

О.Ф. Рильський<sup>1</sup>, П.І. Гвоздяк<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Запорізький національний університет, вул. Жуковського, 66, Запоріжжя, 69600, Україна; тел.: 8 (061) 289 12 53; e-mail: Rytsky@mail.ru

<sup>2</sup> Інститут колоїдної хімії та хімії води НАН України, бульвар Академіка Вернадського, 42, Київ-142, МСП 03680, Україна; тел.: 8 (044) 424 35 79; e-mail: honch @ iccwc.kiev.ua

## ПРИГНІЧЕННЯ ПІГМЕНТСИНТЕЗУВАЛЬНОЇ ЗДАТНОСТІ БАКТЕРІЙ ІОНАМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

*У роботі представлені результати досліджень пігментсинтезувальної здатності бактерій в умовах дії стресових факторів. Встановлено, що Sn (II), Co (II), Cu (II), V (V) – блокують синтез пігментів при концентраціях 60–80 мг/л, а Ag – при концентрації на рівні 7 мг/л. Рівні концентрацій металів, що блокують синтез пігментів, відрізняються від рівнів, що припиняють ріст бактерій на 25-57 %. Доданий до середовища пролін викликає посилення синтезу продигіозину у *S. marcescens* MP-141 при концентрації Cu (II) металу 80 мг/л.*

*Ключові слова: бактерії, пігменти, важкі метали.*

Серед багатьох забруднювачів (полутантів) навколишнього середовища особливе місце займають іони важких металів (ВМ). Це пов'язано з їх високою токсичністю, а також з можливістю накопичення ВМ в організмах рослин і тварин організмами і передачею їх по харчових ланцюгах.

Відомо, що солі срібла, ртуті, кадмію, нікелю, міді, кобальту порушують бар'єрні властивості цитоплазматичних мембран (ЦПМ) клітин, що призводить до зменшення трансмембранного потенціалу. Під дією іонів срібла і ртуті змінюються електрофізичні властивості ЦПМ і цитоплазми клітин [1-4]. Ванадій, як один з широко розповсюджених ВМ, поглинається зеленими, бурими і жовто-зеленими водоростями. Він також міститься в нітрогеназах деяких ґрунтових бактерій, хоча і не є необхідним елементом для розвитку більшості прокариотів. Найактивнішими біоаккумуляторами ванадію є бактерії роду *Pseudomonas*, а також ряд ціанобактерій [5]. Такі властивості бактерій, як здатність до адаптації і швидкого розмноження сприяють розповсюдженню мікроорганізмів, стійких до ВМ. Найбільшу стійкість до металів мають бактерії, виділені в місцях з промисловими забрудненнями і в родовищах відповідних металів.

Діагностування забруднень навколишнього середовища, ступінь їх «стресовості» для макро- і мікроорганізмів є актуальним завданням сьогодення.

Метою нашої роботи було вивчення пігментсинтезувальної здатності бактерій родів *Serratia* і *Pseudomonas* в умовах тривалої дії на них іонів важких металів.

### Матеріали і методи

Для експериментів готували модельні розчини, що містять іони важких металів:  $\text{Sn}^{2+}$ ,  $\text{V}^{5+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^{1+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ . Для їх приготування використовували солі:  $\text{SnCl}_2$ ,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  і оксид  $\text{V}_2\text{O}_5$ .



В роботі використовувалися такі концентрації металів: Cu, Cr – 20, 30, 40, 50, 60, 70, 100, 150 мг/л; Ag – 1, 2, 3, 5, 7, 10, 12 мг/л; Sn, Co, V – 10, 20, 50, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 150 мг/л. Для кожної концентрації засів виконували в 5-ти повторах.

Тест-культурами були пігментсинтезувальні бактерії *P. aeruginosa* МР-2, *P. fluorescens var pseudo-iodinum* МР-11 і *S. marcescens* МР-141, отримані з колекції мікроорганізмів відділу мікробіології очищення води Інституту колоїдної хімії і хімії води НАН України.

Контролем були культури бактерій, вирощені на твердому середовищі МПА без металу.

Тверде живильне середовище (МПА) готували на основі води з певною концентрацією солей VM. Застиглий в чашках Петрі МПА засівали суцільним газоном 18-годинними колекційними культурами і інкубували їх протягом 48 годин в термостаті при температурі 28–30 °С. Після цього візуально порівнювали інтенсивність пігментоутворення в досліді та в контролі. Культивування бактерій в досліді з металами здійснювали в термостаті ТЕС-1.

### Результати та їх обговорення

У досліді з клітинами *P. aeruginosa* МР-2, *P. fluorescens var pseudo-iodinum* МР-11, *S. marcescens* МР-141 відмічається зниження інтенсивності синтезу пігменту бактеріями із збільшенням концентрацій всіх досліджуваних металів. Проте, втрата здатності до утворення пігментів і поява безбарвних колоній спостерігається при різних концентраціях металів [6]. В даній роботі ця залежність наведена в таблиці. Під дією Ag (I) блокування синтезу пігментів у трьох досліджених культур спостерігається при найнижчій концентрації – 7 мг/л; Cr (VI) займає проміжне положення – блокує синтез пігменту при концентрації 30 мг/л (*P. aeruginosa* МР-2). Ряд металів – Sn (II), Cu (II), Co (II) і V (V) – блокує синтез пігментів при відносно високих концентраціях 60-80 мг/л (*P. aeruginosa* МР-2 і *P. fluorescens var pseudo-iodinum* МР-11).

Різниця в концентраційних рівнях металів між блокуванням синтезу пігменту бактеріями і припиненням їх росту досягає 57 % (наприклад, дія Cr (VI) на *P. aeruginosa* МР-2), а при дії V(V) на *P. aeruginosa* МР-2 і *S. marcescens* МР-141 ця різниця мінімальна і дорівнює 25%. Таким чином, між блокуванням росту бактерій і появою безбарвних колоній завжди спостерігається концентраційний інтервал.

Одним з вірогідних механізмів втрати пігментсинтезувальної здатності у *S. marcescens* МР-141 може бути утворення хелатних комплексів металів з попередниками синтезу пігменту. Відомо, що попередником синтезу пігмента у *S. marcescens* МР-141 – продигіозіна – є пролін [7, 8].

Нами виконані досліді по вивченню впливу «надмірного» проліну на синтез пігменту у *S. marcescens* МР-141 у присутності іонів  $\text{Cu}^{2+}$ . У МПА, до якого задалегідь вносили  $\text{Cu}^{2+}$  в концентрації, що викликає пригнічення синтезу продигіозіну, додавали пролін в концентрації 250 мг/л.

Нами встановлено, що синтез пігменту у *S. marcescens* МР-141 у присутності проліну проходив інтенсивніше і по насиченості кольору наближався до контролю. Це свідчить про те, що доданий пролін не весь був зв'язаний металом в хелатний комплекс і його надлишок був використаний бактеріями в синтезі продигіозіну.



Таблиця

Концентрації іонів важких металів (мг/л), що пригнічують пігментоутворення та ріст бактерій родів *Pseudomonas* і *Serratia*

Table

Concentrations of ions of heavy metals (mg/l) on pigment production and bacteria growth of *Pseudomonas* and *Serratia* (mg/l)

Штам	Sn <sup>2+</sup>		V <sup>5+</sup>		Co <sup>2+</sup>		Ag <sup>1+</sup>		Cr <sup>6+</sup>		Cu <sup>2+</sup>	
	Пігм.	Ріст	Пігм.	Ріст	Пігм.	Ріст	Пігм.	Ріст	Пігм.	Ріст	Пігм.	Ріст
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> МР-2	80,0 ±8,2	120,0 ±10,1	60,0 ±7,5	80,0 ±9,0	70,0 ±6,1	100,0 ±5,5	7,0 ±0,5	10,0 ±1,5	30,0 ±5,7	70,0 ±8,2	70,0 ±10,1	150,0 ±3,4
<i>Serratia marcescens</i> МР-141	70,0 ±6,6	100,0 ±9,8	60,0 ±6,3	80,0 ±7,1	70,0 ±4,5	110,0 ±10,1	7,0 ±0,3	10,0 ±0,8	40,0 ±6,3	50,0 ±7,2	70,0 ±5,9	100,0 ±6,8
<i>Pseudomonas fluorescens</i> МР-11	80,0 ±5,2	120,0 ±9,8	60,0 ±4,7	80,0 ±6,5	60,0 ±5,1	90,0 ±7,3	7,0 ±0,9	10,0 ±1,5	65,0 ±3,6	100,0 ±5,3	70,0 ±7,1	100,0 ±9,8

Отримані результати переконують в тому, що втрата пігментсинтезувальної здатності бактеріями під дією важких металів носить універсальний характер і є відповіддю бактеріальної клітини на дію стресового чинника. Під дією іонів важких металів спостерігається пригнічення та втрата пігментсинтезувальної здатності бактерій при зростанні на твердому живильному середовищі. Блокування синтезу пігменту у тест-культур іде при меншій концентрації іонів важких металів, ніж припинення росту бактерій. Додавання проліну в середовище призводить до синтезу пігмента у *S. marcescens* МР-141 при концентрації іонів Cu<sup>2+</sup> 80 мг/л, яка блокує синтез пігменту в середовищі без проліну.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Гусев М.В., Лебедева А.Ф., Саванина Я.В., Барский Е.Л. Устойчивость культур цианобактерии *Anacystis nidulans* и микроводоросли *Dunaliella maritima* к токсическому действию ванадия: влияние фосфата железа и цистеина // Вестн. МГУ. Сер. Биология. — 1997. — №3. — С. 12-17.
2. Reddy G. N., Prasad M. N. V. Heavy metal binding protein/ Polypeptide: occurrence, structure, synthesis and function // Environ. Exp. Bot. — 1990. — V. (30), № 3. — P. 251-264.
3. Таширеві А.Б. Теоретическі аспекти взаємодії мікроорганізмів з металами // Мікробіол. журнал. — 1994. — Т. 56, № 6. — С. 89-100.
4. Подгорський В.С., Касаткіна Т.П., Лозова О.Г. Дрожжі — біосорбенти важких металів // Мікробіол. журнал. — 2004. — Т. 66, №3. — С. 91-103.
5. Popper H.H., Woldrich A., Grigar E. Comparison of chromate and vanadate toxicity and its relationship to oxygen radical formation // Zentralb. Hyg. und Umweltmed. — 1991. — V. 194, №4. — P. 373-379.
6. Рильський О.Ф., Гвоздяк П.І. Вплив іонів важких металів на пігментсинтезуючу здатність бактерій // Доповіді НАН України. — 2007. — № 1. — С. 161-164.
7. Феофілова Е.П. Пигменты микроорганизмов. — М.: Наука, 1974. — 242 с.
8. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов: Пер. с англ. — М.: Мир, 1986. — 422 с.



**А.Ф. Рильский<sup>1</sup>, П.И. Гвоздяк<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Запорожский национальный университет, ул. Жуковского, 66,  
Запорожье, 69000, Украина;  
тел.: 8 (061) 289 12 53; e-mail: Rylsky@mail.ru

<sup>2</sup> Институт коллоидной химии и химии воды НАН Украины, бульвар Академика  
Вернадского, 42, Киев-142,  
ГСП 03680, Украина; тел.: 8 (044) 424 35 79; e-mail: honch @ iccwc.kiev.ua

## **УГНЕТЕНИЕ ПИГМЕНТСИНТЕЗИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ БАКТЕРИЙ ИОНАМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

### **Реферат**

В работе представлены результаты исследований пигментсинтезирующей способности бактерий в условиях действия стрессовых факторов. Установлено, что Sn (II), Co (II), Cu (II), V (V) — блокируют синтез пигментов при концентрациях 60–80 мг/л, а Ag — при концентрации на уровне 7 мг/л. Уровни концентраций металлов, блокирующие синтез пигментов, отличаются от уровней, прекращающих рост бактерий на 25–57 %. Добавленный в питательную среду пролин вызывает усиление синтеза продигиозина у *S. marcescens* MP-141 при концентрации Cu (II) 80 мг/л.

**К л ю ч е в ы е с л о в а:** бактерии, пигменты, тяжелые металлы.

**O.F. Rylskiy<sup>1</sup>, P.I. Gvozdyak<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Zaporizky National University, Zhukovsky Str. 66, Zaporizhzhja, 69000, Ukraine;  
tel.: 8 (061) 289 12 53; e-mail: Rylsky@mail.ru

<sup>2</sup> Institute of Colloid and Water Chemistry, NAS of Ukraine, Acad. Vernadsky  
boulevard, 42, Kyiv-142, GSP 03680, Ukraine;  
tel.: 8 (044) 424 35 79; e-mail: honch @ iccwc.kiev.ua

## **SUPPRESSION OF THE PIGMENT-SYNTHESIZING CAPACITY OF BACTERIA WITH HEAVY METALS IONS**

### **Summary**

The results obtained during the investigation of the pigment-synthesizing capacity of bacteria in conditions of stressful factors action are represented. The major attention was payed on the study of heavy metals action on the pigment-synthesizing capacity of bacteria. The concentration limit to the loss of the pigment-synthesizing capacity and bacteria growth for some metals, has been established. Synthesis of a pigment at *S. marcescens* MP-141 at concentration of Cu (II) of 80 mg/l amplifies at addition of prolin in medium.

**Key words:** bacteria, pigments, heavy metals.

