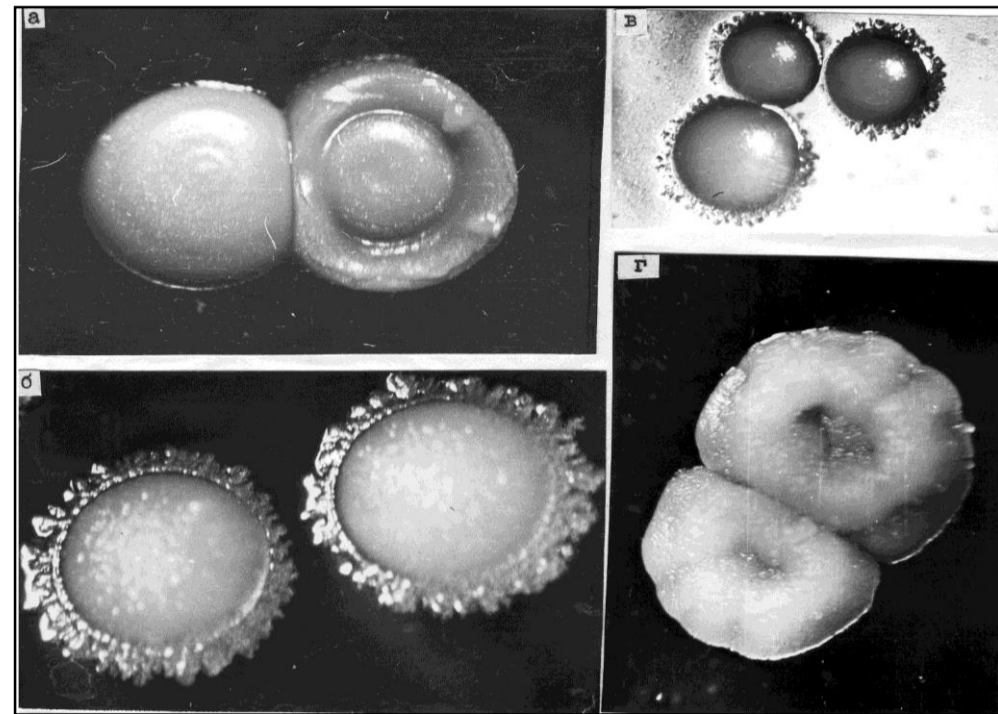


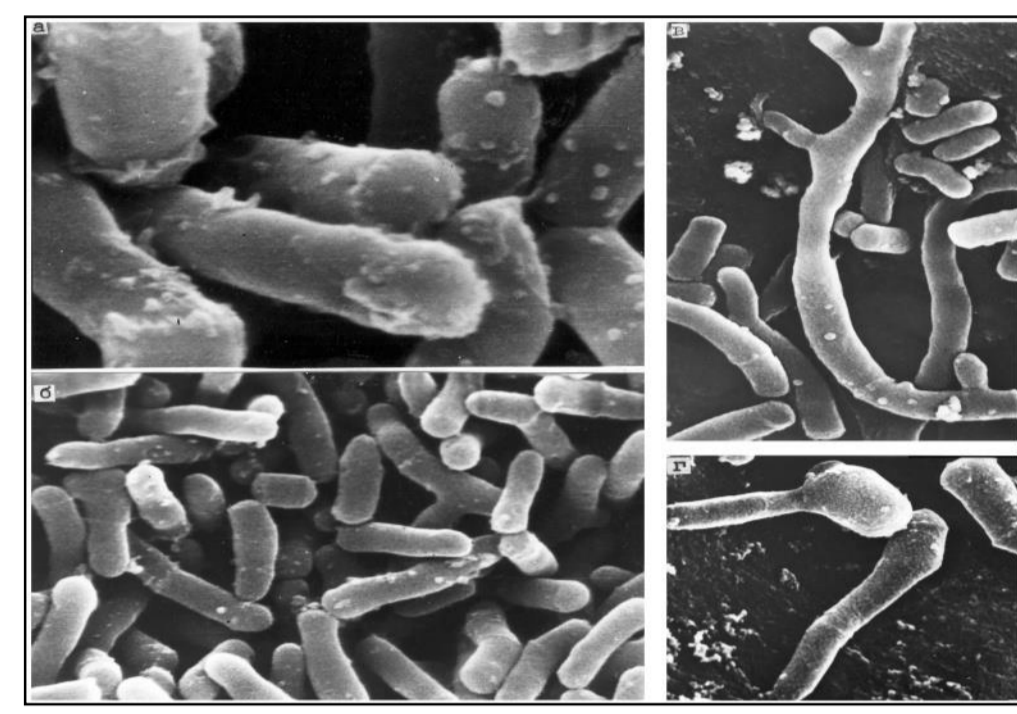
Влияние наночастиц металлов переменной валентности на жизнеспособность родококков

Выполнил: аспирант кафедры микробиологии и иммунологии ПГНИУ Писцова Ольга Николаевна. Руководитель: профессор, д. б. н. Куюкина Мария Станиславовна

Введение: На современном этапе, выделяется большое внимание биологическому разнообразию, как обязательному условию устойчивого развития, а также, как следствие жизнедеятельности человека, рассматриваются факторы изменения человеком окружающей среды. Особый интерес имеет понимание воздействия изменяющейся среды на биологическое разнообразие. **Цель данной работы** – определить степень воздействия металлоосновных наночастиц, имеющих многотоннажный выпуск в окружающую среду через промышленное производство и непреднамеренный выпуск, на актинобактерии рода *Rhodococcus*, являющиеся значительным компонентом естественных сред и обладающие перспективными характеристиками для промышленности, биоремедиации [1, 2, 3, 4]. Изучение взаимодействия соответствующих объектов исследований ранее не проводилось.



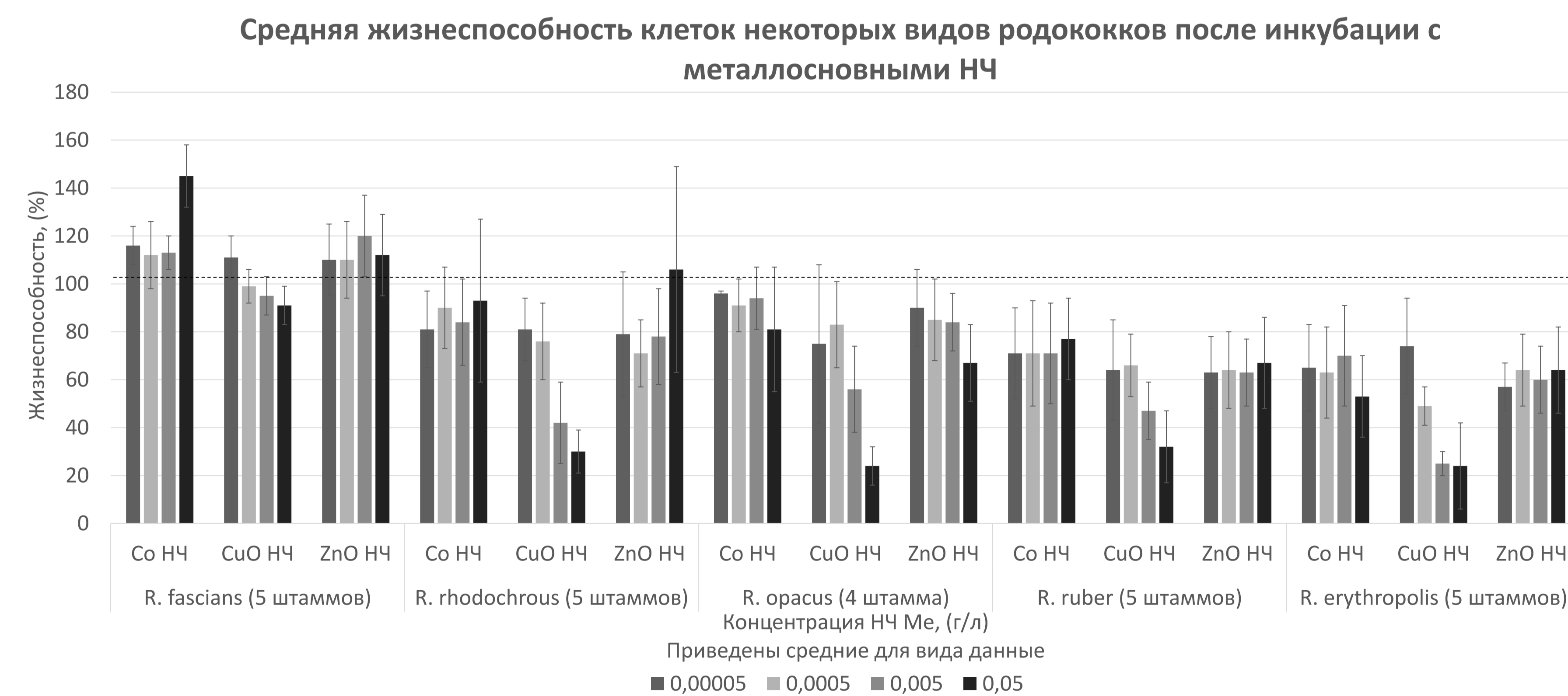
Колонии родококков на питательной среде, увеличение x 10-15 (Ившина и др., 1987)



Родококки в сканирующем электронном микроскопе, увеличение x 30000-50000 (Ившина и др., 1987)

Результаты и обсуждение: Среди исследованных видов родококков выделен наиболее устойчивый к действию отобранных металлоосновных НЧ – *R. fascians*, и наименее – *R. erythropolis*, что видно из рисунка № 1. При этом жизнеспособность *R. fascians* для всех трех типов НЧ превышала контрольный показатель и возрастала при увеличении концентрации для НЧ Co и ZnO, но снижалась для CuO, что можно объяснить антибактериальным действием меди, как кускового металла. В целом, ряд устойчивости родококков к металлоосновным НЧ расположился в следующем порядке: *R. fascians* > *R. rhodochrous* > *R. opacus* > *R. ruber* > *R. erythropolis*. Стимулирующий эффект НЧ Co для штаммов *R. fascians* при минимальных концентрациях составлял приблизительно 10%, а так же для максимальной концентрации составил более 40%. В то же время, показатель жизнеспособности *R. fascians* после НЧ ZnO представлял около 110% для трёх концентраций (двух минимальных и максимальной) и достигал максимального значения на предпоследней концентрации, как наиболее благоприятной, доходя до 120% жизнеспособных клеток.

Для воздействия НЧ CuO на клетки родококков характерен антибактериальный эффект и снижение жизнеспособности с увеличением концентрации НЧ. Так для *R. fascians* характерен слабый стимулирующий эффект примерно на 10% от контроля для минимальной концентрации и дальнейшее постепенное снижение количества живых клеток, доходя до 90% на максимальной концентрации. Относительно других исследованных видов, выявлен значительный антибактериальный эффект при концентрации НЧ CuO 0,05 г/л, здесь показатель жизнеспособности клеток ровнялся чуть более 30% от контроля, при этом показатель был стабилен для четырёх видов, таких как *R. ruber*, *R. opacus*, *R. rhodochrous* и *R. erythropolis*. В целом, виды кроме *R. fascians* показали чувствительность к металлоосновным НЧ и снижали жизнеспособность даже при минимальных концентрациях. Единственный показатель превысивший 100% у остальных описанных видов – это *R. rhodochrous* после взаимодействия с НЧ ZnO составивший около 105%, скорее всего завышен, так как стандартное отклонение у этого замера составляет более 40%. Штаммовая гетерогенность, которую можно заметить по стандартному отклонению, для остальных описанных замеров не очень большая, средняя, что говорит об отсутствии штаммоспецифичности в отношении устойчивости к исследованным металлоосновным НЧ. Концентрационная зависимость описывающая воздействие НЧ Co и ZnO на родококки не выражена, и жизнеспособность клеток стабильна на показателе 80% для Co и 90% для ZnO. В то же время, с увеличением концентрации НЧ CuO воздействие на клетки возрастает, так происходит снижение жизнеспособности на 5%, далее на 20% и на 10% при изменении концентрации НЧ от 0,00005 до 0,05 г/л с десятикратным интервальным шагом.



Выводы:

- 1) Выявлен вид, который проявлял при инкубации с металлоосновными наночастицами стимуляцию роста клеток. Это *R. fascians* с жизнеспособностью более 140% при некоторых концентрациях и типах НЧ.
- 2) Устойчивость видов родококков располагалась в следующем порядке: *R. fascians* > *R. rhodochrous* > *R. opacus* > *R. ruber* > *R. erythropolis*.
- 3) НЧ CuO проявили антибактериальный эффект для четырёх чувствительных видов и показали минимальную жизнеспособность в 30% от контроля.
- 4) Для данных видов родококков не было выявлено штаммоспецифичности внутри вида по реакции на инкубацию с НЧ.

Материалы и методы: В работе использованы 24 штамма, принадлежащих к видам *Rhodococcus ruber*, *R. opacus*, *R. rhodochrous*, *R. erythropolis*, *R. fascians*, из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, WDCM # 768; www.iegm.ru/iegmcol). В качестве металлоосновных наночастиц (НЧ) использовали: НЧ Co, CuO, ZnO, хранящиеся в растворе β -циклодекстрина. Жизнеспособность бактерий определяли методом окрашивания йодонитротетразолия хлоридом (Sigma-Aldrich, США). Выращенные в МПБ и дважды отмытые натрий-фосфатным буфером клетки ресуспендировали в 50 мкл среды RS, доведённой до $OP_{600} = 0,5$, смешивали с 50 мкл суспензии НЧ в β -циклодекстрине и инкубировали при 28°C, 1 сутки на микропланшетном шейкере-инкубаторе Titramax 1000 (Heidolf-Instruments, Германия). Через сутки экстрагировали этилацетатом образовавшийся фармазан из суспензии бактерии/наночастицы. OP_{620} окрашенной суспензии измеряли на микропланшетном фотометре Multiscan Ascent (Thermo Electron Corporation, Финляндия) с программным обеспечением Ascent Software v.2.6 (Thermo Labsystems, Финляндия). В качестве биотического контроля использовали суспензию клеток с соответствующим разведением средой RS, в качестве абиотического контроля – смесь суспензий среды RS и НЧ в β -циклодекстрине.

Список источников:

- 1) Ившина И. Б., Куюкина М. С., Костина Л. В. Адаптационные механизмы неспецифической устойчивости алканотрофных актинобактерий к ионам тяжелых металлов// Экология. 2013. № 2., С 115-123.
- 2) Колесников С. И., Вардин В. М., Тимошенко А. И., Денисова Т. В., Кузеев К. Ш., Акименко Ю.В. Оценка экотоксичности наночастиц оксидов кобальта, меди, никеля, и цинка по биологическим показателям состояния чернозёма обыкновенного// Юг России: экология, развитие. 2020. Т. 15, № 1. С 130 – 136.
- 3) Brar S. K., Verma M., Tyagi R. D., Sunampalli R. Y. Engineered nanoparticles in wastewater and wastewater sludge – Evidence and Impacts// Waste Management. 2010. Т. 30. С 504 – 520.
- 4) Carvalho C. C. R. de, Fonseca M. M. R. da. The remarkable *Rhodococcus erythropolis*// Appl Microbiol Biotechnol. 2005. Т. 67. С 715 – 726.

