

## МІКРОБІОЛОГІЯ

УДК 577.118.532: 579.873.7: 615.015.8

### РЕЗИСТЕНТНІСТЬ СТРЕПТОМІЦЕТІВ ДО СУЛЬФАТІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

© 2009 р. Л. В. Поліщук, О. І. Бамбура, В. В. Лук'янчук

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного  
Національної академії наук України  
(Київ, Україна)*

Досліджено стійкість до іонів важких металів (марганцю, міді, цинку, кобальту) 40 штамів стрептоміцетів, що були виділені з ґрунтів України з різним рівнем антропогенного забруднення та вплив цих металів на деякі фенотипові ознаки мікроорганізмів. Встановлено такий ряд токсичності металів для досліджуваних стрептоміцетів: мідь > кобальт > цинк > марганець. Виявлено п'ять полірезистентних до важких металів штамів. Стійким до максимальних концентрацій іонів цинку, кобальту та марганцю і високої концентрації міді (1,0 мМ) є штам *Streptomyces sp. T8*. Стійкими до двох металів виявилися штами *S. sp. M3* та *S. sp. M12* (мідь, марганець), *S. sp. M20* (цинк, кобальт), *S. sp. M15* (кобальт, марганець). Тільки один штам (*S. sp. M20*) виявився чутливим до мінімальних концентрацій (0,1 мМ) двох металів (міді та марганцю). Концентрація іонів важких металів у середовищі вирощування впливає на перебіг ряду морфологічних та біосинтетичних процесів. Виявлено хвилеподібне посилення синтезу пігментів рядом культур стрептоміцетів зі збільшенням концентрації солей цинку, міді чи марганцю та подальше його припинення. Додавання солі цинку (2,5 мМ) призводило до поруляції штамів *S. sp. M20* та *S. sp. M25*.

**Ключові слова:** *Streptomyces*, важкі метали, стійкість

Основними джерелами забруднення навколишнього середовища важкими металами (марганець, кобальт, мідь, цинк, молібден та інші) вважають аерозольні викиди в атмосферу промислових підприємств і автотранспорту у вигляді оксидів і сульфідів; промислові, сільськогосподарські та побутові тверді відходи і стічні води, а також самі родовища металів. Проблема забруднення ґрунтів важкими металами набула планетарного характеру, актуальна вона і для України. За структурою земельного фонду 2/3 території нашої країни зайнято землями сільськогосподарського призначення, з яких понад 4,5 млн га забруднені важкими металами і радіонуклідами (Андреюк та ін., 2001; Земельні ..., 1998; Іутинська, 2006).

*Адреса для кореспонденції:* Поліщук Людмила Василівна, Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, вул. Заболотного, 154, Київ, ДСН, ДО3680, Україна;  
e-mail: polischuk@serv.imv.kiev.ua

Значна увага приділяється вивченню дії іонів важких металів на організми людей, тварин та рослини. Досліджень впливу важких металів на мікроорганізми, зокрема ґрунтового мікрофлору (наприклад, стрептоміцети), значно менше (Коробкин, Передельський, 2009). Відомо, що мікроорганізми чутливо реагують на зміни факторів навколишнього середовища, зокрема, в ґрунтах, забруднених важкими металами, пригнічується розвиток окремих груп мікроорганізмів, їх біохімічна активність, змінюється склад мікробних угруповань (Гузев и др., 1991; Евдокимова и др., 1984).

Водночас ґрунтова мікрофлора має велике значення для забезпечення родючості ґрунтів в умовах антропогенного їх забруднення важкими металами (Валагурова и др., 2003; Jansen et al., 1994).

Таким чином, існує необхідність всебічного вивчення дії цих полютантів на мікробні клітини, їх спадковість та метаболізм. Велике

## РЕЗИСТЕНТНІСТЬ СТРЕПТОМІЦЕТІВ

значення має дослідження стійкості представників окремих таксономічних груп (зокрема стрептоміцетів) до іонів важких металів (Андреюк и др., 1999; Андреюк та ін., 2001; Валагурова и др., 2003; Валерко, 2007).

Метою даної роботи було вивчення стійкості колекції штамів стрептоміцетів, виділених з ґрунтів України з різним антропогенним забрудненням іонами важких металів (марганцю, міді, цинку, кобальту).

### МЕТОДИКА

Об'єктами досліджень були 40 штамів стрептоміцетів (*Streptomyces*) з колекції відділу генетики мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології НАН України. Штами були виділені зі зразків ґрунтів України з різним антропогенним навантаженням: із забруднених солями міді – М-група (25 штамів) та з дослідної ділянки ІМВ – Т-група (15 штамів). Родова належність мікроорганізмів визначена за допомогою відповідних рекомендацій (Валагурова и др., 2003; Определитель ..., 1983).

При виконанні роботи використовували агаризоване соєве середовище (Валагурова и др., 2003), середовище S (агаризований та рідкий варіанти) (Okanishi et al., 1989) та середовище Чапека (Валагурова и др., 2003). При дослідженні стійкості до важких металів використовували середовище Чапека, в яке додавали розчини сульфатів міді, кобальту, марганцю та цинку. Робочі концентрації розчинів  $\text{CuSO}_4$  – 0,1, 0,5, 1,0 та 2,0 мМ, розчинів  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{CoSO}_4$  та  $\text{MnSO}_4$  – 0,1, 0,25, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0 та 10,0 мМ.

Для дослідження резистентності стрептоміцетів до важких металів здійснювали нанесення на поверхню твердого середовища Чапека аліквот відмитого п'ятиденного міцелію стрептоміцетів. За наявності росту міцелію культуру вважали стійкою до тієї чи іншої концентрації солі, внесеної в середовище, а за відсутності – чутливою (Jansen et al., 1994).

Посилення синтезу пігменту культурою стрептоміцету визначали візуально за інтенсивністю кольору та розмірами забарвленої зони твердого середовища Чапека навколо окремих колоній стрептоміцетів.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження резистентності сорока штамів стрептоміцетів, ізольованих з ґрунтів України з різним антропогенним навантаженням, до

наявності сульфатів міді, кобальту, марганцю та цинку в середовищі, засвідчили значну їх стійкість до іонів марганцю та найвищу чутливість до катіонів міді (табл. 1, 2).

За даними літератури, при порівнянні дії окремих важких металів на ґрунтову мікрофлору можна представити такий ряд токсичності: ртуть > срібло > кадмій > свинець > мідь > кобальт > нікель > цинк (Евдокимова и др., 1984). З іншого боку, повідомляється, що розташування окремих металів у даному ряду може змінюватися залежно від властивостей і видової приналежності мікроорганізму та характеристики ґрунтів (Евдокимова и др., 1984; Page et al., 1996).

Більшість досліджених штамів стрептоміцетів, незалежно від місця відбору ґрунту, були стійкими до 10,0 мМ (549,4 мг металу/л середовища)  $\text{MnSO}_4$  в середовищі (таблиця 1). Це узгоджується з даними інших дослідників, зокрема, з повідомленням про стійкість стрептоміцетів до солі марганцю у концентрації 100,0 мМ (Сенцова, Максимов, 1985). Крім того, згідно з ДСТУ, найменш токсичними катіонами із ряду використаних важких металів ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ) є іони марганцю (1500,0 мг валової форми чи 50,0 мг рухомої форми металу на кг ґрунту) (Земельні ..., 1998). Цікавим є факт чутливості ряду культур групи М (наприклад, штаму *S. sp. M20*) навіть до мінімальної концентрації 0,1 мМ  $\text{MnSO}_4$  (5,5 мг металу/л середовища).

Як відомо, іони кобальту входять до складу вітаміну  $\text{B}_{12}$  і необхідні для участі останнього в обміні речовин клітин як мікроорганізму (наприклад, *Streptomyces coelicolor*), так і людини (Кушкевич та ін., 2007; Хамагаева и др., 2006; Matra, Roy, 1960). Встановлено, що синтез вітаміну  $\text{B}_{12}$  мікроорганізмами (наприклад, пропіоновокислими бактеріями) прямо корелює з концентрацією іонів кобальту у середовищі, однак, починаючи з певної концентрації, має місце уповільнення росту клітин та зменшення кількості життєздатних клітин у популяції внаслідок конкуренції процесів синтезу вітаміну з іншими метаболічними реакціями за джерела енергії (АТФ, НАДФ, ФАД та ін.) (Хамагаева и др., 2006). Концентрація 2,5 мМ  $\text{CoSO}_4$  (147,35 мг металу/л середовища) була максимальною, до якої виявлена стійкість досліджуваних штамів стрептоміцетів (менше 10 %). Стійкими до цієї концентрації виявилися культури з різних груп: штам *S. sp. T8*, *S. sp. M2*, *S. sp. M15*. Згідно з ДСТУ, прийняті гранично допустимі дози забруднення ґрунту солями

Кількість штамів стрептоміцетів,  
стійких до наявності  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  та  $\text{Mn}^{2+}$  у середовищі, %

Стрептоміцети	Концентрація солей важких металів у середовищі, мМ						
	0,1	0,25	0,5	1,0	2,5	5,0	10,0
$\text{MnSO}_4$							
Група М	95,5	95,5	95,5	95,5	95,5	95,5	81,8
Група Т	100,0	100,0	100,0	85,5	85,5	78,6	78,6
$\text{ZnSO}_4$							
Група М	100,0	100,0	92,0	80,0	80,0	28,0	4,0
Група Т	90,0	80,0	80,0	70,0	60,0	20,0	10,0
$\text{CoSO}_4$							
Група М	88,0	80,0	64,0	32,0	8,0	0	0
Група Т	83,3	61,1	61,1	55,6	5,6	0	0

Таблиця 2

Кількість штамів стрептоміцетів,  
стійких до наявності  $\text{Cu}^{2+}$  у середовищі, %

Стрептоміцети	Концентрація $\text{CuSO}_4$ у середовищі, мМ			
	0,1	0,5	1,0	2,0
Група М	92,0	32,0	12,0	8,0
Група Т	60,0	13,2	13,2	6,6

кобальту становлять 50,0 мг валової форми чи 5,0 мг рухомої форми металу на кг ґрунту (Земельні ..., 1998). Однак, для ряду штамів (*S. sp. M4*, *S. sp. M13*, *S. sp. M14*, *S. sp. T17*, *S. sp. T7* та *S. sp. T.9*) навіть мінімальний вміст сульфату кобальту (5,9 мг металу/л) був токсичним.

Одним з важливих мікроелементів для клітини як мікроорганізму, так і людського організму є цинк. Він входить до складу ряду ферментів, які каталізують перетворення пептидів, ефірів та альдегідів (Кушкевич та ін., 2007). Встановлено індукцію синтезу ряду біологічно активних метаболітів певними концентраціями солей цинку: так, концентрація сульфату цинку 1,5 мМ посилює синтез вітаміну  $\text{B}_{12}$  *S. coelicolor* в 150 разів. Але, з іншого боку, встановлено, що високі концентрації цинку пригнічують біосинтетичні процеси (Matra, Roy, 1960). Виявлено, що окремі штами стрептоміцетів (*S. indigocolor*, *S. albus* та *S. griseus*) здатні накопичувати в клітинах значні кількості цього металу без шкоди для себе (Андреюк та ін., 2001; Іутинська, 2006; Кушкевич та ін., 2007).

Концентрація 2,5 мМ  $\text{ZnSO}_4$  (163,45 мг металу/л середовища) – це максимальна концентрація, за якої нами було виявлено ріст більшості стрептоміцетів (60-80%), і тільки два штами *S. sp. M20* та *S. sp. T8* були стійкими до концентрації 10,0 мМ  $\text{ZnSO}_4$  (653,8 мг металу/л). Крім того, для штаму *S. sp. T16* навіть мінімальна концентрація (0,1 мМ) була токсичною. Згідно з ДСТУ, прийняті гранично допустимі дози забруднення ґрунту солями цинку становлять 100,0 мг валової форми чи 23,0 мг рухомої форми металу на кг ґрунту (Земельні ..., 1998).

Відомо, що культури, виділені з природних субстратів, багатих металами, ростуть за вищих граничних концентрацій їх іонів, ніж штами, ізольовані з субстратів з низьким вмістом цих елементів (Евдокимова и др., 1984; Коробкин, Передельський, 2009; Сенцова, Максимов, 1985; Dent, Tabatabai, 1995). Так, серед культур групи М більшість штамів (92%) виявила стійкість до 0,1 мМ  $\text{CuSO}_4$  (6,35 мг міді/л середовища). Стійкість же двох штамів (*S. sp. M3* та *S. sp. M12*) з цієї групи була вищою, ніж

## РЕЗИСТЕНТНІСТЬ СТРЕПТОМІЦЕТІВ

загальна – 2,0 мМ CuSO<sub>4</sub> (127,1 мг металу/л середовища) (табл. 2). Штам *S. sp. T9* також виявився стійким до вмісту 2,0 мМ сульфату міді. Однак два штами (*S. sp. M20*, *S. sp. M23*) були чутливими й до 0,1 мМ солі (6,35 мг міді/л середовища). Згідно з даними літератури, штами стрептоміцетів є чутливими до наявності міді. Так, до наявності 6,0 мкг іонів міді/кг ґрунту стійкими є 54 % культур стрептоміцетів (Андреюк та ін., 2001; Іутинська, 2006). Як видно з табл. 1, стійкість стрептоміцетів групи Т становить 60 %, що відповідає даним літератури. Згідно з ДСТУ, прийняті гранично допустимі дози забруднення ґрунту солями міді становлять 55,0 мг валової форми або 3,0 мг рухомої форми металу на кг ґрунту (Земельні ..., 1998).

Загалом стрептоміцети групи М виявилися стійкішими до наявності катіонів усіх чотирьох важких металів у середовищі порівняно зі штамами групи Т: у них виявлено більшу кількість стійких культур як на мінімальних, так і на максимальних з використаних концентрацій важких металів у середовищах.

Відповідно до отриманих нами даних, можна представити такий ряд токсичності досліджуваних металів: мідь > кобальт > цинк > марганець.

На тлі загальновідомого твердження про те, що актиноміцети (і в першу чергу стрептоміцети) більш чутливі до високих концентрацій важких металів у середовищі існування порівняно з іншими групами ґрунтових мікроорганізмів є дані щодо стійкості окремих штамів деяких видів стрептоміцетів до певних металів. Вважають, що більшість мікроорганізмів стійкі до впливу важких металів (таких як мідь, кобальт, цинк, залізо та ін.) у концентраційних межах 0,1-10,0 мМ (Сенцова, Максимов, 1985). Виявлено, що окремі штами видів *S. albus*, *S. griseus*, *S. coelicolor* та *S. melanocyclus* стійкі до забруднення ґрунтів свинцем; ряд штамів видів *S. indigocolor*, *S. albus* та *S. griseus* стійкі до високих концентрацій солей цинку. Показана і стійкість окремих штамів стрептоміцетів, що належать до різних серій (*Violaceus*, *Albus*, *Achromogenes*, *Chrysomallus* та ряду інших) до ртуті, міді, кадмію та стронцію (Андреюк та ін., 2001; Іутинська, 2006; Кушкевич та ін., 2007). Встановлено існування явища полірезистентності мікроорганізмів до важких металів. Одночасно відомо, що резистентність мікроорганізму до одного металу не забезпечує перехресної стійкості до іншого (Сенцова, Максимов, 1985; Таширев и др., 2007).

Серед 40 досліджених нами штамів виявлено ряд культур (8,3%), які були полірезистентними до важких металів. Так, стійким до максимальних чи високих (1,0 мМ) концентрацій важких металів (цинк, кобальт, марганець) є штам *S. sp. T8*. Стійкість до двох металів виявлено у штамів *S. sp. M3* та *S. sp. M12* (мідь, марганець), *S. sp. M20* (цинк, кобальт), *S. sp. M15* (кобальт, марганець). В той же час тільки один штам (*S. sp. M20*) виявився одночасно чутливим до мінімальних (0,1 мМ) концентрацій двох металів (міді та марганцю). З даних літератури відомо про використання полірезистентних до важких металів стрептоміцетів (наприклад, *Streptomyces albobiviridis* 141) при заходах з оздоровлення ґрунтів. Повідомляється також про можливість використання чутливих культур як тест-об'єктів при оцінці забруднення ґрунтів важкими металами (Андреюк та ін., 2001; Іутинська, 2006; Коробкин, Передельський, 2009).

Встановлено, що стійкість мікроорганізмів до іонів важких металів забезпечується рядом механізмів: синтез деяких речовин (насамперед білків і пептидів), які нейтралізують іони металів після утворення з ними комплексів; зміна проникності клітинної мембрани; посилення активного та пасивного транспорту металовмісних комплексів та іонів металу; накопичення малорозчинних сполук важких металів на зовнішній поверхні клітини чи в цитоплазмі та ін. (Коробкин, Передельський, 2009; Кушкевич та ін., 2007; Пирог, 1999; Сенцова, Максимов, 1985). Здебільшого стійкість мікроорганізмів до важких металів детермінується хромосомними генами, однак доведено плазмідну локалізацію ряду генів стійкості до важких металів (срібло, кадмій, цинк, кобальт) (Сильвер и др., 1999; Nies, Silver, 1989; Silver S., Phung, 1996; Silver et al, 1999).

Як відомо, іони таких металів як кадмій, кобальт, мідь, цинк, залізо, молібден та ряду інших є необхідними та невід'ємними компонентами багатьох ферментів та вітамінів. Відсутність їх у середовищі призводить до гальмування і порушень у метаболізмі та зниження життєздатності клітини. У той же час виявлена пряма кореляція накопичення певних метаболітів від концентрації іонів ряду важких металів у середовищі вирощування (Хамагаева и др., 2006). Для ряду штамів стрептоміцетів встановлено посилення синтезу вторинних метаболітів при підвищенні вмісту солей важких металів (міді, заліза та цинку) у середовищі культивування, наприклад, антибіотиків штамами *S.*

*streptomycin*, *S. griseus* та *S. bikiniensis* (Андреюк та ін., 2001; Іутинська, 2006; Chesters, Rolinson, 1951; Matra, Roy, 1960).

Нами було встановлено посилення синтезу пігментів культурами стрептоміцетів зі збільшенням концентрації іонів важких металів (солей цинку, міді та марганцю) в середовищі і подальше його поступове припинення. Так, у ряду культур (*S. sp. T9*, *S. sp. M1*, *S. sp. M6* та *S. sp. M23*) спостерігався максимальний синтез пігментів при додаванні сульфату цинку в середовище до концентрації 1,0 мМ. Штам *S. sp. T8* максимально забарвлював середовище за вмісту  $ZnSO_4$  в концентрації 2,5 мМ. Крім цього, наявність солі цинку в концентрації 2,5 мМ призводила до споруляції двох штамів. Так, штамми *S. sp. M20* та *S. sp. M25* на інших середовищах не утворювали спори, тобто не мали характерного для спорулюючих культур стрептоміцетів оксамитової поверхні колоній (так звані bald-colony).

Покращення синтезу пігментів спостерігалось також і на середовищах, в які додавали сульфати міді та марганцю. Утворення коричневого дифундуючого пігменту посилювалось і було максимальним за концентрації 0,5 мМ  $CuSO_4$  з подальшим зменшенням на вищих концентраціях.

Для інших штамів спостерігалось покращення синтезу пігменту на середовищі зі збільшеним вмістом іонів марганцю. Максимальний синтез пігментів штамми *S. sp. M3* та *S. sp. T13* мав місце за концентрації 10,0 мМ сульфату марганцю, а штамми *S. sp. M1*, *S. sp. M28* та *S. sp. T8* – за концентрації 2,5 мМ.

Спостерігалась також залежність і кольору синтезованого пігменту чи синтезу культурою різних пігментів. Так, на середовищі з концентраціями  $MnSO_4$  від 0,5 до 5,0 мМ культура забарвлювала його в коричневий колір (максимум інтенсивності забарвлення за 2,5 мМ). На середовищі, яке містило 10,0 мМ  $MnSO_4$ , мала місце зміна забарвлення середовища на синій.

Таким чином, в результаті наших досліджень з оцінки стійкості 40 штамів стрептоміцетів, які були виділені зі зразків ґрунтів з різним антропогенним навантаженням, до сульфатів ряду важких металів встановлено такий ряд їх токсичності для досліджених культур: мідь > кобальт > цинк > марганець.

Виявлено, що серед 40 досліджених нами штамів є п'ять культур полірезистентних до

важких металів. Стійким до максимальних концентрацій іонів цинку, кобальту та марганцю чи високої концентрацій (1,0 мМ) міді є штам *S. sp. T8*. Крім того, стійкими до двох металів виявилися штамми *S. sp. M3* та *S. sp. M12* (мідь, марганець), *S. sp. M20* (цинк, кобальт), *S. sp. M15* (кобальт, марганець). У той же час тільки один штам (*S. sp. M20*) виявився одночасно чутливим до двох металів (міді та марганцю).

Встановлено кореляцію перебігу ряду морфологічних та біосинтетичних процесів з концентрацією іонів важких металів у середовищі вирощування. Зокрема, виявлено хвилеподібне посилення синтезу пігментів рядом культур стрептоміцетів зі збільшенням концентрації солей цинку, міді чи марганцю та подальше його припинення. Крім того, встановлено, що додавання солі цинку (2,5 мМ) призводило до споруляції двох штамів *S. sp. M20* та *S. sp. M25*, які на інших поживних середовищах були «лисими».

## ЛІТЕРАТУРА

- Андреюк Е.И., Иутинская Г.А., Петруша З.Б. Го-меостаз микробных сообществ почв, загрязнённых тяжёлыми металлами // Микробиол. журн. – 1999. – Т. 61, № 6. – С.15-21.
- Андреюк К.І., Іутинська Г.О., Антипчук А.Ф. та ін. Функціонування мікробних ценозів ґрунту в умовах антропогенного навантаження. – К.: Обереги, 2001. – 239 с.
- Валагурова Е.В., Козырицкая В.Е., Иутинская Г.А. Актиномицеты рода Streptomyces. Описание видов и компьютерная программа их идентификации. – Киев: Наук. думка, 2003. – 647 с.
- Валерко Р.А. Вплив комплексного забруднення важкими металами на мікрофлору дерново-підзолистого ґрунту // Вісн. Націон. ун-ту водного господарства та природокористування. – 2007. – Т. 38, № 2. – С. 3-9.
- Гузев В.С., Левин С.В. Перспективы эколого-микробиологической экспертизы состояния почв при антропогенных воздействиях // Почвоведение. – 1991. – № 9. – С. 50-62.
- Гузев В.С., Левин С.В., Звягинцев Д.Г. Реакция микробной системы почв на градиент концентрации тяжелых металлов // Микробиология. – 1985. – Т. 54, № 3. – С. 414-420.
- Евдокимова Г.А., Кислых Е.Е., Мозгова Н.П. Биологическая активность почв в условиях агротехногенного загрязнения на Крайнем Севере. – Л.: Наука, 1984. – 121 с.

## РЕЗИСТЕНТНІСТЬ СТРЕПТОМІЦЕТІВ

- Земельні ресурси України / Ред. В.В. Медведєв, Т.М. Лактіонова. – К.: Аграрна наука, 1998. – 148 с.
- Иутинская Г.А., Петруша З.Б. Резистентність ґрунтових мікроорганізмів до забруднення ґрунтів важкими металами // Мікробіол. журн. – 1999. – Т. 61, № 5. – С. 72-78.
- Иутинська Г.О. Ґрунтова мікрофлора. – К.: Арістей, 2006. – 282 с.
- Коробкин В.И., Передельский Л.В. Экология. – М.: Феникс, 2009. – 602 с.
- Кушкевич І, Гнатуш С., Гудзь С. Вплив важких металів на клітини мікроорганізмів // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біологічна. – 2007. – Вип. 45. – С. 3-28.
- Определитель актиномицетов: рода *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Chainia* / Ред. Г.Ф. Гаузе, Т.П. Преображенская, М.А. Свешникова, Е.Н. Мишутин. – М.: Наука, 1983. – 248 с.
- Пирог Т.П. Роль экзополисахаридов *Acinetobacter* sp., синтезируемых в различных условиях культивирования, в защите клеток от действия  $Va^{2+}$  и  $Zn^{2+}$  // Мікробіол. журн. – 1999. – Т. 61, № 5. – С. 64-72.
- Сенцова О.Ю., Максимов В.Н. Действие тяжелых металлов на микроорганизмы // Успехи микробиологии. – 1985. – Т. 20. – С. 227-252.
- Сильвер С., Ло Ч.Ф., Гунта А. Катионы серебра: антимикробное действие, клиническое применение и бактериальная резистентность // Весник МСЗПА. – 1999. – Т. 17, вып. 3. – С. 1-3.
- Таширев А.Б., Матвеева Н.А., Романовская В.А. и др. Полирезистентность и сверхчувствительность к тяжелым металлам антарктических микроорганизмов // Доп. НАН України. – 2007. – № 11. – С. 70-75.
- Хамагаева И.С., Качанина Л.М., Тумурова С.М. Биотехнология заквасок пропионовокислых бактерий. – Улан-Удэ: Изд-во ВСГТУ. – 2006. – 172 с.
- Biro B., Bayoumi H.E., Balazsy S., Kecskes M. Metal sensitivity of some symbiotic  $N_2$ -fixing bacteria and *Pseudomonas* strains // Acta Biol. Hung. – 1995. – V. 46, № 1. – P. 9-16.
- Chesters C.G., Rolinson G.N. Trace elements and streptomycin production // J. Gen. Microbiol. – 1951. – V. 5, № 3. – P. 559-565.
- Dent S.P., Tabatabai M.A. Cellulase activity of soils: Effect of trace elements // Soil Biol. Biochem. – 1995. – V. 27, № 7. – P. 977-979.
- Jansen E., Michels M., Til M., Doelman P. Effects of heavy metals in soil on microbial diversity and activity as shown by the sensitivity-resistance index, an ecologically relevant parameter // Biol. Fertility Soils. – 1994. – V. 17, № 3. – P. 177-184.
- Matra P.K., Roy S.C. Trace elements and the synthesis of vitamin  $B_{12}$  by *Streptomyces olivaceus* // Biochem. J. – 1960. – V. 75. – P. 483-487.
- Nies D.H., Silver S. Plasmid-determined inducible efflux is responsible for resistance to cadmium, zinc, and cobalt in *Alcaligenes eutrophus* // J. Bacteriol. – 1989. – V. 171, № 2. – P. 896-900.
- Okanishi M., Suzuki K., Umezawa H. Formation and reversion of *Streptomyces* protoplasts: condition and morphological study // J. General Microbiol. – 1989. – V. 80, № 1. – P. 389-400.
- Page W.J., Manchak J., Yohemas M. Inhibition of *Azotobacter salinestrans* growth by zinc under iron-limited conditions // Can. J. Microbiol. – 1996. – V. 42, № 7. – P. 655-661.
- Silver S., Phung L.T. Bacterial heavy metal resistance: New surprises // Annu. Rev. Microbiol. – 1996. – V. 50. – P. 753-789.
- Silver S., Gupta A., Matsui K., Lo J-F. Resistance to  $ag(i)$  cations in bacteria: environments, genes and proteins // Met. Based Drugs. – 1999. – V. 6, № 4-5. – P. 315-320.

Надійшла до редакції  
22.07.2009 р.

## RESISTANCE OF STREPTOMYCETES TO SULPHATE OF HEAVY METALS

L. V. Polischuk, O. I. Bambura, V. V. Lukyanchuk

*D.K. Zabolotniy Institute of Microbiology and Virology  
of National Academy of Sciences of Ukraine  
(Kyiv, Ukraine)*

Resistance to ions of heavy metals (manganese, copper, zinc, cobalt) and their influence on some phenotypical properties of 40 *Streptomyces* strains (which were isolated from ground samples of Ukraine with different anthropogenic contamination) was researched. The line of metal toxicity for the

tested cultures was set: copper > cobalt > zinc > manganese. 5 cultures which were polyresistant to the heavy metals were found out. One of them (*Streptomyces* sp. T8) demonstrated resistance to maximal concentrations of ions of zinc, cobalt and manganese and great concentrations (1,0 mM) of copper. Resistant to two metals were *S. sp. M3* and *S. sp. M12* (copper, manganese), *S. sp. M20* (zinc, cobalt), and *S. sp. M15* (cobalt, manganese). Only one culture (*S. sp. M20*) were sensitive to the minimum concentrations (0,1 mM) of two metals (copper and manganese). It was set that the concentration of ions of heavy metals in nutrient medium influenced on passing of some morphological and biochemical processes. It was found out the wavy intensification of pigment synthesis by some *Streptomyces* cultures with the increase of concentration of salts of zinc, copper or manganese and next his recession. Adding of sulphate of zinc (2,5 mM) resulted in the sporulation of two «bald» cultures (*S. sp. M20* and *S. sp. M25*).

**Key words:** *Streptomyces*, heavy metals, resistance

## **РЕЗИСТЕНТНОСТЬ СТРЕПТОМИЦЕТОВ К СУЛЬФАТАМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

Л. В. Полищук, О. И. Бамбура, В. В. Лукьянчук

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного  
Национальной академии наук Украины  
(Киев, Украина)*

Исследована устойчивость 40 штаммов стрептомицетов, выделенных из почв Украины с различным антропогенным загрязнением ионами тяжелых металлов (марганца, меди, цинка, кобальта) и их влияние на некоторые фенотипические признаки. Установлен следующий ряд их токсичности для исследуемых культур: медь > кобальт > цинк > марганец. Обнаружено пять полирезистентных к тяжелым металлам культур. Устойчивым к максимальным концентрациям ионов цинка, кобальта и марганца и высокой концентраций меди (1,0 mM) оказался штамм *Streptomyces* sp. T8. Устойчивыми к действию двух металлов были штаммы *S. sp. M3* и *S. sp. M12* (медь, марганец), *S. sp. M20* (цинк, кобальт), *S. sp. M15* (кобальт, марганец). Только один штамм (*S. sp. M20*) оказался чувствительным к минимальным концентрациям (0,1 mM) двух металлов (меди и марганца). Концентрация ионов тяжелых металлов в среде выращивания влияет на прохождение ряда морфологических и биосинтетических процессов. Обнаружено волнообразное усиление синтеза пигментов рядом культур стрептомицетов с увеличением концентрации солей цинка, меди или марганца и последующий его спад. Добавление соли цинка (2,5 mM) приводило к споруляции двух штаммов *S. sp. M20* и *S. sp. M25*.

**Ключевые слова:** *Streptomyces*, тяжелые металлы, устойчивость