

АКТИВНІСТЬ ПІГМЕНТСИНТЕЗУЮЧОЇ СИСТЕМИ БАКТЕРІЙ У ПРИСУТНОСТІ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Рильський О.Ф., к.б.н., доцент

Запорізький національний університет

Вивчено вплив іонів важких металів на активність пігментсинтезуючої системи бактерій *Alcaligenes paradoxus*. Показано, що *A. paradoxus* можливо іммобілізувати на штучному носії типу «ВІЯ». Запропоновано використовувати бактерії *A. paradoxus* у якості тест-культури для біотестування забруднення природних і стічних вод.

Ключові слова: іони важких металів, *Alcaligenes paradoxus*, пігмент синтезуюча здатність, іммобілізація.

Рильский А.Ф. АКТИВНОСТЬ ПИГМЕНТСИНТЕЗИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ БАКТЕРИЙ В ПРИСУТСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ / Запорожский национальный университет, Украина

Изучено влияние ионов тяжелых металлов на активность пигментсинтезирующей системы бактерий *Alcaligenes paradoxus*. Показано, что *A. paradoxus* возможно иммобилизовать на искусственном носителе типа «ВИЯ». Предложено использовать бактерии *A. paradoxus* в качестве тест-культуры для биотестирования загрязнения природных и сточных вод.

Ключевые слова: ионы тяжелых металлов, *Alcaligenes paradoxus*, пигментсинтезирующая способность, иммобилизация.

Rylskiy A. F. ACTIVITY OF PIGMENT-SYNTHESIZING SYSTEM OF BACTERIA IN PRESENCE HEAVY METALS / Zaporizhzhya national university, Ukraine

Influence of heavy metals ions on activity of pigment-synthesizing system of bacteria *Alcaligenes paradoxus* was studied. It was shown that *A. paradoxus* probably to immobilize on the artificial carrier of «VIYA» type. It was suggested to use bacteria *A. paradoxus* as a test-culture for the biotesting of pollution of natural and sewer waters.

Key words: heavy metals ions, *Alcaligenes paradoxus*, pigment-synthesizing ability, immobilization.

ВСТУП

Екологічний моніторинг як система спостережень, оцінки й прогнозу антропогенних змін у біологічних системах не може бути оптимізованим без визначення строгого ряду індикаторних організмів у групі редуцентів, які є кінцевою і водночас початковою ланкою для продуцентів і консументів. Тільки встановлення такого ряду індикаторних організмів, їх глибоке вивчення у всіх трьох складових «живої речовини» біосфери – консументів, продуцентів, редуцентів, - може дати системну відповідь на запитання про ступінь впливу того або іншого антропогенного фактора на живу природу. На сьогодні область редуцентів є найменш вивченою й представленою в системі організмів-індикаторів. Реального ряду індикаторів-редуцентів, зокрема серед прокаріот, не існує, тому що він фактично починається й закінчується представником бактерій кишкової групи – *E. coli*, як найбільш вивченого організму – сигналізатора забруднення навколишнього середовища.

Особливістю редуцентів є їхня висока стійкість до різних факторів антропогенного впливу на середовище, зокрема, до дії токсичних металів [1, 2, 3]. Різноманіття редуцентів дозволяє здійснювати пошук індикаторів саме серед цієї групи, але це ж різноманіття створює також неможливість практичного встановлення ГДК для кожного з них. Це викликає необхідність пошуку такої групи організмів, які могли б дати швидко й наочну інформацію про стан досліджуваного середовища. Такою групою організмів-індикаторів серед редуцентів-прокаріот можуть бути пігментсинтезуючі бактерії. Саме яскравість кольору, його насиченість і стійкість синтезованого пігменту можуть бути визначальними у виборі цієї групи для індикації забруднення довкілля.

Відомо, що бактеріальна культура *Alcaligenes paradoxus* продукує яскраво-жовті пігменти каротинового ряду, зокрема β-каротин [4, 5].

Метою дослідження було вивчення активності пігментсинтезуючої системи *Alcaligenes paradoxus* у присутності важких металів та можливості іммобілізації цієї культури на штучному носії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для дослідження впливу важких металів на синтез пігменту використовували штам *A. paradoxus* Ш-207, виділений з різосфери рису (штам люб'язно предоставлено проф. О.В. Шерстобоевою з музею Інституту агроєкології і економіки природокористування НААН України). Досліджували вплив іонів найбільш поширених металів, які попадають в довкілля зі стічною водою, а саме цинку, міді, свинцю, нікелю та хрому, на активність пігментсинтезуючої системи бактерій. Солі вибраних для дослідів металів добре розчинні у воді ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$).

Культуру бактерій *A. paradoxus* засівали суцільним газоном на поверхню поживного середовища горохового агару (щільність суспензії 10^7 кл/см³). Культивування проводили в термостаті при температурі 27 °С. Фотографування проводили цифровим фотоапаратом на 2-3 добу. Інтенсивність пігменту аналізували як візуально, так і за допомогою комп'ютерної програми Adobe Photoshop [6].

Дослідження з іммобілізації *A. paradoxus* на штучному носії «ВІЯ» проводили в 5-літрових біореакторах. 18-годинну культуру *A. paradoxus* вносили у воду біореактора у вигляді суспензії клітин щільністю 10^9 кл/см³. Аерацію здійснювали протягом 3-х діб акваріумним компресором. Контролем слугувала «ВІЯ», розміщена у воді біореактора без культури. Фотографування здійснювали протягом 3-х діб.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження впливу важких металів на синтез пігменту в *A. paradoxus* представлено в таблиці 1 та на рис. 1, 2.

Таблиця 1 – Вплив іонів Zn^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Cr^{6+} на синтез пігменту в *A. paradoxus*

<i>Alcaligenes paradoxus</i>		2-га доба		3-тя доба	
		Ріст	Пігмент	Ріст	Пігмент
Zn^{2+}	150 мг/дм ³	++	—	++	±
	300 мг/дм ³	+	—	++	—
Pb^{2+}	450 мг/дм ³	++++	++++	++++	++++
	1000 мг/дм ³	—	—	+	—
Ni^{2+}	100 мг/дм ³	+++	±	+++	±
	250 мг/дм ³	++	—	++	—
Cu^{2+}	90 мг/дм ³	++	—	+++	—
	100 мг/дм ³	—	—	+	—
Cr^{6+}	30 мг/дм ³	+	—	++	—
	40 мг/дм ³	—	—	—	—
Контроль		++++	++++	++++	++++

Примітка: Ріст: ++++ – суцільний; +++ – добрий; ++ – помірний; + – слабкий; ± – ріст окремих колоній; – – відсутній.

Пігментування: ++++ – інтенсивне; +++ – добре; ++ – помірне; + – слабке; ± – забарвлено окремі колонії; – – відсутнє.

Встановлено, що концентраційний рівень блокування синтезу пігменту в *A. paradoxus* знаходиться в тих же інтервалах, які встановлені для бактерій, що продукують пігменти феназинового ряду та продигіозин. Різниця між концентраціями, які пригнічують синтез пігментів, і концентраціями, що повністю інгібують життєдіяльність, складає 10-30%. Тому можна припустити, що механізми блокування синтезу пігментів каротиноїдного ряду в цієї культури близькі до тих, що описані нами для бактерій родів

Serratia та *Pseudomonas* [7]. Адже відомо, що попередники β -каротину – фітофлюїн і лікопін є більш сильними антиоксидантами (ловушками вільних радикалів), ніж кінцевий продукт синтезу β -каротин.

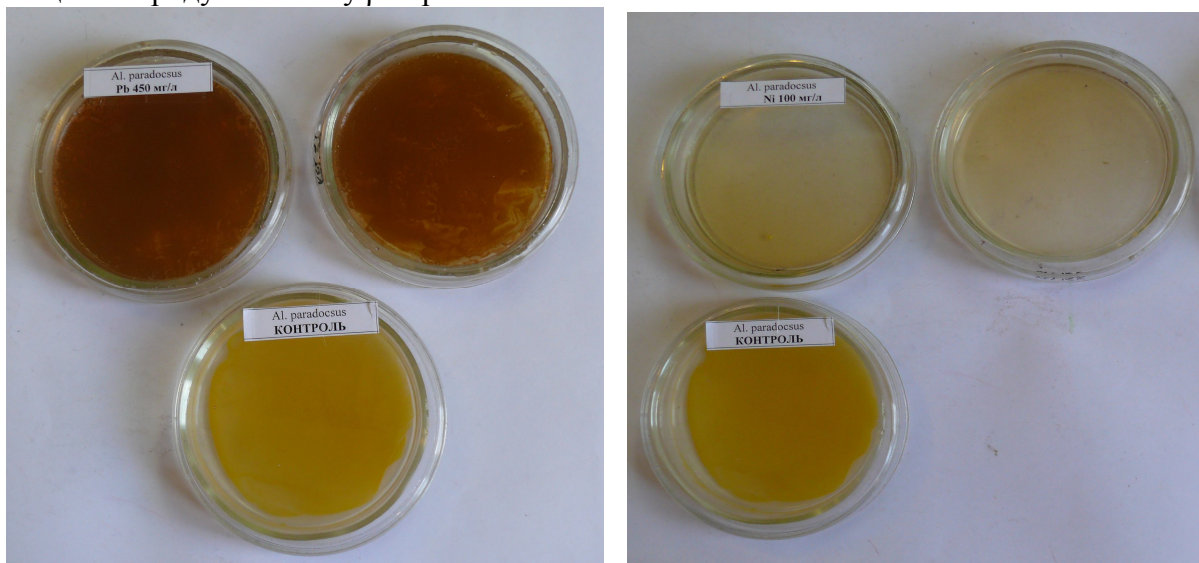


Рис.1. Вплив Pb та Ni на пігментсинтезуючу здатність бактерій *A. paradoxus*

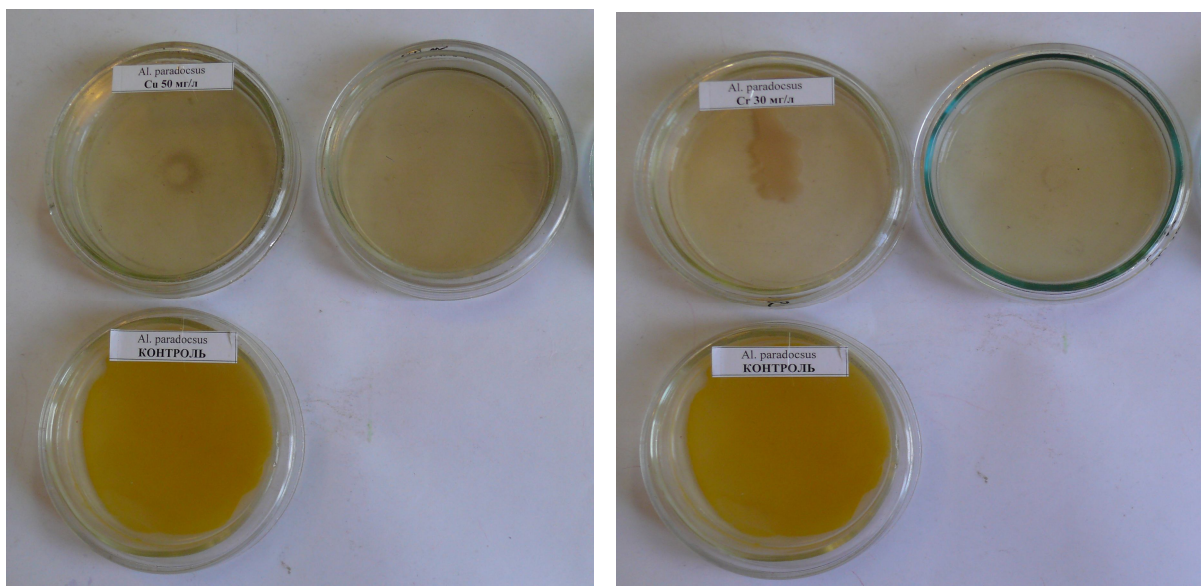


Рис. 2. Вплив Cu та Cr на пігментсинтезуючу здатність бактерій *A. paradoxus*

Порівняння інтенсивності пігментутворення в дослідних (середовище з металами) і контрольних зразках проводили за допомогою комп'ютерної програми Adobe Photoshop. Результати дослідження представлені в таблиці 2.

Таблиця 2 – Оцінка активності пігментсинтезуючої системи *Al.paradoxus* у присутності важких металів

Параметри	L	a	b	ΔE
Контроль	42	12	49	-
Pb^{2+} (450 мг/дм ³)	15	20	23	25,59
Cu^{2+} (50 мг/дм ³)	44	4	22	10,92
Ni^{2+} (100 мг/дм ³)	39	5	32	7,30
Zn^{2+} (150 мг/дм ³)	55	2	17	18,71
Cr^{2+} (30 мг/дм ³)	40	9	28	7,99

Примітка: L – яскравість; a - величина червоно-зеленої складової; b - величина жовто-синьої складової; ΔE - різниця між кольорами дослідного та контрольного зразків.

Дані отриманні за допомогою програми Adobe Photoshop дають можливість встановити різницю між кольорами дослідного та контрольного зразків (ΔE), що є математичним виразом візуального спостереження. Встановлено, що найбільша різниця спостерігається за Pb^{2+} (450 мг/дм^3). Це пов'язано з тим, що при концентрації свинцю 450 мг/дм^3 пігмент змінюється і набуває коричневого кольору. У випадку з іншими металами при досліджуваних концентраціях пігмент майже не синтезується, тому порівняння іде між жовтим пігментом контролю та жовтим відтінком середовища. А різниця ΔE між різними відтінками одного й того ж кольору має значно менші величини.

Результати дослідження з іммобілізації *A. paradoxus* на штучному носіїві «ВІЯ» представлено на рис. 3. Іммобілізація здійснюється без додавання в біореактор поживного середовища.

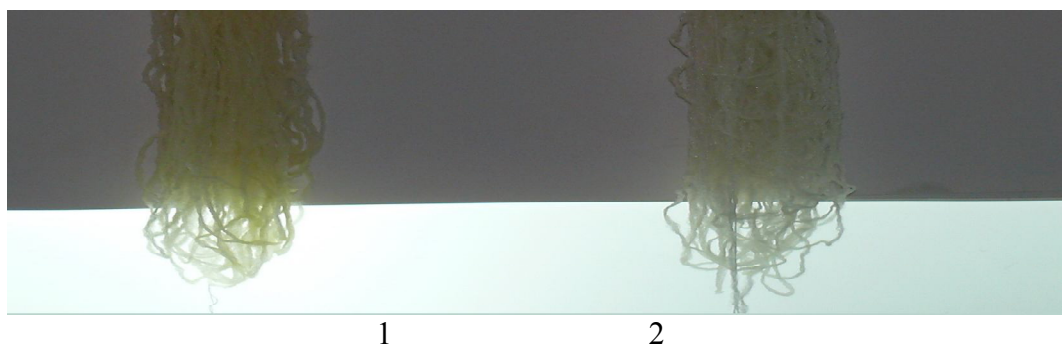


Рис. 3. Фрагмент «ВІЯ» після добового культивування *A. paradoxus*
(1 – дослід, 2 – контроль)

Встановлено, що інтенсивність кольору біоплівки *A. paradoxus* на поверхні штучного волокна з 1-ї до 3-ї доби майже не змінюється ($\Delta E = 6$), а різниця між дослідом і контролем після добового культивування в біореакторі дорівнює 19.

Зважаючи на отримані результати, перспективним є подальше дослідження бактеріальної мікрофлори різосфери рису, з якої можливе виділення інших пігментсинтезуючих бактерій.

ВИСНОВКИ

1. Отримані результати підтверджують схожість етапів блокування синтезу пігментів під дією важких металів у *S. marcescens* та *A. paradoxus*: між концентрацією металу, яка блокує синтез пігменту і концентрацією, яка припиняє життєдіяльність клітин, є певний концентраційний інтервал (25-30%).
2. Бактеріальна культура *A. paradoxus* добре іммобілізується на штучному носіїві і може бути використана в якості тест-культури для біотестування забруднення природних і стічних вод.

ЛІТЕРАТУРА

1. Іутинська Г. О. Токсичність і мутагенність важких металів - забруднювачів ґрунту / Г. О. Іутинська, З. В. Петруша, Т. В. Васильєва та ін. // Современные проблемы токсикологии. – 2000. – № 2. – С. 53–56.
2. Таширев А. Б. Аккумуляция тяжелых металлов микробным сорбентом / А. Б. Таширев, Г. Ф. Смирнова, С. Б. Яновер, А. И. Самчук // Мікробіол. журнал. – 1997. – Т. 59, № 3. – С. 70–78.
3. Таширев А. Б. Экспериментальное обоснование теоретической модели аккумуляции металлов микробным сорбентом на примере ртути, ванадия и лития / А. Б. Таширев, Г. Ф. Смирнова, А. И. Самчук // Мікробіол. журнал. – 1997. – Т. 59, № 3. – С. 79–85.

4. Рильський О. Ф. Вірогідні механізми блокування синтезу пігментів бактерій при дії тривалого стресу / О. Ф. Рильський // Вісник Харківського національного університету. Серія біологічні науки. – 2010. – Вип. 11, № 905. – С. 149–155.
5. Willems A. Comamonadaceae, a new family encompassing the acidovorans rRNA complex, including *Variovorax paradoxus* gen. nov., comb. nov., for *Alcaligenes paradoxus* / A. Willems, J. De Ley, M. Gillis, K. Kersters // International Journal of Systematic Bacteriology. – 1991. – Vol. 41, № 3. – P. 445-450.
6. Пат. на корисну модель 49812 Україна, МПК (2009), C12Q 1/00, C12M 1/00, C12M 1/34. Спосіб визначення інтенсивності пігментоутворення у бактерій / Рильський О. Ф., Домбровський К. О., Гороховський Є. Ю., Жиленко А. В.; заявник та патентовласник ЗНУ. – Заяв. 30.11.2009; опубл. 11.05.2010, Бюл. № 9, 2010 р.
7. Bradley D. V. Possible use of *Alcaligenes paradoxus* as a biological monitor / D. V. Bradley, R. D. Rogers, J. C. McFarlane // Las Vegas, Nev.: Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, [Office of Monitoring and Technical Support], Environmental Monitoring and Support Laboratory; 1979. – 32 p.

УДК 504

ТРАНСФОРМАЦІЯ ОРГАНІЧНОЇ РЕЧОВИНИ ЯК ЕКОЛОГІЧНИЙ ІНДИКАТОР ПОРУШЕННЯ РІВНОВАГИ В ҐРУНТАХ УРБАНІЗОВАНИХ ЕКОСИСТЕМ

Шеховцева О. Г., аспірант

Мелітопольський державний педагогічний університет ім. Б.Хмельницького

Результати досліджень хімічних показників, які беруть участь у процесах трансформації органічної речовини, можуть пояснити суттєвість змін, що відбуваються, для попередження деградації ґрунту під впливом антропогенного впливу.

Ключові слова: урбанізовані ґрунти; азот загальний, обмінний, нітратний; показник збагачення гумусу азотом; деградація ґрунтів.

Шеховцева О.Г. ТРАНСФОРМАЦИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА КАК ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ИНДИКАТОР НАРУШЕНИЯ РАВНОВЕСИЯ В ПОЧВАХ УРБАНИЗИРОВАННЫХ ЭКОСИСТЕМ /Мелитопольский государственный педагогический университет им. Б.Хмельницкого, Украина

Результаты исследований химических показателей, участвующие в процессах трансформации органического вещества, могут объяснить сущность происходящих изменений для прогнозирования деградации почвы под воздействием антропогенного влияния.

Ключевые слова: урбанизированные почвы; азот общий, обменный, нитратный; обогащенность азотом; деградация почв.

Shekhovtseva O.G. TRANSFORMATION OF ORGANIC SUBSTANCE AS THE ECOLOGICAL INDICATOR OF INFRINGEMENT OF BALANCE IN SOILS OF THE URBANIZED ECOSYSTEMS / Melitopol State Pedagogical B. Khmelnytsky University, Ukraine

The results of researches of The chemical indicators researches participating in processes of transformations of organic substance can explain essence of occurring processes of changes for forecasting of degradation of soil under the influence of anthropogenous influence.

Key words: urbanized soils; nitrogen general, exchange, nitrate of nitrogen; organic substance; degradation of soils.

Основна кількість загального азоту зосереджена в органічній речовині, у тому числі й в гумусі, він недоступний для рослин і зазвичай виступає основним лімітуючим