



## ВПЛИВ СПОЛУК ТОКСИЧНОЇ МІДІ(II) НА МІКРОБІОМИ ПРИРОДНИХ ЕКОСИСТЕМ ЕКВАДОРУ ТА ПЕЧЕРИ «ОПТИМІСТИЧНА»

<sup>1</sup>І.В. Путівський, <sup>2</sup>О.А. Гаврилюк, <sup>2</sup>В.М. Говоруха, <sup>2</sup>О.Б. Таширев

<sup>1</sup>Київський національний університет ім. Тараса Шевченка

пр. Академіка Глушкова, 2, Київ, 03022, Україна

<sup>2</sup>Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного, НАН України

вул. Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна

e-mail: illyaputivskiy@gmail.com

Мідь є одним з екологічно небезпечних важких металів як для довкілля, так і для живих організмів. Забруднення довкілля міддю призводить до деструкції природних екосистем [1] та викликає ряд небезпечних хвороб у живих організмів – онкологічні захворювання кісткової системи, гемолітична анемія, ідіопатична мідна інтоксикація та ін. Катіон  $\text{Cu}^{2+}$  є металом комбінованої дії за своїм негативним ефектом на клітини мікроорганізмів. Він є одночасно як металом-замісником, так і металом-окиснювачем [2]. Потрапляючи в живі клітини мідь інактивує ферменти, шляхом заміщення природних метаболітів у їх активних центрах, порушує процеси окисного фосфорилування та осмотичний баланс клітини [3, 4], призводить до порушення бар'єрних функцій клітинної мембрани [5]. Висока токсичність міді визначається величиною редокс-потенціалу ( $E_h$ ) утворених нею окисно-відновних систем [2]. Так,  $E_h$  концентрованого (1М) розчину  $\text{CuSO}_4$  становить +600 мВ, що призводить до окиснення структур мікробних клітин [2]. Однак, редокс-потенціал утворений міддю та її відновленою формою знаходиться в межах термодинамічної стійкості води<sup>3</sup> (в діапазоні стандартних значень редокс потенціалу  $E'_0$ <sup>4</sup> = – 414 мВ... + 814 мВ) [2], що свідчить про можливість існування мікроорганізмів за високих концентрацій розчинних сполук міді.

Беручи до уваги токсичність міді та її негативний вплив на довкілля і живі організми, розробка природоохоронних мікробних біотехнологій очищення промислових стічних вод та біоремедіації забруднених ґрунтів має важливе значення для суспільства.

Тому метою нашої роботи було дослідити закономірності стійкості мікробіомів природних екосистем Еквадору та «Оптимістичної» печери до сполук токсичної міді(II).

Для виявлення мідьрезистентних мікроорганізмів (МРМ) були досліджені зразки ґрунту та глини екваторіальної зони (Папалакта, Еквадор,) та помірних широт («Оптимістична» печера, Україна) відповідно. Виділення мідьрезистентних мікроорганізмів проводили у стерильних умовах на агаризованому середовищі NA (Nutrient agar, HiMedia, India) та мінеральному середовищі з глюкозою. Сполуки  $\text{Cu(II)}$  вносили у розплавлене та охолоджене до 60 °С середовище у двох формах –  $\text{Cu}^{2+}$  хелатована цитратом та у вигляді  $\text{CuSO}_4$  без додавання хелаторів. Показником сталості функціонування природних мікробіомів до сполук  $\text{Cu(II)}$  слугувала максимально-допустима концентрація (МДК) металу, за якої ще спостерігався ріст мікроорганізмів. Кількісний облік МРМ проводили прямим підрахунком колоній на чашках з концентраційним градієнтом  $\text{Cu(II)}$  – 100-5000 мг/л та наступним перерахунком у на кількість колонієутворюючих одиниць на 1 г зразка (КУО/г) [2].

<sup>3</sup> Межа термодинамічної стійкості води – діапазон стандартних редокс-потенціалів, у якому вода є хімічно стабільною, що передбачає можливість перебігу біохімічних реакцій притаманних усім живим організмам [2]

<sup>4</sup>  $E'_0$  – стандартний редокс-потенціал реакції за pH=7,0 та одномолярної концентрації як окисненої, так і відновленої форм реагуючих речовин [2]



За допомогою якісної реакції з  $\text{H}_2\text{S}$  визначали здатність мікроорганізмів накопичувати сполуки  $\text{Cu(II)}$ . Внаслідок накопичення  $\text{Cu(II)}$ , мікробні колонії забарвлювалися у чорний колір при обробці  $\text{H}_2\text{S}$  внаслідок утворення сульфиду міді:  $\text{Cu}^{2+} + \text{S}^{2-} = \text{CuS}$  [6].

Нами показано, що у екологічно-чистих незабруднених міддю природних екосистемах Еквадору та печери «Оптимістична» присутні мікроорганізми, що стійкі до міді у високих концентраціях ( $4000 \text{ мг/л Cu}^{2+}$ ) (рис. 1, рис. 2). Однак рівень стійкості природних мікробіомів залежав як від форми міді, так і від середовища культивування. Наприклад, МДК  $\text{Cu(II)}$  становила  $600 \text{ мг/л}$  за культивування мікробіому екосистеми Еквадору на середовищі  $\text{NA}$  та використання  $\text{Cu(II)}$  у формі  $\text{CuSO}_4$  (рис. 1, А). Хелатування призводило до підвищення стійкості мікроорганізмів у 6,6 разів – з  $600 \text{ мг/л}$  (за використання  $\text{CuSO}_4$ ) до  $4000 \text{ мг/л}$  (за використання хелатованих сполук міді) (рис. 1, Б). Така закономірність спостерігалася у всіх досліджуваних екосистемах.

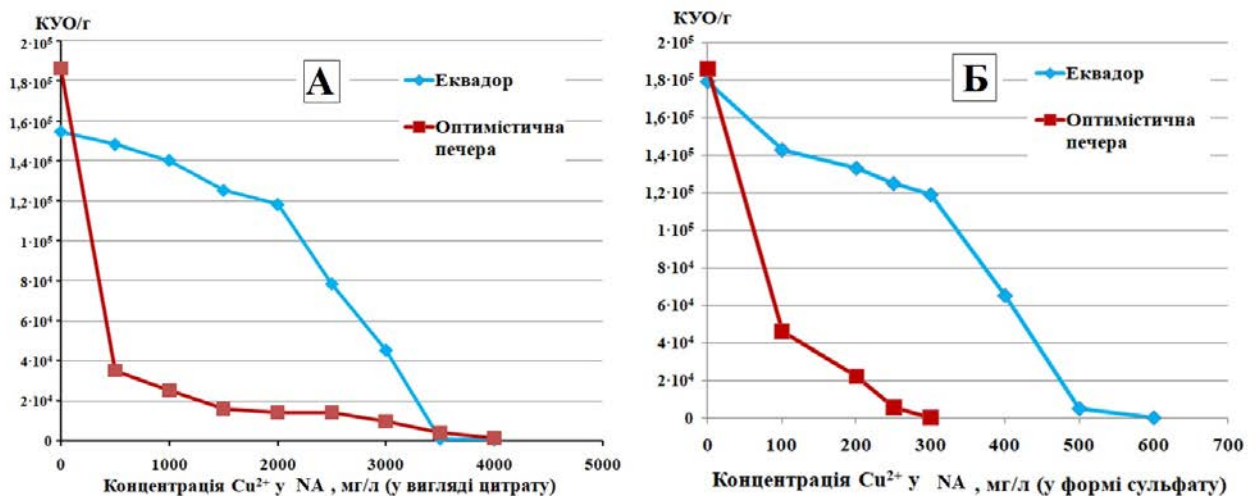


**Рис. 1. Порівняння стійкості мікробіомів екосистем Еквадору та печери «Оптимістична» до токсичної  $\text{Cu(II)}$  за культивування на середовищі  $\text{NA}$ : А – за використання хелатованої цитратом міді(II); Б – у вигляді  $\text{CuSO}_4$  без додавання хелаторів**

У мінеральному середовищі з глюкозою стійкість мікроорганізмів до міді була у 2 рази нижчою, ніж у багатому на поживні елементи середовищі  $\text{NA}$ . Так, МДК  $\text{Cu(II)}$  для мікробіому печери «Оптимістична» становила  $2000 \text{ мг/л}$  та  $150 \text{ мг/л}$  для хелатованої цитратом та сульфатної форм міді відповідно. Таким чином, найбільш токсичними для мікроорганізмів виявилось мінеральне середовище з міддю у формі  $\text{CuSO}_4$ . За таких умов, МДК  $\text{Cu(II)}$  для мікробіому ґрунту Еквадору становила усього  $25 \text{ мг/л}$  (рис. 2, Б). Отже, токсичність міді не є сталим показником та залежить від ряду факторів: її концентрації, типу субстрату, наявності хелатора тощо. Варто зазначити, що хелатування призводило до стабілізації вихідних значень показників  $\text{pH}$  в межах  $6,5-7$  та редокс-потенціалу ( $+320 \text{ мВ} \dots +380 \text{ мВ}$ ) поживного середовища, що могло знижувати токсичність міді для мікроорганізмів.

Необхідно підкреслити, що загальнобіологічна закономірність щодо негативної дії міді підтверджується у всіх варіантах експерименту. Залежність стійкості мікробіомів від концентрації міді описується гіперболічною залежністю – з підвищенням концентрації  $\text{Cu(II)}$  кількість життєздатних клітин мікроорганізмів катастрофічно зменшується (рис. 1, рис. 2). Так, за підвищення концентрації цитрату  $\text{Cu(II)}$  до  $500 \text{ мг/л}$  (у середовищі  $\text{NA}$ ) кількість мікроорганізмів зменшилася у 5,3 рази від  $1,86 \times 10^5 \text{ КУО/г}$  до  $3,5 \times 10^4 \text{ КУО/г}$  (рис. 1, А). Однак, навіть за МДК  $\text{Cu(II)}$  їх кількість становила сотні і тисячі життєздатних МРМ (рис. 1, рис. 2).

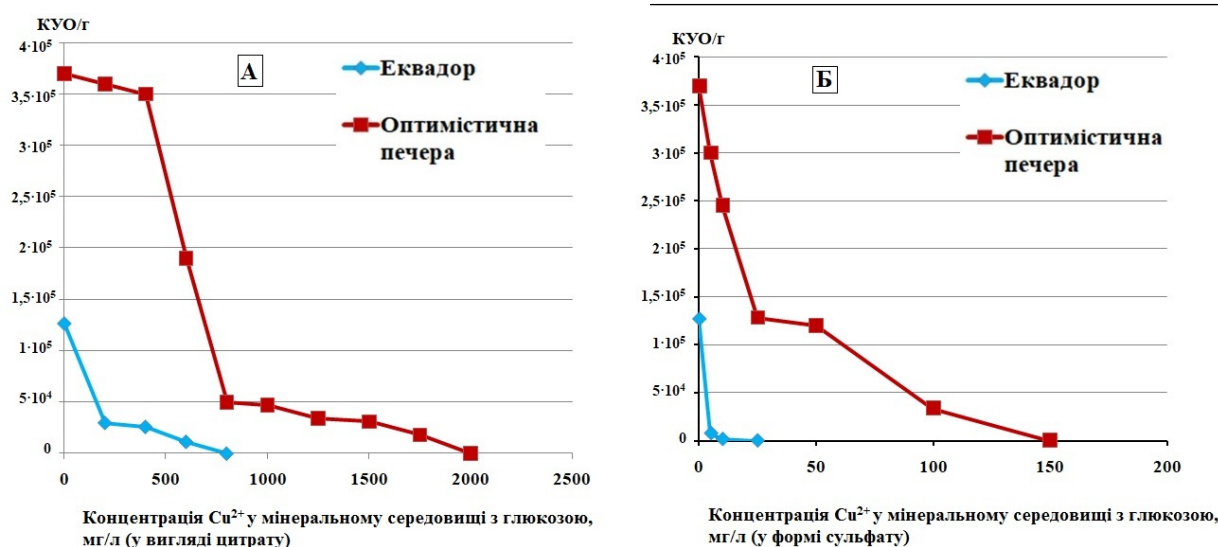


**Рис. 2. Порівняння стійкості мікробіомів екосистем Еквадору та печери «Оптимістична» до токсичної  $\text{Cu}(\text{II})$  за культивування на мінеральному середовищі з глюкозою: А – за використання хелатованої цитратом токсичної міді(II); Б – у вигляді  $\text{CuSO}_4$  без додавання хелаторів**

Мікроорганізми, що були виділені з досліджуваних екосистем були не тільки стійкими до міді, а також накопичували її у клітинах. Тому вони є екологічно перспективними для використання у природоохоронних біотехнологіях очищення мідьвмісних стічних вод та біоремедіації контамінованих ґрунтів.

Згідно з отриманими даними хелатування призводило до зменшення токсичності міді у десятки разів. Таким чином, з огляду на те, що хелатування міді призводить до підвищення стійкості мікроорганізмів до міді, до очисної споруди разом із мікроорганізмами доцільно вносити полімерні органічні сполуки (крохмаль, целюлозу тощо), які метаболізуються мікроорганізмами з утворенням широкого спектру органічних кислот – хелаторів міді.

Отже, наш методологічний підхід дозволяє виділяти мідьрезистентні мікроорганізми з екологічно-чистих природних екосистем та усуває необхідність пошуку техногенних забруднених екосистем для виділення з них промислово перспективних мікроорганізмів.

### Література:

1. Ульрих Д. Экологическая нагрузка на окружающую среду предприятиями по добыче меди в южно-уральском регионе. / Д. Ульрих. – 2016. – №1. – С. 49–58.
2. Гаврилюк О. А. Стійкість мікроорганізмів чорноземного ґрунту до розчинних сполук міді / О. А. Гаврилюк, В. М. Говоруха, О. Б. Таширев. // Фактори ексериментальної еволюції організмів. – 2018. – №23.
3. Бузолёва Л. Влияние тяжёлых металлов на размножение патогенных бактерий / Л. Бузолёва, А. Кривошеева. // Успехи современного естествознания. – 2013. – №7. – С. 30–33.
4. Багаева Т. Микробиологическая ремедиация природных систем от тяжелых металлов / Т. Багаева, Н. Ионова, Г. Надеева. – 2013. – С. 56.
5. Бабушкина И. Изучение антибактериального действия наночастиц меди и железа на клинические штаммы *Staphylococcus aureus*. / И. Бабушкина, В. Бородулин. // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2010. – №6. – С. 11–14.



6. Tashyrev O. Resistance of microbial communities from Ecuador ecosystems to representative toxic metals –  $\text{CrO}_4^{2-}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  / O.Tashyrev, I. Prekrasna, G. Tashyreva, O. Bielikova. // Мікробіологічний журнал. – 2015. – №77. – С. 46–61.



УДК 504.062.2

## ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ПОПУЛЯЦИОННОЙ И ФАКТОРИАЛЬНОЙ ЭКОЛОГИИ В ПТИЦЕВОДСТВЕ

Ю.Ф. Селедчик

Гродненский государственный университет им.Янки Купалы  
пер. Доватора, 3/1, Гродно, 230012, Беларусь  
e-mail: mail@grsu.by

### Актуальность

В настоящее время птицеводческое производство является наукоемким, динамично развивающимся и перспективным направлением в агропромышленном комплексе Республики Беларусь. Оно способно конкурировать с звероводством, покрыть недостаток мясной продукции даже в условиях экономического кризиса [1].

Птицеводство – отрасль животноводства, в задачу которой входит разведение сельскохозяйственной птицы. Основные направления птицеводства – яичное и мясное. Побочная продукция – пух, перо. Пищевое значение имеют в основном куриные яйца, для производства которых целесообразно разведение кур яичного направления продуктивности. В мясном птицеводстве используют кур мясных пород, а также уток, индеек, гусей, реже цесарок и перепелов [2].

Бройлерные куры отличаются от своих сородичей более быстрым ростом и большей массой тела. Питательная ценность мяса бройлера также превосходит другие виды домашней птицы. Несмотря на все преимущества, их выращивание достаточно трудозатратно и требует постоянного ухода за птицей. Процесс выращивания бройлеров значительно отличается от выращивания других видов кур. Эти куры отличаются от общей массы слабой сопротивляемостью к болезням и низкой стрессоустойчивостью. Поэтому требуют поддержания определенных условий их содержания [3].

Следовательно, и сегодня одним из актуальных вопросов остается выявление оптимальных условий содержания цыплят-бройлеров для более интенсивного роста молодняка.

Экологизация производств находится в перечне приоритетных вопросов, на которых фокусируется современная экология. И если раньше подобные вопросы решались преимущественно для крупных промышленных предприятий, сегодня сфера применения подобных подходов значительно расширилась, включив в себя объекты агропромышленного комплекса. Так, применение экологических подходов в современном птицеводстве может позволить гармонизировать условия выращивания цыплят-бройлеров, а также значительно сэкономить ресурсы на их выращивание.

### Цель работы

Определение возможности применения принципов популяционной и факториальной экологии в выращивании цыплят-бройлеров.