

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS* В ЗОНАХ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

С. В. Мальцева¹⁾, Е. Р. Грицкевич¹⁾, А. Г. Сыса²⁾, И. Э. Бученков²⁾,
В. С. Бирг³⁾, А. Хайдер¹⁾

¹⁾ Учреждение образования «Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета, ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь, kaf_immunal@iseu.by

²⁾ Учреждение образования «Полесский государственный университет», ул. Днепровской флотилии, 23, 225710, г. Пинск, Брестская область, Беларусь, box@polessu.by

³⁾ Учреждение образования «Белорусский государственный педагогический университет имени М. Танка» ул. Советская, 18, 220030, г. Минск, Республика Беларусь, estfac@bspu.by

В статье представлены результаты исследования антиоксидантной активности (АОА) бактерий рода *Bacillus* (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycoides*), выделенных из почвенных проб территорий с разным уровнем радиационного воздействия. Исследование проводилось на модельных участках, расположенных в Полесском государственном радиационно-экологическом заповеднике (зона длительного воздействия высоких доз ионизирующего излучения), а также на территориях с естественным радиационным фоном (Оршанский район, Березинский биосферный заповедник, Островецкий район). Антиоксидантную активность оценивали методом ингибирования свободного радикала DPPH. Установлено, что бактерии, выделенные из почв ПГРЭЗ, демонстрируют повышенную АОА (на 44,3±3%) по сравнению с образцами из незагрязненных территорий. Наибольшая антиоксидантная активность отмечена у *Bacillus mycoides*. Полученные данные свидетельствуют о развитии адаптационных механизмов у бактерий рода *Bacillus* в ответ на длительное воздействие ионизирующего излучения, что выражается в усилении их антиоксидантной системы. Результаты исследования подчеркивают потенциальную роль антиоксидантной активности как маркера окислительного стресса у микроорганизмов в условиях радиационного загрязнения.

Ключевые слова: Бактерии рода *Bacillus*, антиоксидантная активность, ионизирующее излучение, окислительный стресс, радиационное загрязнение, адаптация микроорганизмов, почвенные микроорганизмы.

COMPARATIVE ANALYSIS OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BACILLUS BACTERIA IN ZONES WITH DIFFERENT LEVELS OF RADIATION EXPOSURE

S. V. Maltseva¹⁾, E. R. Gritskevitch¹⁾, A. G. Sysa²⁾, I. E. Buchenkov²⁾,
V. S. Birg³⁾, A. Hyder¹⁾

¹⁾ International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, Dolgobrodskaya str., 23/1, 220070, Minsk, Belarus, kaf_immunal@iseu.by

²⁾ Polessky State University, Dneprovskoy flotilii str., 23, 225710, Pinsk, Belarus, box@polessu.by

³⁾ Belarusian State Pedagogical University after M. Tank, Saveckaja Street, 18, 220030 Minsk, Belarus, estfac@bspu.by

The results of the study of antioxidant activity (AOA) of *Bacillus* bacteria (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycoides*) isolated from soil samples of territories with different levels of radiation exposure are presented in the article. The study was performed on model plots located in Polessky State Radiation-Ecological Reserve (zone of long-term exposure to high doses of ionizing radiation), as well as on territories with natural radiation background (Orsha District, Berezinskiy Biosphere Reserve, Ostrovetsky District). Antioxidant activity was evaluated by DPPH free radical inhibition method. It was found

that the bacteria isolated from the soils of PSRER showed increased AOA (by $44.3 \pm 3\%$) in comparison with samples from unpolluted territories. The highest antioxidant activity was observed in *Bacillus mycoides*. The obtained data indicate the development of adaptation mechanisms in bacteria of *Bacillus* genus in response to prolonged exposure to ionizing radiation, which is expressed in the strengthening of their antioxidant system. The results of the study emphasize the potential role of antioxidant activity as a marker of oxidative stress in microorganisms under conditions of radiation contamination.

Keywords: *Bacillus* bacteria, antioxidant activity, ionizing radiation, oxidative stress, radiation pollution, adaptation of microorganisms, soil microorganisms.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2025-1-68-72>

В результате аварии на Чернобыльской атомной электростанции (АЭС) обширная территория Республики Беларусь оказалась загрязнена радионуклидами. В течение первых нескольких недель основное радиационное воздействие на почвенный покров оказывали короткоживущие радиоизотопы, в то время как в долгосрочной перспективе значительный вклад вносят долгоживущие радионуклиды, период полураспада которых в среднем составляет 30 лет [1]. В связи с тем, что почва является средой обитания огромного разнообразия микроорганизмов, их образ жизни значительно меняется от условий окружающей среды, включая засоление, засуху, низкие и высокие температуры и т. д. Многие из них вызывают стресс и специфическую реакцию – адаптационный синдром, включающий различные защитные механизмы.

Одним из таких стрессовых факторов для микроорганизмов является ионизирующее излучение, генерируемое радионуклидами. Радиационное излучение приводит к образованию избыточного количества активных форм кислорода (АФК), как следствие нарушения баланса между их образованием и разрушением. Накопление АФК приводит к развитию окислительного стресса, который выражается в изменении метаболизма бактериальных клеток и даже гибели. Однако микроорганизмы могут поддерживать свою жизнеспособность за счет наличия антиоксидантной системы (АОС), нейтрализующей АФК. В состав АОС входят ферментативные и низкомолекулярные антиоксиданты, представляющие собой химические соединения разного рода, в том числе вторичные метаболиты [2].

Спорообразующие бактерии рода *Bacillus* – обширный род грамположительных палочковидных бактерий, образующих внеклеточные споры [3]. Большинство представителей данного рода являются почвенными обитателями. Благодаря вариативности биологических свойств и развитому ферментативному аппарату они играют ключевую роль в деградации сложных соединений органического и неорганического происхождения.

В связи с высокой приспособляемостью и повсеместной распространенностью род *Bacillus* вызывает повышенный интерес у ученых с точки зрения устойчивости к длительному воздействию ионизирующего излучения.

Материалом для исследования послужили чистые культуры условно-патогенных микроорганизмов, в частности бактерии рода *Bacillus* (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycoides*), выделенные из почв, находившихся под длительным воздействием ионизирующего излучения, и почв, не подвергавшихся данному воздействию. Модельные участки (25 м² каждый), выбранные для изучения адаптивных реакций бактерий рода *Bacillus* на повышенный радиационный фон, расположены на территории Полесского государственного радиационно-экологического заповедника (длительное воздействие высоких доз ионизирующего излучения) (ПГРЭЗ), территории Оршанского района (естественный фоновый уровень ионизирующего излучения) (Оршанский район), территории Березинского биосферного заповедника (естественный фоновый уровень ионизирующего излучения) (ББЗ) и территории Островецкого района (территория, представляющая научный интерес как место расположения БелАЭС) (Островецкий район).

Для выделения бактерии рода *Bacillus* в качестве селективной среды использовали желточно-солевой агар с добавлением триметоприма и полимексина.

Подготовка образцов для изучения общей антиоксидантной активности (ОАА) включала в себя: разбавление ночной культуры мясо-пептонным бульоном (МПБ) до конечной оптической плотности (OD) $0,05 \pm 0,005$ и выращивание при 32-37°C (в зависимости от бактериальной культуры) в течение 24 ч. с аэрацией.

Антиоксидантную активность определяли в следующих образцах: культуральная жидкость (КЖ), оставшаяся после осаждения биомассы клеток (15 мин при 5000 g). Антиоксидантную активность бактериальных культур оценивали согласно методу Главинда по ингибированию свободного радикала 1,1-дифенил-2-пикрилгидразида (DPPH) в нашей модификации. 0.5 mM ДФПГ в этаноле смешивали с исследуемым образцом в соотношении 0,3 мл / 0,7 мл, тщательно перемешивали и смесь оставляли на 30 мин в темноте, затем определяли OD раствора. Раствор DPPH в этаноле имеет фиолетовый цвет с максимумом поглощения при 517 нм. В результате восстановления свободного радикала DPPH антиоксидантом интенсивность фиолетовой окраски DPPH снижается, что контролируется спектрофотометрически по изменению оптической плотности (OD) раствора при 517 нм.

Антиоксидантный эффект оценивали по проценту ингибирования свободных радикалов DPPH, рассчитанному как отношение изменения OD спиртового раствора DPPH при добавлении исследуемых образцов:

$$AOA = [(Ac - Ai) / Ac] \times 100\%$$

где AOA – антирадикальная активность; %; Ac – OD контрольных образцов; Ai – OD раствора DPPH после добавления исследуемого образца.

В качестве контролей использовали раствор ДФПГ со средой МПА для определения АОА культуральной жидкости.

Анализ общей антиоксидантной активности (ОАА) показал, что бактерии, выделенные из почв ПГРЭЗ, демонстрируют более высокий уровень АОА по сравнению с образцами из незагрязненных территорий. В частности, антиоксидантная активность микроорганизмов из ПГРЭЗ была на $44,3 \pm 3\%$ выше, чем у бактерий из почв Березинского биосферного заповедника (рис. 1). Это свидетельствует о том, что длительное воздействие ионизирующего излучения стимулирует развитие антиоксидантных механизмов у бактерий, что позволяет им эффективнее нейтрализовать активные формы кислорода (АФК), образующиеся под действием радиации.

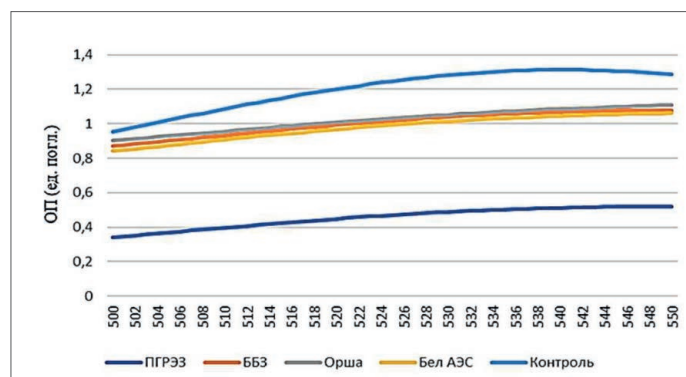


Рис. 1. ОАА бактерий проб почв модельных территорий

При исследовании отдельных представителей рода *Bacillus* была выявлена вариативность в уровне антиоксидантной активности. Наибольшая АОА отмечена у *Bacillus mycoides*, выделенных из почв ПГРЭЗ (рис. 2). Это может быть связано с их повышенной устойчивостью к окислительному стрессу, вызванному радиационным воздействием.

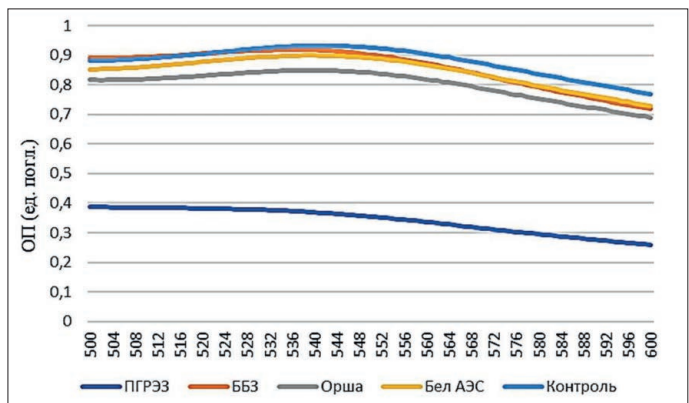


Рис. 2. ОАА *B.mycoides* проб почв модельных территорий

У других видов, таких как *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* и *Bacillus thuringiensis*, существенных различий в уровне АОА между образцами из загрязненных и незагрязненных территорий не наблюдалось (рис. 3–5). Это указывает на то, что адаптационные механизмы к радиационному стрессу могут варьироваться в зависимости от вида бактерий.

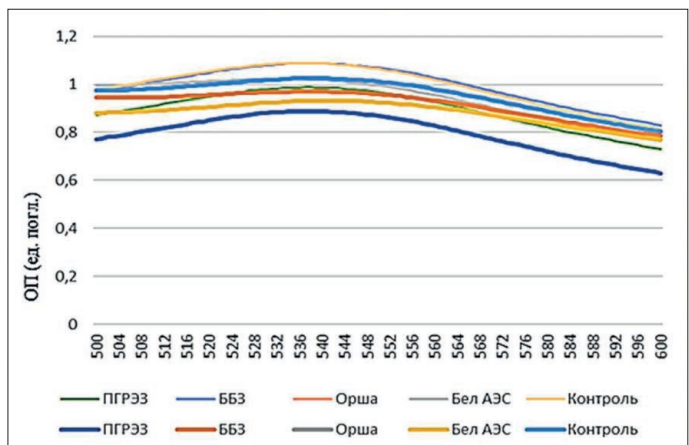


Рис. 3. ОАА *B.cereus* проб почв модельных территорий

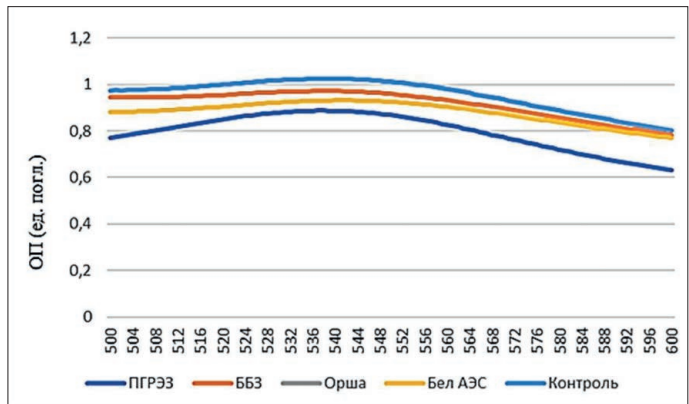


Рис. 4. ОАА *B.subtilis* проб почв модельных территорий

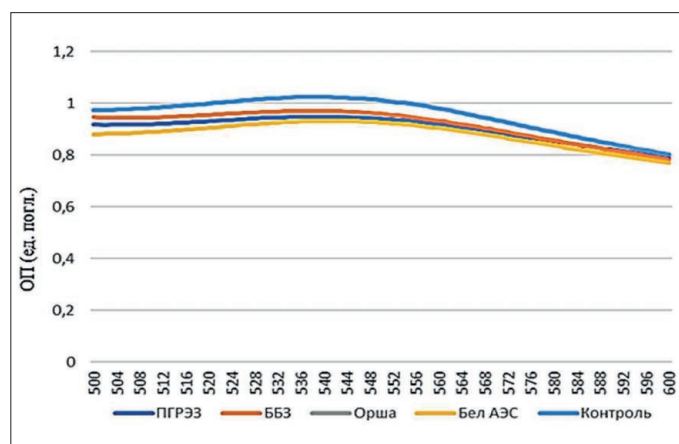


Рис. 5. ОАА *B.thuringiensis* проб почв модельных территорий

Полученные данные позволяют предположить, что повышение антиоксидантной активности у бактерий рода *Bacillus* в условиях длительного радиационного воздействия связано с активацией их антиоксидантной системы (АОС). В состав АОС входят ферментативные (например, супероксиддисмутаза, каталаза) и низкомолекулярные антиоксиданты (например, глутатион, витамины), которые нейтрализуют избыточные АФК, предотвращая повреждение клеточных структур. Усиление АОА у бактерий из ПГРЭЗ может быть результатом длительной адаптации к условиям повышенного радиационного фона, что подтверждает их высокую устойчивость к окислительному стрессу.

Результаты исследования имеют важное значение для понимания механизмов адаптации микроорганизмов к экстремальным условиям окружающей среды, включая радиационное загрязнение. Повышенная антиоксидантная активность бактерий рода *Bacillus* может быть использована в качестве биомаркера для оценки уровня окислительного стресса в загрязненных почвах. Кроме того, изучение адаптационных механизмов этих бактерий открывает перспективы для их применения в биоремедиации радиационно-загрязненных территорий.

Следует отметить, что полученные результаты требуют дальнейшего уточнения и дополнения. В частности, необходимо изучить влияние других факторов, таких как доза и продолжительность радиационного воздействия, на антиоксидантную активность бактерий. Долгосрочные исследования позволят более точно определить роль антиоксидантной системы в адаптации микроорганизмов к радиационному стрессу и разработать методы её использования в практических целях.

Библиографические ссылки

1. Добровольский Г.В., Никитин Е.Д. Функции почвы в биосфере и экосистемах // Москва: Наука, 2003. 260 с.
2. Аристовская Т.В. Микроорганизмы как трансформаторы и стабилизаторы биосферы. Почвоведение // Москва: МИА, 2013. 76-82 с.
3. Алтон Л.В. Развитие и выживаемость бактерий рода *Bacillus* // Москва: Колос, 2018. 35 с.