

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ВОДОЁМА ИЗОЛЯТОВ БАКТЕРИЙ К ИОНАМ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ

М. О. Шванц¹⁾, Т. А. Пучкова¹⁾

¹⁾ Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь, puchkova@bsu.by

Проведено изучение устойчивости изолятов бактерий, выделенных из проб воды Чижовского водохранилища, к ионам тяжёлых металлов. При росте на жидкой питательной среде для самых устойчивых изолятов ингибирующие концентрации металлов составили, ммоль/л: меди – 7; свинца – 3,5; кадмия – 1,5; кобальта – 3,5; цинка – 10. Выделен изолят бактерий, устойчивый к высоким концентрациям четырех металлов: меди, свинца, кобальта и цинка. Показано, что при росте бактерий на жидких питательных средах, ингибирование их роста ионами металлов происходит при концентрациях на 25–35 % меньших, чем на агаризованных питательных средах.

Ключевые слова: микроорганизмы водоёма; тяжёлые металлы; ингибирующие концентрации.

DETERMINATION OF THE RESISTANCE OF BACTERIAL ISOLATES OBTAINED FROM RESERVOIR TO HEAVY METAL IONS

М. О. Shvants¹⁾, Т. А. Puchkova¹⁾

¹⁾ Belarusian State University, Nezavisimosti ave., 4, 220030, Minsk, Belarus, puchkova@bsu.by

A study was conducted on the resistance of bacterial isolates obtained from water samples of the Chizhovsky Reservoir to heavy metal ions. When grown on liquid nutrient media, the inhibitory concentrations of metals for the most resistant isolates were found to be, in mmol/L: copper – 7; lead – 3.5; cadmium – 1.5; cobalt – 3.5; zinc – 10. A bacterial isolate has been obtained that is resistant to high concentrations of four metals: copper, lead, cobalt, and zinc. It has been shown that when bacteria grow on liquid nutrient media, inhibition of their growth by metal ions occurs at concentrations 25–35 % lower, than on agarized nutrient media.

Keywords: microorganisms of the reservoir; heavy metals; inhibitory concentrations.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2025-2-281-284>

Чижовское водохранилище находится в юго-восточной части города Минска. Оно создано на реке Свислочь в середине прошлого века как водоём, предназначенный для обеспечения технической водой ТЭЦ-3 и расположенных поблизости предприятий. В него в течение многих лет попадали недостаточно очищенные промышленные сточные и городские дождевые воды, что привело к значительному загрязнению донных отложений. Частичная очистка водохранилища от загрязнённого ила проводилась в 2010 году [1]. В пробах воды из водохранилища часто отмечается превышение допустимых концентраций тяжёлых металлов и нефтепродуктов. Опасность попадания в водоём тяжёлых металлов состоит в том, что они накапливаются в иле, аккумулируются в водных организмах и оказывают на них токсическое действие. Тяжёлые металлы оказывают значительное воздействие и на обитающие в водоёмах микроорганизмы, за счёт хорошей способности к комплексообразованию, создавая стрессовую среду, которая подавляет рост, снижает разнообразие, активность микроорганизмов и изменяет их биохимические свойства. Загрязнение водных экосистем тяжелыми металлами приводит к появлению бактерий, устойчивых к этим металлам, что, в свою очередь, способствует развитию их резистентности к противомикробным препаратам [2– 4].

Целью работы являлась оценка устойчивости к ионам тяжелых металлов изолятов бактерий, выделенных из проб воды Чижовского водохранилища.

Объектами исследований служили пробы воды из Чижовского водохранилища, из которых выделяли устойчивые к тяжёлым металлам бактерии.

Для культивирования бактерий использовали жидкую питательную среду – пептон-дрожжевой бульон (ПДБ) и плотную среду – пептон-дрожжевой агар (ПДА). В состав ПДБ входили следующие компоненты, в г/л: пептон – 10, дрожжевой экстракт – 5, натрия хлорид – 8. Компоненты среды взвешивали пропорционально указанным количествам и растворяли в требуемом для приготовления питательных сред объёме дистиллированной воды. Начальное значение pH среды составляло 7,0–7,2. ПДА кроме компонентов, входивших в ПДБ, содержал 15 г/л агара микробиологического. Растворы солей металлов (пентагидрата сульфата меди, тригидрата уксуснокислого свинца, хлорида кадмия, моногидрата сульфата кобальта, гептагидрата сернокислого цинка) готовили из расчёта концентраций в них ионов металлов и стерилизовали отдельно. Их добавляли в расплавленные, охлажденные до 50 °С агаризованные и в жидкие питательные среды таким образом, чтобы конечная концентрация ионов металлов составляла 0,01–15 ммоль/л. Для определения влияния ингибирующих концентраций ионов металлов на агаризованную среду ПДА, разлитую в чашки Петри, засеивали бактерии с помощью бактериальной петли медальонами и культивировали при 28 °С в течение 3 суток. Затем учитывали, какие концентрации ионов металлов ингибировали рост бактерий на чашках. Для определения влияния ионов тяжёлых металлов в жидких питательных средах, сначала выращивали ночные культуры бактерий. Затем из образцов ночной культуры пипеткой отбирали 0,3 мл и переносили в опытные пробирки с 2,7 мл ПДБ с добавленными определёнными концентрациями ионов металлов. Ингибирование роста бактерий в пробирках определяли визуально через 3 суток культивирования при 28 °С по отсутствию признаков роста бактерий, то есть если среда в пробирках оставалась прозрачной. К признакам бактериального роста в жидких средах относилось наличие мутности, плёнок, хлопьев и осадка.

Для проведения исследований из водохранилища отбирали пробы воды в течение шести месяцев в тёплое время года. Для выделения устойчивых к ионам металлов изолятов бактерий проводили посевы проб воды на агаризованные среды, содержащие ионы металлов в концентрациях 0,1–10 ммоль/л. Рост колоний бактерий на чашках Петри наблюдался до следующих концентраций ионов металлов, в ммоль/л: меди, свинца и кобальта – 5, цинка – 10, кадмия – 2. Среди выросших колоний на ПДА с ионами металлов для дальнейших исследований было отобрано восемь морфологически отличающихся изолятов.

С этими изолятами сначала проводилось исследование по влиянию концентраций ионов тяжелых металлов на агаризованных питательных средах (таблица 1).

Таблица 1

Изучение влияния ионов тяжелых металлов на рост бактерий на твердой питательной среде

Изолят	Ингибирующая концентрация ионов металлов, ммоль/л				
	медь	свинец	кадмий	кобальт	цинк
1	12,5	4,5	1,5	5	15
2	5,5	2	1	2	4
3	4	4,5	2,5	2	12,5
4	6,5	3	1	3,5	12,5
5	5	4,5	2	1,5	6,5
6	5	2	1	3	4
7	5,5	3,5	1	2	7,5
8	5,5	3,5	2	3	12,5

Исследуемые изоляты были наиболее чувствительны к ионам кадмия в концентрациях 1–2 ммоль/л и кобальта – 2–3 ммоль/л. Около 50 % исследуемых изолятов ингибировали следующие концентрации ионов металлов, ммоль/л: меди – 5,5, свинца – 3,5, цинка – 7,5. Для самых устойчивых изучаемых изолятов ингибирующие концентрации металлов на твердой питательной среде для составили, ммоль/л: меди – 12,5; свинца – 4,5; кадмия – 2,5; кобальта – 5; цинка – 15.

Для более точного установления ингибирующих концентраций ионов металлов проверено их влияние на рост отобранных изолятов в жидкой питательной среде (таблица 2).

Таблица 2

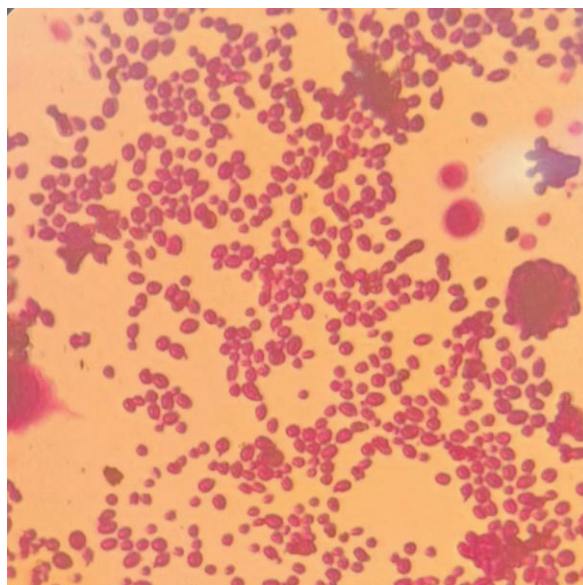
Изучение влияния ионов тяжелых металлов на рост бактерий в жидкой питательной среде

Изолят	Ингибирующая концентрация ионов исследуемого металла, ммоль/л				
	медь	свинец	кадмий	кобальт	цинк
1	7	3,5	1	3,5	10
2	3,5	1,5	0,5	1,5	3
3	2,75	3,5	1,5	0,75	10
4	5,5	2	0,5	2,5	10
5	4	3,5	1,25	0,75	4,75
6	3,75	1,25	0,8	2,25	2,75
7	4,5	2,5	0,5	1	6,5
8	4	2,5	1,5	2	10

По данным таблицы 2, исследуемые изоляты были наиболее чувствительны к ионам кадмия в концентрациях 0,5–1,5 ммоль/л и кобальта – 0,75–3,5 ммоль/л. Около 50 % исследуемых изолятов ингибировали следующие концентрации ионов металлов, ммоль/л: меди – 4, свинца – 2,5, цинка – 6,5. Максимальные ингибирующие концентрации металлов на жидкой питательной среде для изучаемых изолятов составили, ммоль/л: меди – 7; свинца – 3,5; кадмия – 1,5; кобальта – 3,5; цинка – 10. Устойчивым к более высоким концентрациям меди оказался изолят №1, свинца – изоляты №1 и №5, кадмия – №3, №5 и №8, кобальта – №1 и №6, цинка – №1, №3, №4 и №10. Таким образом, изолят №1 оказался устойчив к высоким концентрациям четырех металлов: меди, свинца, кобальта и цинка.

Установлено, что при культивировании в жидких питательных средах ингибирование роста исследуемых бактерий проходило при концентрациях ионов тяжелых металлов на 25–35 % меньших, чем на твердых питательных средах. Это может быть связано со связыванием определенных количеств металлов с компонентами агаризованной среды.

Проведено изучение некоторых культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств изолята № 1. Он на твердых питательных средах образовывал гладкие, округлые, ярко розовые колонии крупного размера и пастообразной консистенции. При микроскопировании окрашенных мазков с иммерсионным объективом установлено, что клетки бактерий являлись грамположительными, имели овальную или шаровидную форму, располагались одиночно или в скоплениях (рисунок). Размер клеток составлял 4–6 мкм в диаметре. Изучаемый изолят обладал каталазной, оксидазной, протеолитической, липолитической и пектолитической активностями. Амилолитическую активность не проявлял. Сероводород и индол не образовывал. Изучение биохимических свойств выделенного изолята, а также результаты проведения дополнительных тестов позволили нам предварительно отнести его к роду *Rhodotorula* spp.



Микрокопирование клеток изолята №1

Таким образом проведено изучение влияния тяжёлых металлов на бактерии, выделенные из проб воды Чижовского водохранилища. При росте на жидкой питательной среде для самых устойчивых изолятов ингибирующие концентрации металлов составили, ммоль/л: меди – 7; свинца – 3,5; кадмия – 1,5; кобальта – 3,5; цинка – 10. Выделен изолят бактерий, устойчивый к высоким концентрациям четырёх металлов: меди, свинца, кобальта и цинка.

Библиографические ссылки

1. Оздоровление (очистка) водохранилища «Чижовское» в г. Минске [Электронный ресурс]. Минск, 2020. Режим доступа: Решения по КИПиА (lenadmin.gov.by). Дата доступа: 10.04.2024.
- 2., Оценка влияния ионов тяжёлых металлов на рост бактерий, выделенных из водоёмов города Минска / Пучкова Т.А. [и др.] // Инновационные биотехнологии для охраны окружающей среды : от теории к практике : материалы I Междунар. науч.-практ. конф. (Минск, 23-25 апреля 2024 г.) / орг. ком. конф.: А. А. Шепшелев (пред.) и [др.]. Минск : ИнМи, 2024. С. 50–51.
3. Effects of heavy metals on bacterial growth, biochemical properties and antimicrobial susceptibility / F. Ngwewa [et al.] // Journal of Applied & Environmental Microbiology. 2022. Vol. 10. №. 1. P. 9–16.
4. Effects of heavy metals on microbial communities in sediments and establishment of bioindicators based on microbial taxa and function for environmental monitoring and management / C. Li [et al.] // Science of the Total Environment. 2020. Vol. 749. P. 1415–1417.