

УДК [579.26 : 579.26] : 546. 4/7

ВПЛИВ ІОНІВ Ni^{2+} , Al^{3+} ТА Cr^{6+} НА КАРОТИНОСИНТЕЗУВАЛЬНУ ЗДАТНІСТЬ ДРІЖДЖІВ

Крупей К.С., аспірант, Рильський О.Ф., д.б.н., професор, Цимбалістий С.А.,
студент

Запорізький національний університет
Україна, 69600, м. Запоріжжя, вул. Жуковського, 66

krupeuzni@gmail.com

Вивчений вплив важких металів (Ni^{2+} , Al^{3+} , Cr^{6+}) на пігментосинтезувальні дріжджі *Rhodotorula rubra* RA-10, *Rh. aurantiaca* 1195 та *Rh. glutinis* 1335. Встановлено, що під дією певних концентрацій іонів важких металів у дріжджів спостерігається втрата пігментосинтезувальної здатності при рості на твердому поживному середовищі Сабуру. Здатність дріжджів до втрати пігменту при різних концентраціях важких металів може бути використана в біоіндикаційних дослідженнях.

Ключові слова: пігментосинтезувальні дріжджі, іони важких металів, ріст.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ Ni^{2+} , Al^{3+} И Cr^{6+} НА КАРОТИНСИНТЕЗИРУЮЩУЮ СПОСОБНОСТЬ ДРОЖЖЕЙ

Крупей К.С., Рылский А.Ф., Цымбалистый С.А.

Запорожский национальный университет, Украина, 69600, г. Запорожье, ул. Жуковського, 66

Изучено влияние тяжелых металлов (Ni^{2+} , Al^{3+} , Cr^{6+}) на пигментсинтезирующие дрожжи *Rhodotorula rubra* RA-10, *Rh. aurantiaca* 1195 та *Rh. glutinis* 1335. Установлено, что под действием определенных концентраций ионов тяжелых металлов у дрожжей наблюдается утрата пигментсинтезирующей способности при росте на твердой питательной среде Сабуру. Способность дрожжей к потере пигмента при разных концентрациях тяжелых металлов может быть использована в биоиндикационных исследованиях.

Ключевые слова: пигментсинтезирующие дрожжи, ионы тяжелых металлов, рост.

INFLUENCE OF IONS Ni^{2+} , Al^{3+} AND Cr^{6+} ON THE PIGMENT SYNTHESIZING ACTIVITY OF THE
YEASTS

Krupey K.S., Rylsky A.F., Cymbalisty S.A.

Zaporizhzhya national university, Ukraine, 69600, Zaporizhzhya, Zhukovskogo Street 66.

As is known, exceeding of the heavy metals concentrations in nature has an adverse effect on the ecological state of the environment, which may lead to the malfunction of physiological and biochemical processes taking place in living organisms. Heavy metals are often defined as a group of metals whose atomic density is greater than 5 g/cm³. Metals play a vital role in the metabolic processes of the biota. Some of the heavy metals are essential and are required by the organisms as micro nutrients (cobalt, chromium, nickel, iron manganese and zinc etc.) and are known as 'trace elements'. They are involved in redox processes, in order to stabilize molecules through electrostatic interactions, as catalysts in enzymatic reactions, and regulating the osmotic balance. On the other hand some other heavy metals have no biological role and are detrimental to the organisms even at very low concentration (cadmium, mercury, lead etc.). However, at high levels both of the essential and non essential metals become toxic to the organisms.

Metals persist in the environment and can become concentrated up the food chain. Metals may be bioconcentrated, bioaccumulated and biomagnified within food chains, causing higher trophic organisms to become contaminated with higher concentrations of chemical and metal contaminants than their prey. The risk for toxicity depends on the frequency, intensity and duration of contact with the metal contaminant along with exposure route. Toxicity risk also depends on the inherent toxic potential of the metal itself.

These heavy metals influence the microbial population by affecting their growth, morphology, biochemical activities and ultimately resulting in decreased biomass and diversity. Heavy metals can damage the cell membranes, alter enzymes specificity, disrupt cellular functions and damage the structure of the DNA. Toxicity of these heavy metals occurs through the displacement of essential metals from their native binding sites or through

ligand interactions. Also, toxicity can occur as a result of alterations in the conformational structure of the nucleic acids and proteins and interference with oxidative phosphorylation and osmotic balance.

Main sources of heavy metals, polluting environment, are metallurgy and galvanic shops of the industrial enterprises. That is why the search for effective methods of environment pollution indications by heavy metals has taken the first place recently. The surest and the most available methods of the anthropogenic violations diagnosis are based on a number of microbiological characteristics, because among all the representatives of the biota, microorganisms are the most sensitive to change of the medium. So, the usage of the pigment synthesizing bacteria as bioindicators is a new and promising tendency. Visual observation of the change of the pigment brightness under the influence of HM may serve as objective bioindicator of the environment pollution. Thus, researches of the bacteria that we carried out aroused our interest to the research of the HM influence on the pigment synthesizing ability of the yeasts. In the literature accessible for us is mentioned only the fact that yeasts have the ability to sorb heavy metals, and there is little information about the ability to change the pigment color in heavy metals presence in the medium. One of the richest in quality composition carotenoids are the yeasts *Rhodotorula glutinis*, which are able to synthesize phytoene, neurosporene, γ -carotene, β -carotene, ξ -carotene and torulene. It is colour saturation and stability of pigment data that determined the object of our research: to study the HM influence on the carotenoid synthesis of the yeasts *Rh. glutinis* 1335, *Rh. rubra* RA-10 and *Rh. aurantiaca* 1195.

Solid nutrient medium Sabouraud was prepared on the base of the water with certain heavy metals salt concentrations ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Thus, water model solutions contained such HM ions as Ni^{2+} , Al^{3+} , Cr^{6+} . Nutrient medium Sabouraud without metals was used as a control. When Sabouraud set congeal, 18-days culture *Rh. glutinis* 1335, *Rh. rubra* RA-10 and *Rh. aurantiaca* 1195 was seeded by solid lawn on it (0,2 ml per one Petri dish). Suspension density was $10^7/\text{ml}$. Yeasts incubated in the thermostat under the temperature 27-28°C. Results were calculated during 9 days of the cultivation. Visual observation and comparison of the experimental samples with the control was carried out. For the calculation of the color intensity difference between experimental and control samples, the Petri dishes with yeasts colonies were photographed, photos were loaded in the program Adobe Photoshop, indexes of the color model channels (Lab), and then the difference of the pigment color intensity was calculated in the program CIEDE 2000.

Influence of heavy metals (Ni^{2+} , Al^{3+} , Cr^{6+}) on the pigment synthesizing yeasts *Rh. rubra* RA-10, *Rh. aurantiaca* 1195 and *Rh. glutinis* 1335 has been studied. The research has shown that yeasts *Rh. rubra* RA-10, *Rh. aurantiaca* 1195 and *Rh. glutinis* 1335 react on the certain metal concentrations presence in the medium by pigment loss and by growth inhibiting. It has emerged that the most toxic HM for yeasts *Rh. aurantiaca* 1195 and *Rh. glutinis* 1335 is Cr^{6+} (pigment genesis was blocked under the concentration of 10 mg/l chrome ions), the yeasts have turned out to be solid in regard to the aluminium ions (III) (only under the concentration of 500 mg/l the pigment synthesis was blocked).

The analysis of the carried-out researches showed that the most perspective bioindicators of environmental pollution by heavy metals and other xenobiotics are pigment-synthesizing yeasts *Rh. rubra* RA-10, *Rh. aurantiaca* 1195 and *Rh. glutinis* 1335 which can signal not only about extent of pollution, but also about level of biochemical transformations in a cell and about critical level of stability of this type.

Key words: pigment synthesizing yeast, ions of heavy metals, growth.

ВСТУП

Мікроорганізми найбільш швидко реагують на зміни навколишнього середовища. Їх розвиток та активність знаходяться в прямій залежності від складу органічних і неорганічних речовин у середовищі, тому що вони здатні руйнувати сполуки природного та антропогенного походження. На цьому заснований принцип біоіндикації з їх використанням [1]. Одним із етапів виконання багатьох екологічних завдань є дослідження характеру впливу важких металів (ВМ) на мікроорганізми, серед яких провідне місце посідає оцінка стану довкілля.

У доступній нам літературі зустрічається безліч публікацій щодо механізмів дії ВМ на клітини мікроорганізмів, особливо прокариот [2-11].

Відомо, що бактерії мають декілька механізмів стійкості до іонів ВМ [12, 13]:

- позаклітинний бар'єр (клітинна стінка, мембрана або капсула перешкоджають потраплянню іонів металів у клітину);

- ефлюкс (активний транспорт іонів металів із клітини). Ефлюксні системи можуть кодуватися як хромосомними [14-16], так і плазмідними генетичними детермінантами [17, 18];
- позаклітинна секвестрація (зв'язування іонів металів специфічними компонентами клітини в периплазматичному просторі або зовнішній мембрані);
- внутрішньоклітинна секвестрація (зв'язування іонів металів біополімерами в цитоплазмі клітини). В еукаріот відомі два типи білків, які здатні секвеструвати іони металів – металотіонеїни та фітохелатини (низькомолекулярні білки), які містять велику кількість залишків цистеїну та зв'язують іони металів сульфгідрильними групами [19].
- відновлення бактеріями іонів ВМ.

Однією із найбільш важливих груп мікроорганізмів, здатних сорбувати іони ВМ (Cu, Zn, Mn, Cr, Cd, Pb, Ag, Ca, U, Co), є дріжджі. Здатність металів до сорбції залежить від будови клітинної стінки дріжджів. Вона складається з фібрилярних вуглеводних полімерів – глюканів та мананів, які утворюють комплекси з білками та ліпідами, хітину та галактозаміну [20, 21]. Вивчення біосорбційних властивостей дріжджів викликає в останній час все більший інтерес, тому що вони здатні виводити із водних розчинів ВМ більше, ніж інші сорбенти, внаслідок чого їх рекомендують в очистці стічних вод від даних забруднювачів. Однак проблемі вилучення ВМ передують проблема індикації їх у середовищі. Нами були проведені дослідження щодо втрати пігментосинтезувальної здатності бактерій під впливом різних токсикантів, а саме ВМ [6]. Візуальне спостереження за зміною яскравості пігменту під впливом різних концентрацій іонів металів та інших ксенобіотиків має помітну перевагу перед моніторингом стану природного середовища за допомогою фізико-хімічних методів, зважаючи на велику коштовність реагентів та обладнання, які при цьому використовуються. У результаті проведених досліджень на бактеріях відкриваються можливості дослідження втрати пігментосинтезувальної здатності (за умов присутності в середовищі різноманітних токсикантів) в еукаріотичних організмів, найбільш близькими до яких є дріжджі – представники царства *Protista*, яких ми і обрали як об'єкт дослідження. На сьогодні в доступній нам літературі факт блокування синтезу пігментів у дріжджів під впливом ВМ зустрічається у вигляді коротких необґрунтованих повідомлень [22]. Відомо, що будова клітини дріжджів дуже подібна до клітини тваринного організму. Вони можуть добре рости на харчових продуктах, їх виділяють із води, ґрунту, наземних частин рослин [23], виходячи з цього, дріжджі можуть бути об'єктивними індикаторами стану забруднення довкілля. Таким чином метою нашої роботи було дослідити вплив деяких ВМ на синтез пігментів-каротиноїдів у дріжджів роду *Rhodotorula*.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єктом дослідження були пігментосинтезувальні дріжджі *Rhodotorula rubra* RA-10 (виділену співробітниками Інституту колоїдної хімії і хімії води ім. А.В. Думанського АН України з водопровідної питної води м. Києва), *Rh. aurantiaca* 1195 та *Rh. glutinis* 1335 (люб'язно надані нам із Української колекції мікроорганізмів Інститутом мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України).

Тверде поживне середовище Сабуро готували на основі води з певним вмістом солей ВМ. Контролем слугувало поживне середовище Сабуро без металів. Після застигання середовища на нього суцільним газоном засівали 18-годинні колекційні культури (0,2 мл на 1 чашку Петрі). Щільність клітин становила 10^7 /мл [24]. Інкубування проводили в термостаті при температурі 27-28°C. Облік результатів проводили на 3 добу культивування (але спостерігали за інтенсивністю росту та пігментоутворення протягом 9 діб). Спостерігали візуально, порівнюючи дослідні зразки з контролем. Для розрахунку різниці в інтенсивності

кольору між дослідними і контрольними зразками чашки Петрі з дріжджовими колоніями фотографували, розміщали фотографії у комп'ютерну програму Adobe Photoshop, визначали показники каналів кольорової моделі (Lab), потім у програмі CIEDE 2000 розраховували різницю в інтенсивності кольору пігменту [25].

Використовували водні модельні розчини, які містили такі іони ВМ, як Ni^{2+} , Al^{3+} , Cr^{6+} . Солі, які використовували в досліді: $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ та $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (останню сіль використовували в досліді з *Rh. rubra* RA-10), $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Дріжджі роду *Rhodotorula* є найбільш багатими на якісний склад каротиноїдів. Вони здатні синтезувати фітоїн, фітофлюїн, нейроспорін, γ -каротин, β -каротин, ξ -каротин, торулін та інші [23]. Дослідження показали, що дріжджі *Rh. rubra* RA-10, *Rh. aurantiaca* 1195 та *Rh. glutinis* 1335 реагують на присутність у середовищі ВМ затримкою росту та пігментоутворення (див. табл. 1-3).

Помірний ріст і пігментоутворення у дріжджів *Rh. rubra* RA-10 спостерігали при концентрації 125 мг/л іонів нікелю у середовищі (різниця в інтенсивності кольору пігменту (dE) складала 13,4 одиниці). При концентраціях 150-200 мг/л нікелю на 3 добу подекуди зустрічалися пігментні та безпігментні колонії. Концентрація 225 мг/л іонів Ni^{2+} викликала повне пригнічення росту.

Таблиця 1 – Вплив іонів Ni^{2+} на синтез пігментів у дріжджів *Rh. rubra* RA-10, *Rh. aurantiaca* 1195 та *Rh. glutinis* 1335

Концентрація іонів Ni^{2+} , мг/дм ³	<i>Rh. rubra</i> RA-10		<i>Rh. aurantiaca</i> 1195		<i>Rh. glutinis</i> 1335	
	Ріст	Пігмент	Ріст	Пігмент	Ріст	Пігмент
Контроль	++++	++++	++++	++++	++++	++++
50	++++	++++	++++	+++	+++	±
75	++++	+++	++	+	+	-
100	+++	+++	+	-	-	-
125	++	++	+	-	-	-
150	+	±	-	-	-	-
175	+	±	-	-	-	-
200	+	±	-	-	-	-
225	-	-	-	-	-	-

Примітка (тут та далі): +++++ – суцільний ріст або пігментоутворення; +++ – добрий ріст або пігментоутворення; ++ – помірний ріст або пігментоутворення; + – слабкий ріст або пігментоутворення; - – відсутність росту та/або пігментоутворення; ± – наявність пігментних та безпігментних колоній.

Встановлено, що повна втрата пігменту у *Rh. aurantiaca* 1195 спостерігалася при концентрації Al^{3+} , що на 20% нижча тієї концентрації, яка повністю інгібувала життєдіяльність дріжджів. Присутність у середовищі 75 мг/л Ni^{2+} викликала помірний ріст слабо-рожевих колоній у *Rh. aurantiaca* 1195 на 3 добу (dE дорівнювала 16,3 одиниці), а при

концентраціях 100 та 125 мг/л на 3 добу спостерігався слабкий ріст тільки безпигментних колоній (dE складала 19,3 та 19,6 одиниць відповідно), колір яких подекуди відновлювався на 6 і 9 добу. При 150 мг/л нікелю у середовищі ріст повністю інгібувався.

Синтез пігменту у дріжджів *Rh. glutinis* 1335 пригнічувався при концентрації 50 мг/л іонів нікелю, були присутні слабко-рожеві та молочні колонії (dE складала 15,0 одиниць), але на 6 добу їх пігментосинтезувальна здатність відновлювалася. Концентрація 75 мг/л у середовищі викликала появу на 3 добу тільки безпигментних колоній (dE була 17,1 одиницю), а при 100 мг/л іонів Ni^{2+} ріст повністю припинявся.

Встановлено, що повна втрата пігменту спостерігалася при концентраціях Al^{3+} у дріжджів *Rh. rubra* RA-10, *Rh. aurantiaca* 1195, *Rh. glutinis* 1335, що на 9,1, 46,2 та 9,1 % відповідно нижчі за тих, які повністю інгібували життєдіяльність дріжджів.

Синтез пігменту у дріжджів *Rh. rubra* RA-10 починав інгібуватися при концентрації 400 мг/л Al^{3+} (на 3 добу спостерігалася помірне пігментоутворення), dE складала 12,9 одиниць. Концентрації 500 та 550 мг/л алюмінію викликали ріст на 3 добу тільки безпигментних колоній, але на 6 і 9 добу їх колір майже повністю відновлювався.

Таблиця 2 – Вплив іонів Al^{3+} на синтез пігментів у дріжджів *Rh. rubra* RA-10, *Rh. aurantiaca* 1195 та *Rh. glutinis* 1335

Концентрація іонів Al^{3+} , мг/дм ³	<i>Rh. rubra</i> RA-10		<i>Rh. aurantiaca</i> 1195		<i>Rh. glutinis</i> 1335	
	Ріст	Пігмент	Ріст	Пігмент	Ріст	Пігмент
Контроль	++++	++++	++++	++++	++++	++++
50	++++	++++	++++	++++	+++	±
100	++++	++++	++++	++++	+++	±
300	+++	++++	++++	++++	+++	±
400	+++	++	+++	+++	+++	±
450	++	+	+++	+++	++	±
500	++	-	+++	±	++	-
550	+	-	+++	±	+	-
600	-	-	+++	±	-	-
700	-	-	+++	-	-	-
900	-	-	++	-	-	-
1300	-	-	+	-	-	-
1400	-	-	-	-	-	-

Вплив іонів Al^{3+} на пігментосинтезувальну здатність дріжджів *Rh. glutinis* 1335 був відмічений при концентрації 50 мг/л, на 3 добу колонії були рожевого і молочного кольору (dE дорівнювала 14,7 одиниці), але на 6 добу синтез пігменту повністю відновлювався (dE складала 5,0 одиниць). При 500 мг/л іонів алюмінію на 3 добу подекуди спостерігався ріст тільки безпигментних колоній (dE була 18,0 одиниць), але на 6 добу з'явилися і слабко-рожеві колонії. Концентрація 600 мг/л іонів Al^{3+} викликала повне блокування росту дріжджових клітин.

Хром (VI) широко застосовується в промисловості та являє собою один із серйозних забруднювачів довкілля. Внаслідок чого іони Cr^{6+} проявили найбільш токсичну дію на життєдіяльність пігментосинтезувальних дріжджів.

Встановлено, що повна втрата пігменту спостерігалася при концентраціях Cr^{6+} у дріжджів *Rh. rubra* RA-10, *Rh. aurantiaca* 1195, *Rh. glutinis* 1335, що на 16,7, 50 та 75 % відповідно нижчі за тих, які повністю блокували життєдіяльність дріжджів.

Іони Al^{3+} слабо пригнічували ріст дріжджів *Rh. aurantiaca* 1195, але пігментоутворення починало блокуватися при наявності в середовищі 500 мг/л алюмінію (III) (на 3 добу по краям чашки з'являлися дрібні молочні колонії і подекуди слабо-рожеві) dE складала 16,6 одиниць, а при 700-1300 мг/л іонів Al^{3+} на 3 добу росли тільки безпігментні колонії (dE була в межах 19,5 – 21,1 одиниці), колір яких дещо відновлювався на 6 і 9 добу. При 1400 мг/л іонів алюмінію у середовищі росту дріжджових колоній не спостерігалася.

Культура *Rh. rubra* RA-10 починала втрачати пігмент при концентрації 10 мг/л Cr^{6+} , на 3 добу спостерігалася добре пігментоутворення (dE була 9,0 одиниць), але на 6 добу синтез пігменту повністю відновлювався. При концентраціях Cr^{6+} 20-40 мг/л були наявні пігментні та безпігментні колонії. При 50 та 60 мг/л іонів хрому на 3 добу подекуди росли безпігментні колонії. Блокування росту культури *Rh. rubra* RA-10 було відмічено при концентрації 70 мг/л Cr^{6+} .

Дріжджі *Rh. aurantiaca* 1195 втрачали здатність до пігментоутворення при концентраціях 10 та 20 мг/л іонів хрому в середовищі (dE була 17,9 та 18,2 одиниці відповідно), а при 30 мг/л Cr^{6+} ріст інгібувався повністю.

Концентрації 10-40 мг/л Cr^{6+} викликали появу тільки безпігментних колоній *Rh. glutinis* 1335 (dE варіювала в межах від 17,2 до 19,8 одиниць), але на 6 добу спостерігалася повільне відновлення синтезу пігменту, колір колоній був слабо-рожевим. При концентрації 50 мг/л іонів хрому росту на 3 добу не спостерігалася.

Таблиця 3 – Вплив іонів Cr^{6+} на синтез пігментів у дріжджів *Rh. rubra* RA-10, *Rh. aurantiaca* 1195 та *Rh. glutinis* 1335

Концентрація іонів Cr^{6+} , мг/дм ³	<i>Rh. rubra</i> RA-10		<i>Rh. aurantiaca</i> 1195		<i>Rh. glutinis</i> 1335	
	Ріст	Пігмент	Ріст	Пігмент	Ріст	Пігмент
Контроль	++++	++++	++++	++++	++++	++++
10	++	+++	+++	-	+++	-
20	+	±	+	-	+	-
30	+	±	-	-	+	-
40	+	±	-	-	+	-
50	+	-	-	-	-	-
60	+	-	-	-	-	-
70	-	-	-	-	-	-

Таким чином, дослідження показали, що дріжджі *Rh. rubra* RA-10, *Rh. aurantiaca* 1195 та *Rh. glutinis* 1335 втрачають здатність до синтезу пігменту при нижчих концентраціях, ніж настає повне блокування їх росту, внаслідок чого виявляється цікавим подальше вивчення пігментосинтезувальних дріжджів із метою їх застосування в біоіндикаційних дослідженнях.

ВИСНОВКИ

1. Дослідження показали, що найбільш токсичним ВМ для дріжджів роду *Rhodotorula* виявився Cr^{6+} (пігментоутворення блокувалося у *Rh. aurantiaca* 1195 та *Rh. glutinis* 1335 при концентрації 10 мг/л хрому), стійкими дріжджі виявилися відносно іонів Al^{3+} (тільки при концентрації 500 мг/л дріжджі *Rh. rubra* RA-10 та *Rh. glutinis* 1335 втрачали здатність до синтезу пігменту).
2. Встановлено, що повна втрата пігменту спостерігалася при концентраціях важких металів, що на 9,1-75 % нижчі за тих, які повністю інгібували життєдіяльність дріжджів.
3. Отримані результати надають можливість рекомендувати дріжджі роду *Rhodotorula* для використання в біоіндикаційних дослідженнях.

ЛІТЕРАТУРА

1. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование : учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / [О.П. Мелехова, Е.И. Егорова, Т.И. Евсеева и др.] ; под ред. О.П. Мелеховой и Е.И. Егоровой. – М. : Изд. центр «Академия», 2007. – 288 с.
2. Кушкевич І. Вплив важких металів на клітини мікроорганізмів / І. Кушкевич, С. Гнатуш, С. Гудзь // Вісник Львівського університету. – 2007. – Вип. 45. – С. 3-28. – (Серія біологічна).
3. Янева О.Д. Механизмы устойчивости бактерий к ионам тяжелых металлов / О.Д. Янева // Микробиологический журнал. – 2009. – Т. 71, № 6. – С. 54-65.
4. Мороз О.М. Вплив важких металів на ріст та відновлення сульфатів *Desulfovibrio desulfuricans* / О.М. Мороз, Гудзь С.П., Подопрігора О.І. [та ін.] // Науковий Вісник Ужгородського університету. – 2009. – Вип. 26. – С. 206-215. – (Серія біологічна).
5. Смирнова Г.Ф. Восстановление хлоратов *Acinetobacter thermotoleranticus* C-1 в присутствии тяжелых металлов / Г.Ф. Смирнова, В.С. Подгорский, Ф.В. Мучник // Микробиологический журнал. – 2012. – Т. 74, № 5. – С. 43-47.
6. Рыльский А.Ф. Действие тяжелых металлов на пигментсинтезирующие грамтрицательные бактерии / А.Ф. Рыльский // Вісник Донецького національного університету. – 2009. – Вип. 2. – С. 260-264. – (Серія А: Природничі науки).
7. Olishevskaya S.V. Influence of copper ions on the fatty acid profiles of soil filamentous fungi / S.V. Olishevskaya, Yu. V. Karpenko, N.M. Zhdanova [et al.] // Микробиологический журнал. – 2008. – Т. 70, № 6. – С. 59-66.
8. Sang-Jong Kim. Effect of heavy metals on natural populations of bacteria from surface microlayers and subsurface water / Sang-Jong Kim // Marine ecology – progress series. – 1985. – Vol. 26. – pp. 203-206.
9. Nies D. H. Microbial heavy-metal resistance / D. H. Nies // Appl Microbiol Biotechnol. – 1999. – Vol. 51. – pp. 730-750.
10. Jianlong Wang. Biosorbents for heavy metals removal and their future / Jianlong Wang, Can Chen // Biotechnology Advances . – 2009. – Vol. 27. – pp. 195-226.

11. Старовойтова С.О. Молочнокислі бактерії – біосорбенти важких металів / С.О. Старовойтова, Л.Б. Орябінська, В.Ю. Горчаков // Наукові вісті НТУУ «КПІ». – 2008. – № 1. – С. 108-116. – (Серія «Проблеми біотехнології»).
12. Bruins M.R. Microbial resistance to metals in the environment / M.R. Bruins, S. Kapil, F.W. Oehme // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 2000. – 45, N 2. – pp. 198 – 207.
13. Choudhury R. Zinc resistance mechanisms in bacteria / R. Choudhury, S. Srivastava // Curr. Science. – 2001. – 81, N 7. – pp. 768 -775.
14. Franke S. The product of the ybdE gene of the *Escherichia coli* chromosome is involved in detoxification of silver ions / S. Franke, G. Grass, D.H. Nies // Microbiology. – 2001. – 147, N 4. – pp. 965 – 972.
15. Lee S.-W. Chromosomal locus for cadmium resistance in *Pseudomonas putida* consisting of a cadmium-transporting ATPase and a MerR family response regulator / S.-W. Lee, E. Glickmann, D.A. Cooksey // Appl. Environ. Microbiol. – 2001. – 67, N 4. – pp. 1437 – 1444.
16. Xiong A. Molecular characterization of a chromosomal determinant conferring resistance to zinc and cobalt ions in *Staphylococcus aureus* / A. Xiong, R.K. Jayaswal // J. Bacteriol. – 1998. – 180, N 16. – pp. 4024 – 4029.
17. Gupta A. Molecular basis for resistance to silver cations in *Salmonella* / A. Gupta, K. Matsui, J.-F. Lo [et al.] // Nat. Med. – 1999. – 5, N 2. – pp. 183 – 188.
18. Nies D.H. Heavy metal-resistant bacteria as extremophiles: molecular physiology and biotechnological use of *Ralstonia* sp. CH34 / D.H. Nies // Extremophiles. – 2000. – 4, N 2. – pp. 77 – 82.
19. Pinto E. Heavy metal-induced oxidative stress in algae / E. Pinto, T.C.S. Sigaud-Kutner, M.A.S. Leitaó [et al.] // J. Phycol. – 2003. – 39, N 6. – pp. 1008 – 1018.
20. Подгорский В.С. Дрожжи – биосорбенты тяжелых металлов / В.С. Подгорский, Т.П. Касаткина, О.Г. Лозовая // Мікробіологічний журнал. – 2004. – Т. 66, № 1. – С. 91-103.
21. Godwin E. Udofia. Bioaccumulation of heavy metals by yeasts from Qua Iboe estuary mangrove sediment ecosystem, Nigeria // Godwin E. Udofia, Joseph P. Essien, Samuel I. Eduok [et al.]. – 2009. – Vol. 3(12). – pp. 862-869.
22. Лозовая О.Г. Поиск биосорбентов тяжелых металлов среди дрожжей различных таксономических групп / О.Г. Лозовая, Т.П. Касаткина, В.С. Подгорский // Мікробіологічний журнал. – 2004. – Т. 66, № 2. – С. 92–101.
23. Каротинсинтезирующие дрожжи [Квасников Е.И., Васкивнюк В.Г., Суденко В.И., Гринберг Т.А.]. – К. : Наукова думка, 1980. – 171 с.
24. Стандартизація приготування мікробних суспензій : Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я № 163-2006. – К. : Укрмедпатентінформ, 2006. – 5 с. – (Нормативний документ. МОЗ України; Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи. Інформаційний лист).
25. Патент на корисну модель № 49812 Україна, МПК (2009), С12Q 1/00, С12M 1/00, С12M 1/34. Спосіб визначення інтенсивності пігментоутворення у бактерій / Рильський О.Ф., Домбровський К.О., Гороховський Є.Ю., Жиленко А.В.; заявник і патентовласник ЗНУ. – № u200912311; заявл. 30.11.2009; опубл. 11.05.2010, Бюл. № 9, 2010 р.

REFERENCES

1. Biologicheskij kontrol' okruzhajushhej sredy: bioindikacija i biotestirovanie : ucheb. posobie dlja stud. vyssh. ucheb. zavedenij / [O.P. Melehova, E.I. Egorova, T.I. Evseeva i dr.] ; pod red. O.P. Melehovoj i E.I. Egorovoj. – M. : Izd. centr «Akademija», 2007. – 288 s.
2. Kushkevich I. Vpliv vazhkih metaliv na klitini mikroorganizmiv / I. Kushkevich, S. Gnatush, S. Gudz' // Visnik L'vivs'kogo universitetu. – 2007. – Vip. 45. – S. 3-28. – (Serija biologichna).
3. Janeva O.D. Mehanizmy ustojchivosti bakterij k ionam tjazhelyh metallov / O.D. Janeva // Mikrobiologichnij zhurnal. – 2009. – T. 71, № 6. – S. 54-65.
4. Moroz O.M. Vpliv vazhkih metaliv na rist ta vidnovlennja sul'fativ *Desulfovibrio desulfuricans* / O.M. Moroz, Gudz' S.P., Podoprigora O.I. [ta in.] // Naukovij Visnik Uzhgorods'kogo universitetu. – 2009. – Vip. 26. – S. 206-215. – (Serija biologichna).
5. Smirnova G.F. Vosstanovlenie hloratov *Acinetobacter thermotolerantus* C-1 v prisutstvii tjazhelyh metallov / G.F. Smirnova, V.S. Podgorskij, F.V. Muchnik // Mikrobiologichnij zhurnal. – 2012. – T. 74, № 5. – S. 43-47.
6. Ryl'skij A.F. Dejstvie tjazhelyh metallov na pigmentsintezirujushhie gramotricatel'nye bakterii / A.F. Ryl'skij // Visnik Donec'kogo nacional'nogo universitetu. – 2009. – Vip. 2. – S. 260-264. – (Serija A: Prirodnichi nauki).
7. Olishevskaja S.V. Influence of copper ions on the fatty acid profiles of soil filamentous fungi / S.V. Olishevskaja, Yu. V. Karpenko, N.M. Zhdanova [et al.] // Мікробіологічний журнал. – 2008. – T. 70, № 6. – С. 59-66.
8. Sang-Jong Kim. Effect of heavy metals on natural populations of bacteria from surface microlayers and subsurface water / Sang-Jong Kim // Marine ecology – progress series. – 1985. – Vol. 26. – pp. 203-206.
9. Nies D. H. Microbial heavy-metal resistance / D. H. Nies // Appl Microbiol Biotechnol. – 1999. – Vol. 51. – pp. 730-750.
10. Jianlong Wang. Biosorbents for heavy metals removal and their future / Jianlong Wang, Can Chen // Biotechnology Advances . – 2009. – Vol. 27. – pp. 195-226.
11. Starovojtova S.O. Molochnokisli bakterii – biosorbenti vazhkih metaliv / S.O. Starovojtova, L.B. Orjabins'ka, V.Ju. Gorchakov // Naukovi visti NTUU «KPI». – 2008. – № 1. – S. 108-116. – (Serija «Problemi biotehnologii»).
12. Bruins M.R. Microbial resistance to metals in the environment / M.R. Bruins, S. Kapil, F.W. Oehme // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 2000. – 45, N 2. – pp. 198 – 207.
13. Choudhury R. Zinc resistance mechanisms in bacteria / R. Choudhury, S. Srivastava // Curr. Science. – 2001. – 81, N 7. – pp. 768 -775.
14. Franke S. The product of the ybdE gene of *the Escherichia coli* chromosome is involved in detoxification of silver ions / S. Franke, G. Grass, D.H. Nies // Microbiology. – 2001. – 147, N 4. – pp. 965 – 972.
15. Lee S.-W. Chromosomal locus for cadmium resistance in *Pseudomonas putida* consisting of a cadmium-transporting ATPase and a MerR family response regulator / S.-W. Lee, E. Glickmann, D.A. Cooksey // Appl. Environ. Microbiol. – 2001. – 67, N 4. – pp. 1437 – 1444.
16. Xiong A. Molecular characterization of a chromosomal determinant conferring resistance to zinc and cobalt ions in *Staphylococcus aureus* / A. Xiong, R.K. Jayaswal // J. Bacteriol. – 1998. – 180, N 16. – pp. 4024 – 4029.

17. Gupta A. Molecular basis for resistance to silver cations in *Salmonella* / A. Gupta, K. Matsui, J.-F. Lo [et al.] // Nat. Med. – 1999. – 5, N 2. – pp. 183 – 188.
18. Nies D.H. Heavy metal-resistant bacteria as extremophiles: molecular physiology and biotechnological use of *Ralstonia* sp. CH34 / D.H. Nies // Extremophiles. – 2000. – 4, N 2. – pp. 77 – 82.
19. Pinto E. Heavy metal-induced oxidative stress in algae / E. Pinto, T.C.S. Sigaud-Kutner, M.A.S. Leitao [et al.] // J. Phycol. – 2003. – 39, N 6. – pp. 1008 – 1018.
20. Podgorskij V.S. Drozhzhi – biosorbenty tjazhelyh metallov / V.S. Podgorskij, T.P. Kasatkina, O.G. Lozovaja // Mikrobiologichnij zhurnal. – 2004. – T. 66, № 1. – S. 91-103.
21. Godwin E. Udofia. Bioaccumulation of heavy metals by yeasts from Qua Iboe estuary mangrove sediment ecosystem, Nigeria // Godwin E. Udofia, Joseph P. Essien, Samuel I. Eduok [et al.]. – 2009. – Vol. 3(12). – pp. 862-869.
22. Lozovaja O.G. Poisk biosorbentov tjazhelyh metallov sredi drozhzhej razlichnyh taksonomicheskikh grupp / O.G. Lozovaja, T.P. Kasatkina, B.C. Podgorskij // Mikrobiologichnij zhurnal. – 2004. – T. 66, № 2. – S. 92–101.
23. Karotinsintezirujushhie drozhzhi [Kvasnikov E.I., Vaskivnjuk V.G., Sudenko V.I., Grinberg T.A.]. – K. : Naukova dumka, 1980. – 171 s.
24. Standartizacija prigotuvannja mikrobnihsuspenzij : Informacijnij list pro novovvedennja v sistemi ohoroni zdorov'ja № 163-2006. – K. : Ukrmedpatentinform, 2006. – 5 c. – (Normativnij dokument. MOZ Ukraïni; Ukraïns'kij centr naukovoï medichnoï informacii ta patentno-licenzijnoï roboti. Informacijnij list).
25. Patent na korisnu model' № 49812 Ukraïna, MPK (2009), C12Q 1/00, C12M 1/00, C12M 1/34. Sposib viznachennja intensivnosti pigmentoutvorennya u bakterij / Ril's'kij O.F., Dombrovs'kij K.O., Gorohovs'kij Є.Ju., Zhilenko A.V.; zajavnik i patentovlasnik ZNU. – № u200912311; zajavl. 30.11.2009; opubl. 11.05.2010, Bjul. № 9, 2010 r.