) увеличении продукции клеточной биомассы.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых МК-1568.2014.4, государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации, проекты № 4.3429.2011, № 1269.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В. Н. Лобышев и Л. П. Калиниченко, *Изотопные эффекты D₂O в биологических системах* (Наука, М., 1978).
2. В. И. Лобышев, Журн. Рос. хим. общества им. Д.И. Менделеева **51** (1), 107 (2007).
3. Д. И. Никитин, М. Н. Оранская и В. И. Лобышев, *Биофизика* **48** (4), 678 (2003).
4. А. Н. С. Нево, А. Б. Пшеничникова, Д. А. Складнев и др., *Микробиология* **73** (2), 175 (2004).
5. А. Б. Пшеничникова, А. Н. С. Нево, Е. В. Волкова и др., *Прикладная биохимия и микробиология* **40** (1), 24 (2004).
6. К. Т. Семенов и Р. Р. Асланян, *Биофизика* **58** (1), 70 (2013).
7. А. А. Басов, М. Г. Барышев, С. С. Джимаков и др., *Fiziologicheski Zhurnal* **59** (6), 50 (2013).
8. L. Olariu, M. Petcu, and S. Cuna, *Lucrări științifice medicină veterinară* **43** (2), 193 (2010).
9. G. Somlyai, *FEBS Lett.* **317** (1,2), 1 (1993).
10. М. Г. Барышев, С. Н. Болотин, С. С. Джимаков и др., *Экологический вестник научных центров Черноморского экономического сотрудничества* **1**, 13 (2013).
11. Д. И. Стом, А. Л. Пономарева и О. Ф. Вятчина, *Бюл. ВСНЦ СО РАМН* **6**, 167 (2006).
12. П. П. Нокс, М. С. Баптиста, А. Ф. Учоа и Н. И. Захарова, *Биохимия* **70** (11), 1541 (2005).
13. О. В. Мосин и И. Игнатов, *Биомедицина*, № 3, 35 (2012).
14. А. А. Басов, М. Г. Барышев, С. С. Джимаков и др., *Аллергология и иммунология* **13** (4), 314 (2012).
15. Т. В. Коронелли и Е. Д. Нестерова, *Микробиология* **59** (6), 993 (1990).
16. Н. Н. Волченко и Э. В. Карасева, *Микробиология* **76** (1), 126 (2007).
17. А. А. Самков и Э. В. Карасева, *Биотехнология*, № 4, 69 (2007).

18. M. S. Kuyukina, I. V. Ivshina, M. K. Serebrennikova, et al., *Biodeterioration & Biodegradation* **63**, 427 (2009).
19. В. М. Данилец, Э. В. Карасева, А. А. Самков и др., *Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе*, № 8, 13 (2011).
20. М. Г. Барышев, С. Н. Болотин и С. С. Джимаков, *Наука Кубани*, № 3, 18 (2010).
21. М. Г. Барышев, А. А. Басов, С. С. Джимаков и др., *Изв. РАН. Сер. физ.* **76** (12), 1507 (2012).
22. Э. В. Карасёва, Н. Н. Волченко, А. А. Худокормов и др., *Политематический сетевой электронный научный журн. Кубанского гос. аграрного ун-та*, № 83, 154 (2012).
23. W. A. Brown, R. Punchik, and D. G. Cooper, *Biotechnology Techniques* **11** (3), 213 (1997).
24. F. Marino, J. M. Karp, and D. G. Cooper, *Biotechnology Techniques* **12** (5), 385 (1998).
25. *Методы общей бактериологии* (Мир, М., 1983), т. 2.
26. Е. С. Милько и Н. С. Егоров, *Гетерогенность популяций бактерий и процесс диссоциации* (Изд-во МГУ, М., 1991).
27. Е. С. Милько, М. О. Максимович, Л. И. Лопатина и Е. В. Породенко, *Прикладная биохимия и микробиология* **46** (5), 538 (2010).
28. H. Rottenberg, *Biochim. Biophys. Acta* **1364**, 1 (1998).
29. H. Lepp and P. Brzezinski, *Biochim. Biophys. Acta* **1790**, 552 (2009).
30. G. Brändén, R. B. Gennis, and P. Brzezinski, *Biochim. Biophys. Acta* **1757**, 1052 (2006).
31. M. I. Verkhovsky, I. Belevich, D. A. Bloch, et al., *Biochim. Biophys. Acta* **1757**, 401 (2006).
32. S. Chakrabarty, I. Namslauer, P. Brzezinski, et al., *Biochim. Biophys. Acta* **1807**, 413 (2011).
33. K. Jun-ichi, Y. Kabashima, T. Kurokawa, et al., *Biochem. Engineering J.* **63**, 124 (2012).
34. G. Brändén and P. Brzezinski, *Biochim. Biophys. Acta* **1777**, 343 (2008).
35. A. Johansson, S. Chakrabarty, C. L. Berthold, et al., *Biochim. Biophys. Acta* **1807**, 1083 (2011).
36. S. Hallen and T. Nilsson, *Biochemistry* **31**, 11853 (1992).
37. S. Riistama, G. Hummer, A. Puustinen, et al., *FEBS Lett.* **414**, 275 (1997).
38. P. Brzezinski, *Trends Biochem. Sci.* **29** (7), 380 (2004).
39. J. Koepeke, E. Olkhova, H. Angerer, et al., *Biochim. Biophys. Acta* **1787**, 635 (2009).
40. Т. И. Сокольчик, В. Н. Леонтьев и Н. В. Гриц, *Микробиология* **68** (3), 299 (1999).

Effect of Water Isotopic Composition on *Rhodococcus erythropolis* Biomass Production

**A.A. Samkov, S.S., Dzhimak, M.G. Barishev, N.N. Volchenko, A.A. Khudokormov,
S.M. Samkova, and E.V. Karaseva**

Kuban State University, ul. Stavropolskaya 149, Krasnodar, 350040 Russia

The effect of water isotopic composition on concentration of oil-oxidizing actinobacteria *Rhodococcus erythropolis* VKM Ac-2017D cellular biomass is observed during cultivation in liquid nutrient media. The value for the effect was determined by experimental conditions, including consecutive use of hydrophilic and hydrophobic nutritious substrates – saccharose and hexadecane. It is shown, that when *Rhodococcus erythropolis* VKM Ac-2017D cells, cultivated in media with sucrose and 71 and 98 ppm deuterium content in water were inoculated into the similar in mineral and isotopic composition media with hexadecane, a considerable increase in cellular biomass production is observed if compared to a control sample in which water with 150 ppm deuterium concentration was used.

Key words: deuterium, rhodococci, cellular biomass, nutrient medium, adaptation of microorganisms