

ПІГМЕНТОСИНТЕЗУВАЛЬНА АКТИВНІСТЬ БАКТЕРІАЛЬНИХ ТА ДРІЖДЖОВИХ КЛІТИН ЗА ДІЇ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Крупей К.С.

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

krupeyznu@gmail.com

Концентраційні інтервали між втратою пігменту та блокуванням росту в дріжджових клітинах коливалися в межах від 25 до 90%. Для бактерій *Serratia marcescens* MP-141 концентраційні інтервали були лише для хлориду та сульфату цинку – 16,7 та 20%, відповідно. Дріжджові клітини виявилися чутливішими за бактеріальні щодо дії на них більшої частини важких металів і реагували втратою пігменту з менших концентрацій металів, ніж прокариотичні клітини, тому їх можна рекомендувати для біоіндикації важких металів у довкіллі. Проте індикацію нітрату срібла та сульфату міді доцільніше проводити за допомогою бактерій *S. marcescens* MP-141 і *Pseudomonas fluorescens* var. *pseudo-iodinum* MP-11, а хлориду кадмію та цинку – з використанням *Ps. fluorescens* var. *pseudo-iodinum* MP-11.

Ключові слова: бактерії, дріжджі, пігменти, важкі метали, біоіндикація.

Крупей К.С. ПИГМЕНТСИНТЕЗИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ И ДРОЖЖЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ / Запорожский национальный университет, 69600, Украина, г. Запорожье, ул. Жуковского, 66

Концентрационные интервалы между потерей пигмента и блокированием роста у дрожжевых клеток колебались в пределах от 25 до 90%. Для бактерий *Serratia marcescens* MP-141 концентрационные интервалы были только для хлорида и сульфата цинка – 16,7 и 20%, соответственно. Дрожжевые клетки оказались чувствительнее, чем бактериальные, к воздействию большей части исследуемых тяжелых металлов и реагировали потерей пигмента из меньших концентраций металлов, чем прокариотические клетки, поэтому их можно рекомендовать для биоиндикации тяжелых металлов в окружающей среде. Индикацию нитрата серебра и сульфата меди целесообразнее проводить с помощью бактерий *S. marcescens* MP-141 и *Pseudomonas fluorescens* var. *pseudo-iodinum* MP-11, а хлорида кадмия и цинка – с использованием *Ps. fluorescens* var. *pseudo-iodinum* MP-11.

Ключевые слова: бактерии, дрожжи, пигменты, тяжелые металлы, биоиндикация.

Krupey K.S. PIGMENT-SYNTHESIZING ACTIVITY OF BACTERIAL AND YEASTS CELLS UNDER THE INFLUENCE OF HEAVY METALS / Zaporizhzhya National University, 69600, Ukraine, Zaporizhzhya, Zhukovsky str. 66

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 heavy metals (HM) and other xenobiotics 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 xenobiotics influence on the pigment-synthesizing ability of the yeast. In the literature accessible for us is mentioned only the fact that yeast have the ability to sorb HM, and there is little information about the ability to change the pigment color in HM and other xenobiotics presence in the medium. As is known, exceeding of the HM 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. And 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.

Carotenoids, and especially β -carotene, act as antioxidants by reacting with active oxygen species and as anti-carcinogenic agents. For effective carotenogenesis, of vital importance is the use of: inexpensive alternative carbohydrate sources found in natural substrates, which typically are by-products from various industries and tend to contaminate the environment; and strain-producers of high carotenoid-synthesizing activity.

Thus, the aim of our study was to investigate the influence of HM on the carotenoid synthesis of the yeasts *Rhodotorula* genus and to do a comparative analysis of influence of metals on prokaryotes and yeasts cells.

The object of the research was pigment-synthesizing yeast *Rhodotorula* genus and bacteria *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*. Solid nutrient medium was prepared on the base of the water with certain metals concentrations. Nutrient medium without substances was used as a control. When nutrient medium set congeal, 18-days cultures was seeded by solid lawn on it (0,2 ml per one Petri dish). Suspension density was 107/ml. Yeasts and bacteria incubated in the thermostat. Results were calculated on the 3d 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 and bacteria 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.

The results of the research showed that the yeasts *Rhodotorula* genus and bacteria react on certain metal concentrations' presence in the medium by the loss of pigment and by the growth delay. Comparative analysis of influence of metals on prokaryotes and yeasts showed that yeasts cells more expedient to use in bioindication researches, than prokaryotes (yeasts have almost for every metal a concentration interval between the loss of pigment and blocking of growth and able to react the loss of pigment from the less concentrations of metals).

The ability of microorganisms to loss the pigment in different concentrations of metals can be used in bioindication researches.

Key words: bacteria, yeasts, pigments, heavy metals, bioindication.

ВСТУП

Здатність до утворення пігментів у мікроорганізмів детермінована генетично і тому може використовуватися як ідентифікаційна ознака.

Продигіозин – один із кількох вторинних бактеріальних метаболітів, що мають незвичайну структуру, у якій метоксибіпірольний фрагмент включений у дигідрометиленову структуру. Результати багатьох експериментів показують, що продигіозин діє як аутоокиснений акцептор, тим самим підтверджується його можлива участь у диханні мікроорганізмів. В утворенні продигіозину беруть участь амінокислоти. Припускають, що накопичення амінокислот у середовищі в період стаціонарної фази призводить до більш швидкої появи літичних процесів. Це припущення підтверджує спостереження, що пігментований штам має більш пізній автолітичний процес, ніж безпігментний. Утворення пігменту в цьому випадку можна розглядати як адаптивний процес, викликаний зміною фізіологічного стану клітини. Інша точка зору відносно біологічного значення пірилдіпірилметенових пігментів заснована на їх здатності пригнічувати в лабораторних умовах ріст мікроорганізмів. Великий інтерес становить спостереження, що екзогенний продигіозин є потужним сенсibilізатором для деяких мікроорганізмів [1, 2].

Піоціанін, який входить до класу феназинових пігментів, являє собою антибіотик бактерій виду *Pseudomonas aeruginosa*; активний проти всіх грампозитивних бактерій. Механізм утворення феназинового кільця піоціаніну все ще не з'ясований, хоча це питання вивчали кілька груп учених. Ранні досліді Blackwood і Naish [3] на зростаючих культурах *Pseudomonas aeruginosa* показали, що гліцерин або діоксиацетон є кращими попередниками, ніж глюкоза, ацетат або фенілаланін. Ці дані дозволяють припустити, що піоціанін синтезується з проміжної сполуки, яка містить три вуглецеві атоми. Феназини, що синтезуються одним видом, можуть впливати на інші види та їхні тканини, причому цей вплив здійснюється різними шляхами. Вони одні з найперших бактеріальних продуктів, для яких була показана антибіотична активність проти інших мікроорганізмів. Бактеріостатичні властивості іодініну та піоціаніну сьогодні вивчені детально. Є дані, що феназини володіють канцеростатичною активністю [4].

Іншою групою пігментів мікроорганізмів є каротиноїди, які належать до групи природних пігментів, забарвлених у жовтий, помаранчевий та червоний кольори. Специфічною ознакою каротиноїдів є наявність хромофора, що складається із низки кон'югованих

подвійних зв'язків, кількість яких визначає характер забарвлення пігменту. Вони синтезуються рослинами, найпростішими, грибами та бактеріями.

Каротиноїдам притаманна антиоксидантна, протипухлинна та імуностимулювальна активності, а β -каротин є провітаміном жиророзчинного вітаміну групи А. З огляду на це, каротиноїди зазвичай використовуються у виробництві кормів для тваринництва, харчовій та фармацевтичній промисловості, косметології як природні барвники або харчові добавки [5-9].

Відомо, що каротиноїди, які входять до складу вегетативних клітин *Bacillus*, мають жовте забарвлення, а пігменти спор – помаранчеве. Така здатність бактерій роду *Bacillus* може бути використана для створення біосенсорів [7, 10]. Проте слід зазначити, що прокаріоти та одноклітинні еукаріоти є найменш вивченими з точки зору організмів-сигналізаторів забруднень. На сьогодні новим напрямком досліджень у біоіндикації є використання пігментосинтезувальних бактерій як біоіндикаторів [11]. Мікроорганізми найбільш чутливо реагують на зміни складу середовища та здатні швидко оновлювати біомасу, цим пояснюються переваги їх застосування в біоіндикаційних дослідженнях. Однак клітина прокаріот відрізняється від еукаріотичної клітини не тільки відсутністю ядра і багатьох органел, але й спрощенням розмноження та особливостями дихання і харчування.

Тому метою нашої роботи було здійснити порівняльний аналіз олігодинамічної дії важких металів (ВМ), як одних із найпріоритетніших ксенобіотиків довкілля, на синтез пігменту прокаріотичних і одноклітинних еукаріотичних організмів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дріжджі роду *Rhodotorula* культивували на твердому поживному середовищі Сабуро (бактерії – на МПА). У розплавлені середовища попередньо вносили солі ВМ (у перерахунку на катіон). Засівали мікроорганізми суцільним газоном методом Дригальського. Щільність суспензії становила 10^7 кл/см³. Культивування проводили в термостаті. Дріжджі та бактерії *Serratia marcescens* культивували за температури 28-29 °С, *Pseudomonas aeruginosa* – за 37 °С.

Облік результатів засівання бактерій на МПА з металами проводили візуально на 2 добу культивування (Ag^+ – на 5 добу), дріжджів (та бактерій на середовищі МПА з сульфатом і хлоридом міді) – на 3 добу культивування, порівнюючи дослідні зразки з контролем. Для розрахунку різниці в інтенсивності кольору пігменту (dE) між дослідними чашками та контролем дріжджові колонії фотографували, розміщали фотографії в комп'ютерну програму Adobe Photoshop. Потім визначали показники каналів кольорової моделі (Lab) і в програмі CIEDE 2000 розраховували різницю в інтенсивності кольору пігменту [12]. Статистичну обробку проводили за допомогою комп'ютерних програм «Microsoft Office Excel 2007» і «Statistica 10».

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Серед пігментів можуть зустрічатися представники різних класів речовин: каротиноїди, феназинові барвники, піроли, азахінони, антоціани тощо, які здатні виконувати певні функції в клітині (табл. 1).

Дослідження показали, що концентраційні інтервали (КІ) між втратою пігменту та блокуванням росту простежувалися в дріжджових клітин і були в межах від 25 до 90% . Для бактерій *S. marcescens* КІ були лише для хлориду та сульфату цинку – 16,7 та 20%, відповідно (табл. 2). Дріжджові клітини виявилися дещо чутливішими за бактеріальні щодо дії на них більшої частини важких металів (табл. 3). Концентрації, з яких починалося блокування синтезу пігменту в *Rh. aurantiaca* Y-1193, були набагато меншими, ніж у бактерій *S. marcescens* MP-141 (для біхромату калію, нітрату нікелю,

хлориду кадмію, хлориду міді, хлориду та сульфату цинку в 3,5, 3, 2, 1,3, 1,25, 4 рази меншими, відповідно). Проте для сульфату міді та нітрату срібла, навпаки, концентрації, з яких блокувався синтез пігментів, були нижчими у *S. marcescens* МР-141, ніж у дріжджів (у 2 та 3 рази, відповідно).

Таблиця 1 – Характеристика деяких груп пігментів мікроорганізмів

Ознака		Піролові похідні (продигіозин)	Феназинові пігменти (піоціанін, іодинін)	Каротиноїди
Попередники синтезу		Амінокислота пролін	Феназин-1,6-дикарбонова кислота	Фітоїн, фітофлюїн, лікопін
Смуги поглинання, нм		530-535 (у кислих розчинах), 460-470 (у лужних умовах)	400-600	280-550
Оптимальні умови утворення пігментів	Т, °С	28-30	37	28-30
	рН	6,0-6,5	7,2	2-6
	Речовини, необхідні для синтезу пігментів	Вітаміни (тіамін), аніони SO_4^{2-} , мікроелементи (Mg, Zn, Mn, Rb, Ca, Fe), амінокислоти (гліцин, аланін тощо)	Глюкоза, азот, фосфор; поживне середовище на основі бурякового відвару	Для дріжджів роду <i>Rhodotorula</i> : глюкоза; вуглець та азот (у співвідношенні 40:1)
Розчинність у воді		Не розчинні	Розчинні	Нерозчинні
Представники продуцентів-мікроорганізмів		<i>Serratia marcescens</i> , <i>Actinomyces coelicolor</i> , <i>Act. longisporum</i> , <i>Act. Longispororu-ber</i>	Види <i>Pseudomonas</i> , <i>Streptomyces</i> , <i>Brevibacte-rium</i> , <i>Nocardia</i>	Гриби (<i>Micoraceae</i>), дріжджі (<i>Sporobolomycetacea</i>), актиноміцети (<i>Actinoplanaceae</i>), найпростіші (<i>Dunaliellaceae</i>), бактерії (<i>Micrococcaceae</i>)
Біологічне значення		Беруть участь у диханні	Створюють окислювально-відновну пару, здатну до передачі електронів	Беруть участь у фотосинтезі, фототропізмі, фото-рецепції; володіють антиоксидантною активністю

Таблиця 2 – Значення концентраційного інтервалу між втратою пігменту та інгібуванням росту в мікроорганізмів під впливом важких металів

Солі важких металів	Культури пігментосинтезувальних мікроорганізмів			
	<i>Serratia marcescens</i> MP-141	<i>Rhodotorula aurantiaca</i> Y-1193	<i>Pseudomonas fluorescens</i> var. <i>pseudo-iodinum</i> MP-11	<i>Rhodotorula glutinis</i> Y-1335
Концентраційні інтервали між втратою пігменту та блокуванням росту, %				
K ₂ Cr ₂ O ₇	- *	-	-	75
Ni(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	-	50	-	-
CdCl ₂	-	90	-	62,5
AgNO ₃	-	25	-	-
CuCl ₂ ·2H ₂ O	-	50	Не досліджували	58,3
CuSO ₄	-	50	-	-
ZnCl ₂	16,7	20	-	-
ZnSO ₄	20	33,3	-	37,5

Примітка: -* – не спостерігалось концентраційного інтервалу.

Таблиця 3 – Порівняльна характеристика впливу важких металів на пігментоутворення бактерій та дріжджів

1	2	3		4	
Солі важких металів	Концентрація металу, мг/дм ³	<i>S. marcescens</i> MP-141		<i>Rh. aurantiaca</i> Y-1193	
		P*	Π**	P	Π
Контроль		++++	++++	++++	++++
K ₂ Cr ₂ O ₇	10	++++	++++	+++	±
	20	++++	+++	+	-
	30	+++	++	-	-
	50	++	±	-	-
	70	+	-	-	-
	80	-	-	-	-
Ni(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	20	++++	++++	+++	++
	50	+++	+++	++	-
	70	+++	+++	+	-
	150	+	-	-	-
CdCl ₂	4	++++	+++	++++	+++
	7	+++	++	+++	+++
	10	+++	+	++	++
	20	++	±	++	-
	40	+	-	++	-
	60	-	-	++	-
	100	-	-	+	-
	200	-	-	+	-
	250	-	-	-	-

Продовження табл. 3

AgNO ₃	1	++++	+++	++++	++++
	5	+	+	++++	++++
	7	+	±	++++	++++
	10	+	-	++++	+++
	15	-	-	++++	++
	25	-	-	+++	±
	30	-	-	+++	-
	40	-	-	+	-
	50	-	-	-	-
	55	-	-	-	-
CuCl ₂ ·2H ₂ O	50	++++	++++	++	++
	100	++++	+++	++	-
	130	+	-	++	-
	150	-	-	++	-
	200	-	-	+	-
	250	-	-	-	-
CuSO ₄	80	+++	++	++++	++++
	100	+	-	++++	++++
	150	-	-	+++	±
	200	-	-	+++	-
	300	-	-	++	-
	400	-	-	+	-
	450	-	-	-	-
ZnCl ₂	50	++++	+++	++++	±
	100	+++	+++	++	±
	200	+++	++	+	-
	250	+++	-	+	-
	300	+++	-	-	-
	400	-	-	-	-
ZnSO ₄	50	++++	++++	++++	±
	100	++++	++++	+	-
	150	++++	++++	+	-
	250	++++	+++	-	-
	300	+++	++	-	-
	400	+++	-	-	-
	500	+++	-	-	-

Примітка:

- *Ріст: ++++ – суцільний, +++ – добрий, ++ – помірний, + – слабкий, - – відсутній.
- **Пігментоутворення: ++++ – інтенсивне, +++ – добре, ++ – помірне, + – слабе, - – відсутнє, ± – наявність пігментних та безпігментних колоній.

Розрахунок різниці в інтенсивності кольору пігменту показав, що з підвищенням концентрації металів в середовищі значення dE збільшувалося (табл. 4). Так, наприклад, за концентрації хрому 10 мг/дм³ спостерігався суцільний ріст рожево забарвлених колоній *S. marcescens* MP-141, dE дорівнювала 4,0 ум. од. Повністю синтез пігменту блокувався за концентрації Cr⁶⁺ 70 мг/дм³, тому dE складала 18,6 ум. од. Дріжджі *Rh. aurantiaca* Y-1193 виявилися в 3,5 разу чутливішими відносно дії хрому на синтез пігменту, ніж *S. marcescens* MP-14, і втрачали здатність його синтезувати за концентрації металу 20 мг/дм³, dE була 19,1 ум. од.

Таблиця 4 – Вплив концентраційного ряду іонів металів на інтенсивність кольору пігменту в мікроорганізмів

1	2	3				4			
Солі важких металів	Концентрація металу, мг/дм ³	<i>S. marcescens</i> MP-141				<i>Rh. aurantiaca</i> Y-1193			
		L	a	b	dE	L	a	b	dE
Контроль		44	24	23	-	38	22	34	-
K ₂ Cr ₂ O ₇	10	40	21	23	4,0±0,02	21	12	22	14,6±0,05
	20	35	18	20	8,5±0,06	14	12	20	19,1±0,03
	30	33	14	21	11,3±0,9	-	-	-	-
	50	28	13	22	15, ±0,2	-	-	-	-
	70	24	10	19	18,6±1,1	-	-	-	-
Ni(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	20	39	20	22	5,0±0,001	25	13	20	12,3±0,6
	50	33	19	19	8,8±0,05	18	11	17	17,4±0,02
	70	33	20	20	9,7±0,8	16	10	18	18,5±0,7
	100	31	17	18	18,8±0,3	14	10	16	20,0±0,04
	150	21	14	18	19,2±1,0	-	-	-	-
CdCl ₂	4	35	15	20	9,5±0,05	35	15	16	9,0±0,03
	7	30	13	20	13,6±1,2	33	14	14	10,7±0,7
	10	28	11	18	15,6±0,07	31	12	11	13,1±0,001
	20	26	10	16	17,2±0,2	22	11	11	17,1±0,2
	40	23	9	14	19,5±0,05	20	10	12	17,8±0,9
	60	-	-	-	-	19	10	10	19,1±0,04
	100	-	-	-	-	19	9	8	20,0±0,3
200	-	-	-	-	17	6	9	21,1 ±0,7	
AgNO ₃	1	33	23	21	9,5±0,06	35	20	30	3,0±0,006
	5	28	14	20	14,6±0,05	33	18	25	5,7±0,001
	7	25	12	17	17,1±1,0	32	18	23	7,0±0,005
	10	22	9	16	20,1±0,4	30	16	23	8,2±0,007
	15	-	-	-	-	26	13	19	11,9±0,9
	25	-	-	-	-	18	9	17	17,8±0,3
	30	-	-	-	-	16	8	16	19,3±0,005
	40	-	-	-	-	15	8	14	20,3±0,02

Примітка:

1. L, a, b – показники каналів кольорової моделі CIE Lab.
2. dE – різниця в інтенсивності кольору між контролем і дослідом, розрахована за допомогою комп'ютерної програми CIEDE 2000.

Щодо дії ВМ на *Ps. fluorescens* var. *pseudo-iodinum* MP-11 та *Rh. glutinis* Y-1335, найбільш чутливими виявилися бактеріальні клітини (табл. 5).

Таблиця 5 – Порівняльна характеристика впливу важких металів на пігментоутворення бактерій *Pseudomonas fluorescens var. pseudo-iodinum* MP-11 та дріжджів *Rhodotorula glutinis* Y-1335

1	2	3		4	
Соли важких металів	Концентрація металу, мг/дм ³	<i>Ps. fluorescens var. pseudo-iodinum</i> MP-11		<i>Rh. glutinis</i> Y-1335	
		Р	П	Р	П
Контроль		++++	++++	++++	++++
K ₂ Cr ₂ O ₇	10	+++	+++	+++	-
	20	+++	++	+	-
	40	++	±	+	-
	60	+	-	-	-
	70	-	-	-	-
Ni(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	40	+++	++	+++	±
	50	++	++	+++	±
	75	++	++	+	-
	100	++	+	-	-
	150	+	±	-	-
	200	+	-	-	-
CdCl ₂	10	+++	+	++++	++++
	20	++	±	++++	++++
	40	+	-	+++	+++
	50	-	-	+++	+++
	100	-	-	+++	±
	300	-	-	++	-
	500	-	-	+	-
	800	-	-	+	-
AgNO ₃	5	+++	++	++++	++++
	10	+	±	++++	+++
	15	-	-	+++	+++
	25	-	-	+++	±
	35	-	-	++	±
	45	-	-	+	±
	55	-	-	-	-
CuCl ₂ ·2H ₂ O	50	Не досліджували		++++	++++
	100			++++	+++
	200			+++	±
	250			+++	-
	600			+	-
	700			-	-

1	2	3		4	
CuSO ₄	50	+++	++	++++	++++
	80	+	±	++++	++++
	100	+	-	++++	++++
	400	-	-	+++	++
	500	-	-	+++	±
	700	-	-	++	±
	1000	-	-	+	±
	1200	-	-	+	-
	1500	-	-	-	-
ZnCl ₂	100	+++	++	++++	++++
	250	+++	+	++++	+++
	400	++	-	+++	±
	600	-	-	+	-
	700	-	-	-	-
ZnSO ₄	100	+++	+++	+++	±
	150	+++	+++	+	±
	250	++	+	+	-
	400	-	-	+	-
	500	-	-	-	-

Примітка. Умовні позначення такі ж, як у табл. 3.

Концентрації ВМ, з яких починалося інгібування синтезу пігментів, були нижчими у *Ps. fluorescens* var. *pseudo-iodinum* МР-11 (у 7,5, 12 та 1,5 разу для хлориду кадмію, сульфату міді та хлориду цинку, відповідно), ніж у *Rh. glutinis* Y-1335. Остання культура проявила найбільшу чутливість за дії іонів хрому, аргентуму та нікелю (за концентрацій 10, 55 та 75 мг/дм³, відповідно, синтез каротиноїдів повністю блокувався). Стійкими дріжджі *Rh. glutinis* Y-1335 виявилися під впливом купруму (сульфату), за концентрації іонів міді 1200 мг/дм³ на чашках спостерігався слабкий ріст безбарвних колоній.

Rh. glutinis Y-1335 реагували втратою каротиноїдів із менших концентрацій (порівняно з втратою феназинових пігментів *Ps. fluorescens* var. *pseudo-iodinum* МР-11) біхромату калію та нітрату нікелю (у 10 і 2,6 разу, відповідно). Щодо сульфату цинку, то дріжджі виявилися також чутливішими за бактерії, але нітрат срібла спричинив більш токсичну дію на *Ps. fluorescens* var. *pseudo-iodinum* МР-11. Олігодинамічна дія купруму (хлориду) на дріжджі *Rh. aurantiaca* Y-1193 (А) та *Rh. glutinis* Y-1335 (Б) представлена на рис. 1. Іони міді спричинили більш токсичний вплив на дріжджі *Rh. aurantiaca*, можливо, це пов'язано з тим, що вони синтезують менший спектр каротиноїдних пігментів, які виконують в клітині захисну функцію.

Із проведеного порівняльного аналізу щодо впливу різних концентрацій металів на синтез пігментів прокаріот та одноклітинних еукаріот можна зробити висновки, що дріжджові клітини доцільніше використовувати в біоіндикаційних дослідженнях.

По-перше, це пов'язано з тим, що дріжджі майже для кожного металу мали КІ між втратою пігменту та блокуванням росту. По-друге, дріжджі здатні реагувати втратою пігменту з менших концентрацій металів, ніж прокаріотичні клітини.

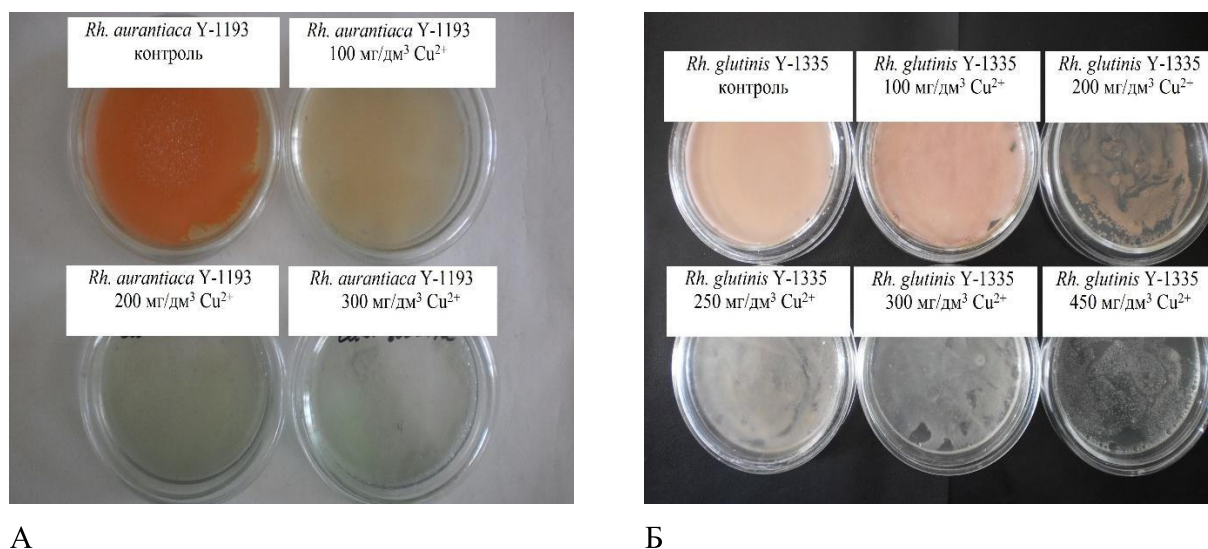


Рис. 1. Вплив купруму (хлориду) на синтез каротиноїдів дріжджових клітин

Проте індикацію нітрату срібла та сульфату міді доцільніше проводити за допомогою бактерій обох видів, а хлориду кадмію та цинку – з використанням *Ps. fluorescens* var. *pseudo-iodinum* MP-11.

Отже, отримані результати спонукають нас продовжити дослідження щодо вивчення впливу ксенобіотиків на синтез пігменту мікроорганізмів із метою їх застосування в біоіндикаційних дослідженнях.

ВИСНОВКИ

1. Концентраційні інтервали між втратою пігменту та блокуванням росту простежувалися в дріжджових клітин і коливалися в межах від 25 до 90% . Для бактерій *S. marcescens* MP-141 концентраційні інтервали були лише для хлориду та сульфату цинку – 16,7 та 20%, відповідно.
2. Розрахунок різниці в інтенсивності кольору пігменту показав, що з підвищенням концентрації металів в середовищі значення dE збільшувалося. Так, за концентрації хрому в середовищі Сабуро 10 мг/дм³ спостерігався суцільний ріст рожево забарвлених колоній *S. marcescens* MP-141, dE дорівнювала 4,0 ум. од. Повністю синтез пігменту блокувався за концентрації Cr⁶⁺ 70 мг/дм³, тому dE складала 18,6 ум. од.
3. Дріжджові клітини виявилися чутливішими за бактеріальні щодо дії на них більшої частини важких металів і реагували втратою пігменту з менших концентрацій металів, ніж прокариотичні клітини, тому їх можна рекомендувати для біоіндикації важких металів у довкіллі. Проте індикацію нітрату срібла та сульфату міді доцільніше проводити за допомогою бактерій обох видів, а хлориду кадмію та цинку – з використанням *Ps. fluorescens* var. *pseudo-iodinum* MP-11.

ЛІТЕРАТУРА

1. Феофилова Е. П. Пигменты микроорганизмов / Е. П. Феофилова. – М. : Наука, 1974. – 242 с.
2. Joshi V K. Microbial Pigments / Joshi V K, Devender Attri, Anju Bala [et al.] // Indian Journal of Biotechnology. – 2003. – Vol. 2. – P. 362-369.
3. Blackwood L. L. Influence of mucoid coating on clearance of *Pseudomonas aeruginosa* from lungs / L. L. Blackwood J. E. Pennington // Infect Immun. – 1981. – Vol. 32(2). – P. 443-448.

4. Антибиотикорезистентность штаммов *Pseudomonas aeruginosa* с разной способностью к синтезу пиоцианина / [О. С. Жданова, Е. П. Красноженов, Э. А. Соснин и др.] // Альманах клинической медицины. – 2013. – № 28. – С. 13-17.
5. Carotenoids present in halotolerant *Bacillus* sporeformers / [L. H. Duc, P. D. Fraser, N. K. Tam et al.] // FEMS Microbiol Lett. – 2006. – № 255. – P. 215-224.
6. Identification and the developmental formation of carotenoid pigments in the yellow/orange *Bacillus* spore-formers / [L. Perez-Fons, S. Steiger, R. Khaneja et al.] // Biochimica et Biophysica Acta. – 2011. – № 1811. – P. 177-185.
7. Carotenoids found in *Bacillus* / [R. Khaneja, L. Perez-Fons, S. Fakhry et al. // Journal of Applied Microbiology]. – 2010. – № 108. – P. 1889-1902.
8. Godinho A. Carotenes produced by alkaliphilic orangepigmented strains of *Microbacterium arborescence* – AGSB isolated from coastal sand dunes / [A. Godinho, S. Bhosle] // Indian journal of marine science. – 2008. – Vol. 37. – P. 307-312.
9. Cheng Q. Recent patents on carotenoid production in microbes / Q. Cheng // Recent patent biotechnology. – 2007. – Vol. 1. – P. 202-211.
10. Perez-Fons L. Analysis of diapocarotenoids found in pigmented *Bacillus* species / L. Perez-Fons, P. D. Fraser // Methods in Molecular Biology. – 2012. – Vol. 892. – P. 335-345.
11. Рильський О. Ф. Наукове обґрунтування прокаріотичної біоіндикації забруднення важкими металами природного середовища : дис. ... доктора біол. наук : 03.00.16 / Рильський Олександр Федорович. – К., 2011. – 351 с.
12. Пат. на корисну модель 49812 Україна, МПК (2009), С12Q 1/00, С12М 1/00, С12М 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. Feofilova E. P. Pigmenty mikroorganizmov / E.P. Feofilova. – M. : Nauka, 1974. – 242 s.
2. Joshi V K. Microbial Pigments / Joshi V K, Devender Attri, Anju Bala [et al.] // Indian Journal of Biotechnology. – 2003. – Vol. 2. – P. 362-369.
3. Blackwood L. L. Influence of mucoid coating on clearance of *Pseudomonas aeruginosa* from lungs / L. L. Blackwood J.E. Pennington // Infect Immun. – 1981. – Vol. 32(2). – P. 443-448.
4. Antibiotikorezistentnost' shtammov *Pseudomonas aeruginosa* s raznoj sposobnost'ju k sintezu piocianina / [O. S. Zhdanova, E. P. Krasnozhenov, Je. A. Sosnin i dr.] // Al'manah klinicheskoy mediciny. – 2013. – № 28. – S. 13-17.
5. Carotenoids present in halotolerant *Bacillus* sporeformers / [L. H. Duc, P. D. Fraser, N. K. Tam et al.] // FEMS Microbiol Lett. – 2006. – № 255. – P. 215-224.
6. Identification and the developmental formation of carotenoid pigments in the yellow/orange *Bacillus* spore-formers / [L. Perez-Fons, S. Steiger, R. Khaneja et al.] // Biochimica et Biophysica Acta. – 2011. – № 1811. – P. 177-185.
7. Carotenoids found in *Bacillus* / [R. Khaneja, L. Perez-Fons, S. Fakhry et al. // Journal of Applied Microbiology]. – 2010. – № 108. – P. 1889-1902.
8. Godinho A. Carotenes produced by alkaliphilic orangepigmented strains of *Microbacterium arborescence* – AGSB isolated from coastal sand dunes / [A. Godinho, S. Bhosle] // Indian journal of marine science. – 2008. – Vol. 37. – P. 307-312.
9. Cheng Q. Recent patents on carotenoid production in microbes / Q. Cheng // Recent patent biotechnology. – 2007. – Vol. 1. – P. 202-211.
10. Perez-Fons L. Analysis of diapocarotenoids found in pigmented *Bacillus* species / L. Perez-Fons, P. D. Fraser // Methods in Molecular Biology. – 2012. – Vol. 892. – P. 335-345.

11. Ril's'kij O.F. Naukove obruntuvannja prokariotichnoi bioindikacii zabrudnennja vazhkimi metalami prirodnoho seredovishha : dis. ... doktora biol. nauk : 03.00.16 / Ril's'kij Oleksandr Fedorovich. – K., 2011. – 351 s.
12. Pat. na korisnu model' 49812 Ukraina, MPK (2009), C12Q 1/00, C12M 1/00, C12M 1/34. Spisib viznachennja intensivnosti pigmentoutvorenja u bakterij / Ril's'kij O.F., Dombrovs'kij K.O., Gorohovs'kij S. Ju., Zhilenko A.V.; zajavnik i patentovlasnik ZNU. – № u200912311; zajavl. 30.11.2009; opubl. 11.05.2010, Bjul. № 9, 2010 r.

УДК 502.3(477.64)

СУЧАСНИЙ СТАН ТА ПОКАЗНИКИ ДИНАМІКИ ПРИРОДНО-ЗАПОВІДНОГО ФОНДУ ЗАПОРІЗЬКОЇ ОБЛАСТІ

Лебедева Н.І., Петриченко В.В., ¹Компанієць А.В.

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

¹ *Департамент екології та природних ресурсів
Запорізької обласної державної адміністрації
69035, Запоріжжя, вул. Незалежної України, 72а*

lebnatalya@yandex.ru

До складу природно-заповідного фонду Запорізької області входять 342 об'єкти (площею понад 150 тис. га), що належать до 9 категорій ПЗФ. На території області розташовано 23 об'єкти загальнодержавного значення, площею майже 134 тис. га (87,9% від загальної площі ПЗФ області). Щодо структури ПЗФ найбільш кількісно представлені категорії заказники та пам'ятки природи (і серед об'єктів загальнодержавного, і місцевого значення); за площею найбільшу частку мають національні парки (62,08% площі ПЗФ області) та заказники (36,15% площі ПЗФ області). Показник заповідності для Запорізької області складає 4,63%, він майже в 3 рази менший за науково-обґрунтований. По окремих її районах цей показник коливається від 0,02% до 20,31%. Індекс інсуляризованості по районах Запорізької області коливається в межах 0,15-1, а для області складає 0,37. Встановлено, що значна частка в структурі ПЗФ області припадає на екологічно нестійкі, невеликі за площею території. Природоохоронний індекс Запорізької області складає 3,72. Причинами недостатньо раціональної взаємодії об'єктів екомережі області між собою є високий рівень господарського освоєння території, значна фрагментарність та нерівномірний розподіл об'єктів ПЗФ територією області.

Ключові слова: природно-заповідний фонд (ПЗФ), категорії території та об'єктів ПЗФ, показник заповідності, індекс інсуляризованості, природоохоронний індекс.

Лебедева Н.И., Петриченко В.В., ¹Компанієць А.В. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПОКАЗАТЕЛИ ДИНАМИКИ ПРИРОДНО-ЗАПОВЕДНОГО ФОНДА ЗАПОРОЖСКОЙ ОБЛАСТИ / Запорожский национальный университет, 69600, Украина, Запорожье, ул. Жуковского, 66; ¹Департамент экологии и природных ресурсов Запорожской областной государственной администрации, 69035, Запорожье, ул. Независимой Украины, 72а

В состав природно-заповедного фонда Запорожской области входят 342 объекта (площадью более 150 тыс. га), принадлежащих к 9 категориям ПЗФ. На территории области расположено 23 объекта общегосударственного значения площадью около 134 тыс. га (87,9% от общей площади ПЗФ). В структуре ПЗФ наибольшим количеством представлены категории заказники и памятники природы (как среди объектов общегосударственного, так и местного значения); по площади наибольшую долю имеют национальные парки (62,08% площади ПЗФ области) и заказники (36,15% площади ПЗФ области). Показатель заповедности для Запорожской области составляет 4,63%, что почти в 3 раза меньше научно-обоснованного. По отдельным ее районам этот показатель колеблется от 0,02% до 20,31%. Индекс инсуляризованости по районам Запорожской области колеблется в пределах 0,15-1, а для области составляет 0,37. Установлено, что значительная доля в структуре ПЗФ области приходится на экологически неустойчивые, небольшие по площади территории. Природоохранный индекс Запорожской области составляет 3,72. Причинами недостаточно рационального взаимодействия объектов экосети области между