

УДК 615.327.076:579](477)  
DOI 10.32618/J19MRBPH250

С. І. НІКОЛЕНКО, О. М. НІКІПЕЛОВА, Т. С. ВАНЖУЛА, Х. О. КОЄВА

## Висіюваність сапрофітних флуоресціюючих бактерій роду *Pseudomonas* з природних мінеральних вод деяких областей України

ДУ «Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології МОЗ України», м. Одеса

**Резюме.** Проведено мікробіологічні дослідження 27 природних мінеральних вод України з метою визначення у них сапрофітних флуоресціюючих псевдомонад – потенційних продуцентів біологічно активних речовин. Зафіксовано коливання кількості цих бактерій у мінеральній воді в залежності від глибини свердловини, тобто, чим глибша свердловина, тим менше в ній може знаходитись сапрофітних псевдомонад.

**Ключові слова:** мінеральні води, сапрофітні флуоресціюючі псевдомонади, бактерицидність.

**Вступ.** Як було показано раніше [1–2], сапрофітні флуоресціюючі бактерії роду *Pseudomonas*, які мешкають в ґрунті, рослинах, на поверхні вод різного походження та в деяких природних мінеральних водах (МВ), особливо інфільтрогенного походження, володіють значним катаболічним та анаболічним потенціалами. Вони здатні продукувати широке коло біологічно активних метаболітів. Можливо, перебуваючи у МВ та засвоюючи різні речовини, вони приймають участь у формуванні їх біологічної активності.

Виявлення сапрофітних флуоресціюючих псевдомонад може служити ще однією ланкою диференційованої оцінки терапевтичної дії МВ різних генетичних типів. Відзначено [2], що гідрофільні сполуки визначають значну частину бальнеологічного ефекту природних слабкомінералізованих вод з підвищеним умістом органічних речовин. Водорозчинні пігменти класу птеридина, які вносять істотний внесок у формування біологічно активних речовин гідрофільної фракції, продукуються сапрофітними флуоресціюючими псевдомонадами. Практичним застосуванням цих похідних є спроба їхнього синтезу в якості антибактеріальних препаратів. Це особливо важливо для осіб, які уражені вірусом імунодефіциту людини [3]. *P. fluorescens* є важливим для вивчення, оскільки він виробляє антибіотик (мупіроцин), який доказав свою ефективність при лікуванні деяких видів шкірних, вушних та очних хвороб [4].

Отже присутність *P. fluorescens* сприяє формуванню бактерицидної дії мінеральних вод.

Важливо також пам'ятати, що переважна автотонна мікробіота мінеральних вод відноситься до роду *Pseudomonas* і спорідненим родам, і що ці бактерії продукують вторинні метаболіти, які характеризуються бактерицидною або інгібуючою активністю щодо конкуруючих бактерій [5]. На відміну від вуглеводів, жирів, білків або нуклеїнових кислот вторинні метаболіти присутні впродовж не всіх стадій циклу розмноження, і, не виступаючи в якості джерел енергії або запасних речовин, лише повільно метаболізуються. Сьогодні продукція антибіотиків деякими флуоресціюючими видами

*Pseudomonas spp.* вважається важливим фактором у конкуруванні мікроорганізмів, причому зазначається різноманіття антибіотиків, які продукуються різними видами мікроорганізмів [5]. Інший важливий клас вторинних продуктів життєдіяльності *Pseudomonas* складає незвичайні амінокислоти і пептиди. Крім цих двох головних груп вторинних метаболітів, з культур *Pseudomonas* було виділено деякі гліколіпіди, ліпіди і аліфатичні сполуки із широким спектром антибактеріальної і протигрибкової активності [6]. Флуоресціюючі види *Pseudomonas* є найбільшою і, імовірно, найбільш багатобічною групою бактерій через їхню здатність до швидкої і активної колонізації та до запобігання інвазії шкідливими або патогенними мікроорганізмами. Їх використовували в біологічному контролі хвороб рослин, які викликаються бактеріями або грибами [7].

Крім антибіотиків флуоресціюючі види *Pseudomonas* здатні продукувати вітаміни. Дослідниками, які використовували сучасні методи, вдалося виявити складні частини вітамінів птеридинового та каротиноїдного типів. Використовуючи *P. fluorescens*, вчені вивчають процес синтезу ферменту аспарагінази, який володіє канцеростатичною дією [8]. Цей вид може бути ефективним в якості альтернативи хімічним фунгіцидам. *P. fluorescens* росте при оптимальній температурі 25 °С, но також може виживати при температурах до 0 °С. Тому він рідко є патогенним для людини, що робить його ефективним мікроорганізмом для обробки сільськогосподарських культур, оскільки не спроможний вижити в організмі людини. Дослідження, які проведено на *P. fluorescens*, показали потенційну користь мікробів щодо біоремедіації проти декількох штамів патогенних бактерій рослин [7].

В Україні вперше у другій половині 20-го сторіччя [2] з мінеральних вод типу «Нафтуся» слабкомінералізованих з підвищеним умістом органічних речовин (свр. № 21-Н, м. Трускавець, Львівська обл.) було висіяно бактерії *P. fluorescens*, які добро засвоювали Бориславську нафту та продукти її переробки (керосин, парафін). Спостерігали збіжність кольорів люмінесценції декантатів

рідких культур вуглеводнеокиснювальних псевдомонад та органічних речовин МВ «Нафтуса» і її водовмісних порід. Таким чином, було показано вплив продуктів метаболізму сапрофітних флуоресціюючих псевдомонад на склад органічних речовин МВ «Нафтуса». За результатами робіт показано, що з вод типу «Нафтуса» *P. fluorescens* висіювали у всі пори року. Як і у МВ типу «Нафтуса», ці бактерії склали 30 % серед виявленої автохтонної мікробіоти східницьких джерел МВ.

Метою даної роботи було визначення сапрофітних флуоресціюючих бактерій роду *Pseudomonas* у природних мінеральних водах деяких областей України.

**Матеріали та методи.** Об'єктами досліджень впродовж 2017–2019 рр. була мікробіота 27 мінеральних вод Вінницької, Волинської, Полтавської, Закарпатської, Львівської, Дніпропетровської та Чернівецької областей. Роботу виконували в умовах лабораторії. В якості поживного середовища для вилучення з МВ сапрофітних флуоресціюючих бактерій роду *Pseudomonas* використовували поживне середовище Кінг-В [9].

**Результати та обговорення.** Як показали результати досліджень з 27 мінеральних природних вод України, у 8 виявлено присутність сапрофітних флуоресціюючих бактерій роду *Pseudomonas*. Це грамнегативні оксидазопозитивні бактерії. Усі вони синтезували водорозчинний жовто-зелений флуоресціюючий пігмент, добре дифундує у поживне середовище.

З МВ свр. № 1/157 с. Верхівка (Вінницька обл.) – слабкомінералізованої гідрокарбонатної натрієво-магнієво-кальцієвої з загальною мінералізацією 0,63 г/л, (вміст метакремнієвої кислоти – 41 mg/l), глибина 80 м – висіювались у різні пори року різноманітні мікроорганізми. Навесні почали також висіюватись сапрофітні флуоресціюючі псевдомонади у кількості  $5 \times 10^1$  CFU/ml,  $10^1$  CFU/ml – влітку. Ріст цих бактерій у зимовий період був відсутній.

З МВ свр. № 128 с. Садківці (Вінницька обл.) також висіюно сапрофітні псевдомонади, але у значно більшій кількості –  $2,6 \times 10^2$  CFU/ml. Глибина свр. 110,0 м. Вона розкриває підземні мінеральні води вендського комплексу в інтервалі 24,0–80,8 м. Водовмісні відклади представлено тріщинуватими пісковиками. Між вендським водоносним комплексом та водоносним горизонтом в алювіальних відкладах залягають водотривкі аргіліти, що забезпечує збереження стабільного хімічного складу мінеральних вод, їх бальнеологічних властивостей і санітарно-хімічних показників. За співвідношенням основних аніонів та катіонів води характеризуються як мало-, середньомінералізовані хлоридні натрієві без специфічних компонентів та властивостей, слабколужні, холодні. Підземні води свр. № 128 родовища «Садківецьке» визнано кондиційними для промислового фасування у пляшки у якості мінеральної природної лікувально-столової води «Садківецька».

Підземні мінеральні води свр. № 3-р с. Поляна Свалявського району Закарпатської області належать до групи мінеральних вод Полянського родовища і характеризуються як вуглекислі борні середньомінералізовані гідрокарбонатні натрієві, слабкокислі-нейтральні, холод-

ні. Вони широко використовуються для промислового фасування різними підприємствами, а також у санаторно-курортній сфері. При промисловому фасуванні використовуються як мінеральні природні лікувально-столові під назвою «Поляна Купель». Водоносний горизонт розповсюджено у відкладах бачавської світи верхньої крейди. Глибина свр. 135 м. В осінній пробі МВ свр. № 3-р сапрофітні флуоресціюючі псевдомонади склали  $3,0 \times 10^2$  CFU/ml.

У Львівській обл. МВ свр. № 1 с. Обрич восени мали ці бактерії у кількості  $1,1 \times 10^2$  CFU/ml, тоді як у джерелі № 118 смт Східниця (Львівська обл., весняній відбір) сапрофітні псевдомонади склали лише  $1,2 \times 10^1$  CFU/ml. Водоносний горизонт, що експлуатується джерелом № 118, залягає в інтервалі глибин 45,0–100,0 м і приурочений до тріщинуватих аргілітів і пісковиків нижньомелітової підсвіти олігоцену. Вода стабільно є гідрокарбонатною натрієвою середньої мінералізації, нейтральна, холодна.

У Дніпропетровській обл. з МВ свр. № 25 с. Новотроїцьке навесні висіюно  $4,0 \times 10^2$  CFU/ml сапрофітних флуоресціюючих псевдомонад. Свердловиною № 25 є вскрито підземні води, які приурочені до відкладів бучацького ярусу палеогену та дронівської світи нижнього триасу. Водовмісну товщу порід складають кварцеві піски бучацького ярусу палеогену та піщано-галечникові утворення триасу. За фізико-хімічними характеристиками води свр. № 25 є класифіковано як середньо-високомінералізовані хлоридні натрієві без специфічних компонентів та властивостей, нейтрально-слабколужні, холодні. Глибина свр. 67,0 м.

Свр. № 32 м. Вижниця (Чернівецька обл.) розкриває у відкладах мелітової світи (сланці, піски) палеогенового віку слабкомінералізовані МВ з підвищеним умістом органічних сполук. Глибина свр. 150,0 м. Водовмісний комплекс отримує постачання за рахунок атмосферних осадів. МВ свр. містила сапрофітні псевдомонади у кількості 3 CFU/ml.

Підсумовуючи отримані дані, слід зазначити, що найбільшу кількість сапрофітних флуоресціюючих бактерій роду *Pseudomonas* знайдено у середньо-високомінералізованій хлоридній натрієвій без специфічних компонентів та властивостей МВ свр. № 25 с. Новотроїцьке Дніпропетровської обл.) –  $4,0 \times 10^2$  CFU/ml. Найменшу кількість цих бактерій зареєстровано у слабкомінералізованій МВ з підвищеним умістом органічних речовин свр. № 32 (м. Вижниця Чернівецької обл.) – 3 CFU/ml.

Можливо, коливання кількості сапрофітних флуоресціюючих псевдомонад у МВ залежало від глибини свердловини, тобто, чим глибше свр., тим менше в ній може знаходитись цих бактерій.

Враховуючи експерименти, проведені на *P. fluorescens* [7], які показали потенційну користь мікробів у біоремедіації проти декількох патогенних для рослин штамів, слід зробити висновок щодо можливості впливу *P. fluorescens* на біологічну активність досліджених МВ. Зокрема, підвищення бактерицидної дії МВ проти санітарно-показових та патогенних мікроорганізмів, які можуть надходити ззовні.

Автори [10] досліджували виживаємість *P. fluorescens* у зразках газованих та негазованих мінеральних вод. Для вивчення було вибрано шістьнадцять пляшок мінеральних вод з різною мінералізацією та органічною речовиною. Вісім пляшок зберігали при 4 °С, вісім – при 22 °С. Кількість *P. fluorescens* знаходилась на одному рівні впродовж першого тижня і зменшилась впродовж наступних діб. *P. fluorescens* було знайдено у 88 % зразків води після 193 діб зберігання. Найбільшу кількість цих бактерій було зафіксовано в негазованій воді, незалежно від марки води і температури зберігання.

Таким чином, при рішенні питання щодо необхідності обробки природних мінеральних вод діоксидом вуглецю, слід враховувати наявність та довгострокове перебування у них сапрофітних флуоресціюючих псевдомонад.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. **НИКОЛЕНКО С. І., ГЛУХОВСКАЯ С. Н., КОВАЛЕВА І. П.** Выявление жизнеспособных сапрофитных бактерий в минеральных водах Украины. *Український бальнеологічний журнал*. 2002. № 1. С. 12–15.
2. Роль мікробіоти у формуванні мінеральних природних вод / За ред. К. Д. Бабова, О. М. Нікіпелової, А. В. Мокієнка. Одеса: Фенікс, 2017. 240 с.
3. **TSAI G. J., YU S. C.** Microbiological evaluation of bottled uncarbonated mineral water in Taiwan. *Int J Food Microbiol.* 1997. Vol. 37, № 2–3. P. 137–143.
4. <http://www.thelabrat.com/restriction/sources/Pseudomonasfluorescens.shtml>
5. **BUDZIKIEWICZ H.** Secondary metabolites from fluorescent pseudomonads. *FEMS Microbiology Reviews.* 1993. Vol. 104. P. 209–228. doi: 10.1111/j.1574-6968.1993.tb05868.x
6. **KEEL C., WIRTHNER P. H., OBERHANSLI T. H. et al.** Pseudomonads as antagonists of plant pathogens in the rhizosphere: role of the antibiotic 2,4-diacetylphloroglucinol in the suppression of black root rot of tobacco. *Symbiosis.* 1990. Vol. 9. P. 327–341.
7. **ВЯЗОВАЯ А. А.** Биологические свойства ризосферного штамма *Pseudomonas fluorescens* и его производных, маркированных геном β-глюкуронидазы: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Санкт-Петербург, 2007. 20 с.
8. **ПОКРОВСКИЙ В. С., ЛЕСНАЯ Н. А., ТРЕЩАЛИНА Е. М. и др.** Перспективы разработки новых ферментных противоопухолевых препаратов. *Вопросы онкологии*. 2011. № 2. P. 155–164.
9. **НИКОЛЕНКО С. І., ГЛУХОВСЬКА С. М., ХМЄЛЄВСЬКА О. М., ПЕТРОВСЬКА В. Б.** Посібник з методів контролю природних мінеральних вод, штучно-мінералізованих вод, напоїв на їх основі та преформованих засобів. Ч. 2. Мікробіологічні дослідження. Київ: КІМ. 2011. 51 с.
10. **KORZENIEWSKA E., GOTKOWSKA-PLACHTA A., DLUGOKECKA J.** Survival of *Pseudomonas fluorescens* in carbonated and noncarbonated mineral water. *Polish Journal of Natural Sciences (Poland)*. 2006. No 21(2). P. 833–842.

#### REFERENCES

1. **NIKOLENKO S. I., GLUKHOVSKAYA S. N., KOVALEVA I. P.** Vyyavlenie zhiznesposobnykh saprofitnykh bakteriy v mineral'nykh vodakh Ukrainy [Identification of viable saprophytic bacteria in mineral waters of Ukraine]. *Ukrayins'kyi bal'neolohichnyy zhurnal* [Ukrainian Balneological Journal]. 2002; 1: 12–15.
  2. Rol' mikrobioty u formuvanni mineral'nykh pryrodnykh vod [The role of microbiota in the formation of natural mineral waters]. Ed. by K. D. Babov, O. M. Nikipelova, A. V. Mokiienko. Odessa: Feniks, 2017. 240 p.
  3. **TSAI G. J., YU S. C.** Microbiological evaluation of bottled uncarbonated mineral water in Taiwan. *Int J Food Microbiol.* 1997; 37(2–3): 137–143.
  4. URL: <http://www.thelabrat.com/restriction/sources/Pseudomonasfluorescens.shtml>
  5. **BUDZIKIEWICZ H.** Secondary metabolites from fluorescent pseudomonads. *FEMS Microbiology Reviews.* 1993; 104: 209–228. doi: 10.1111/j.1574-6968.1993.tb05868.x
  6. **KEEL C., WIRTHNER P. H., OBERHANSLI T. H. et al.** Pseudomonads as antagonists of plant pathogens in the rhizosphere: role of the antibiotic 2,4-diacetylphloroglucinol in the suppression of black root rot of tobacco. *Symbiosis.* 1990; 9: 327–341.
  7. **VYAZOVAYA A. A.** Biologicheskie svoystva rizofernogo shtamma *Pseudomonas fluorescens* i ego proizvodnykh, markirovannykh genom β-glyukuronidazy: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk [Biological properties of the rhizospheric strain of *Pseudomonas fluorescens* and its derivatives, labeled with the β-glucuronidase gene: abstract. diss. ... cand. biol. sci.]. St. Petersburg, 2007. 20 p.
  8. **POKROVSKIY V. S., LESNAYA N. A., TRESHCHALINA E. M. et al.** Perspektivy razrabotki novykh fermentnykh protivopukholevykh preparatov [Prospects for the development of new enzyme antitumor drugs]. *Voprosy onkologii* [Problems in Oncology]. 2011; 2: 155–164.
  9. **NIKOLENKO S. I., HLUKHOVSKA S. M., KHYMYE-LYEVSKA O. M., PETROVSKA V. B.** Posibnyk z metodiv kontrolyu pryrodnykh mineral'nykh vod, shtuchno-mineralizovanykh vod, napoyiv na yikh osnovi ta preformovanykh zasobiv. Ch. 2. Mikrobiolohichni doslidzhennya [A guide to the methods of controlling natural mineral waters, artificially mineralized waters, beverages based on them and preformed products. Part 2. Microbiological research]. Kyiv: KIM. 2011. 51 p.
  10. **KORZENIEWSKA E., GOTKOWSKA-PLACHTA A., DLUGOKECKA J.** Survival of *Pseudomonas fluorescens* in carbonated and noncarbonated mineral water. *Polish Journal of Natural Sciences (Poland)*. 2006; 21(2): 833–842.
- Надійшла 27.09.2019.

С. И. НИКОЛЕНКО, Е. М. НИКИПЕЛОВА, Т. С. ВАНЖУЛА, К. А. КОЕВА

**Высеваемость сапрофитных флуоресцирующих бактерий рода *Pseudomonas* из природных минеральных вод некоторых областей Украины**

*ГУ «Украинский научно-исследовательский институт медицинской реабилитации и курортологии МЗ Украины», г. Одесса*

**Резюме.** Проведены микробиологические исследования 27 природных минеральных вод Украины с целью определения в них сапрофитных флуоресцирующих псевдомонад – потенциальных продуцентов биологически активных веществ. Зафиксированы колебания количества этих

бактерий в минеральной воде в зависимости от глубины скважины, то есть, чем глубже скважина, тем меньше в ней может находиться сапрофитных псевдомонад.

**Ключевые слова:** минеральные воды, сапрофитные флуоресцирующие псевдомонады, бактерицидность.

S. I. NIKOLENKO, O. M. NIKIPELOVA, T. S. VANZHULA, K. O. KOYEVA

**Saprophytic fluorescerous bacteria of the genus *Pseudomonas* of from natural mineral waters of some regions of Ukraine**

*SI «Ukrainian Scientific Research Institute of Medical Rehabilitation and Resort Therapy of the Ministry of Health of Ukraine», Odessa*

**Summary.** Microbiological studies of 27 natural mineral waters of Ukraine of some types were carried out in order to identify saprophytic fluorescent pseudomonads in them.

Perhaps the fluctuation in the number of saprophytic fluorescent pseudomonads in CF depended on the depth of

the well, that is, the deeper the borehole, the less it could contain these bacteria.

**Key words:** mineral waters, saprophytic fluorescent pseudomonads, bactericidal properties.