

**І.В. Страшнова, К.С. Потапенко, Н.Ю. Васильєва,
Н.В. Коротаєва, І.П. Метеліцина**

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: fabiyanska@ukr.net

ЧУТЛИВІСТЬ ДО ВАЖКИХ МЕТАЛІВ АКТИНОБАКТЕРІЙ, ВИДІЛЕНИХ ІЗ БІОЛОГІЧНИХ ОБРОСТАНЬ ЧЕРЕПАШНИКУ І МІДІЙ ОДЕСЬКОЇ ЗАТОКИ ЧОРНОГО МОРЯ

Забруднення навколишнього середовища важкими металами є однією із найбільш важливих екологічних проблем, що зумовлює розробку стратегій біоремедіації і пошук біомаркерів для оцінки його стану. **Мета.** Визначити чутливість до важких металів актинобактерій, виділених із біологічних обростань природного черепашику і мідій Одеської затоки Чорного моря. **Методи.** Використано 34 штами актинобактерій, ізольованих із обростань черепашику і мідій Одеської затоки. Чутливість досліджуваних бактерій до катіонів важких металів визначали на крохмаль-казеїновому агарі диско-дифузійним методом. Використано диски, просочені розчинами солей Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} у концентраціях катіонів 0,001 моль/л, 0,01 моль/л, 0,05 моль/л, 0,1 моль/л, 0,5 моль/л і 1,0 моль/л. **Результати.** Досліджені актинобактерії проявили варіабельну чутливість до важких металів, яка залежала від джерела виділення, штаму, типу металу і його концентрації. Усі досліджені бактерії були найбільш чутливими до Cd^{2+} з мінімальною інгібуючою концентрацією (МІК) 0,001 моль/л, найбільш стійкими до Zn^{2+} (для більшості бактерій МІК була вищою 1,0 моль/л). У концентраціях, менших за МІК, цинк стимулював утворення повітряного міцелію бактерій майже всіх штамів, у деяких з них збільшувалося пігментоутворення. Чутливість до важких металів актинобактерій, виділених із черепашику, знижувалася у такій послідовності: $Cd^{2+} > Cu^{2+} > Co^{2+} > Ni^{2+} > Zn^{2+}$, а у актинобактерій, ізольованих із мідій, – $Cd^{2+} > Cu^{2+} > Ni^{2+} > Co^{2+} > Zn^{2+}$. **Висновки.** Актинобактерії, ізольовані з мідій, є більш чутливими до кадмію, купруму, кобальту, нікелю і цинку ніж актинобактерії з черепашику. Усі досліджені штами виявилися високочутливими до Cd^{2+} (МІК Cd^{2+} майже для усіх штамів складала 0,001 моль/л) і стійкі до Zn^{2+} у діапазоні концентрацій 0,001 моль/л – 0,5 моль/л.

Ключові слова: морські актинобактерії, чутливість, важкі метали

Забруднення довкілля важкими металами є однією із найбільш важливих екологічних проблем з огляду на стійку, латентну та кумулятивну природу таких токсичних забруднювачів, які не піддаються біологічному розкладанню. Метали потрапляють у навколишнє середовище, у тому числі морську

© І.В. Страшнова, К.С. Потапенко, Н.Ю. Васильєва, Н.В. Коротаєва, І.П. Метеліцина, 2022



екосистему, шляхом природних геохімічних процесів і в результаті антропогенного забруднення [13, 19].

Деякі метали, такі як Cu, Co, Fe, Mn, Se, Zn, Ni, є важливими мікроелементами для мікробіоти, необхідними для підтримки деяких біологічних функцій, вони діють як кофактори, що мають важливі структурні та каталітичні властивості в ферментах та білках, переносників електронів та регуляторів клітинного осмотичного тиску.

Як нестача, так і збільшення концентрації цих металів у середовищі призводить, у першу чергу, до порушення функціональної діяльності бактеріальної клітини [6]. Такі важкі метали як Al, Pb, Cd, Hg не відіграють якоїсь біологічної ролі та є токсичними для живих організмів [14].

Природа інгібуючого впливу важких металів на бактерії складна, тому розглядати цей процес необхідно з урахуванням широкого комплексу фізико-хімічних факторів зовнішнього середовища, а також індивідуальних особливостей кожного виду і штаму бактерій. Токсичність важких металів значною мірою залежить від форми металу, рН, наявності органічних речовин, температури навколишнього середовища [4]. Токсична дія важких металів має неспецифічний характер, впливає на ріст, морфологічні, фізіолого-біохімічні, генетичні параметри, енергетичні та біосинтетичні процеси мікроорганізмів [12, 13, 15]. Намагаючись забезпечити захист чутливих компонентів, клітина може розробити систему металорезистентності. Ступінь стійкості мікроорганізму визначають кілька факторів: тип та кількість механізмів поглинання металів, роль, яку кожен метал відіграє у нормальному метаболізмі, та наявність генів, локалізованих у хромосомах, плазмідах, транспозонах, які контролюють резистентність до металів [19].

Способи вилучення важких металів із навколишнього середовища можна поділити на дві групи: біотичні методи, основою яких є накопичення важких металів живими організмами, перш за все, мікроорганізмами та абіотичні методи, в основі яких лежать такі фізико-хімічні процеси, як осадження, адсорбція і т.п. [9, 11]. Проте фізико-хімічні процеси є дорогими і не забезпечують остаточного вирішення проблеми, пов'язаної із забрудненням довкілля важкими металами. Стратегії біоремедіації – екологічні, економічно доцільні, ефективні та селективні до забруднювачів, передбачають використання стійких до металів мікроорганізмів, які здатні рости і активно функціонувати при їх високих концентраціях. Відомо кілька механізмів стійкості бактерій до важких металів, серед яких виділяють: наявність або формування позаклітинного бар'єру, активний транспорт йонів металів із клітини, позаклітинне або внутрішньоклітинне зв'язування та відновлення йонів металів до нерозчинних сполук [12].

Серед бактерій, які часто використовуються для стратегії біоремедіації увагу привертають члени філуму *Actinobacteria*. Ця група включає бактерії з дуже різноманітними фізіологічними та метаболічними властивостями, здатністю колонізувати різноманітні субстрати, що є відображенням геномної неоднорідності [12]. Найчастіше у процесах біоремедіації неорганічних і органічних сполук використовують представників роду *Streptomyces* та групи CMNR (*Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia* і *Rhodococcus*) [11, 19]. Перспективним також є використання актинобактерій як чутливих біомарке-



рів для оцінки стану навколишнього середовища, включаючи забруднення окремими важкими металами. Для розширення можливостей актинобактерій у біоремедіації були розроблені такі стратегії, як біоаугментація, іммобілізація клітин, виробництво біосурфактантів, біостимуляція росту і розвитку рослин у системі рослина-актинобактерія та ін. [9].

З огляду на викладене вище, метою роботи було визначити чутливість до важких металів актинобактерій, виділених із біологічних обростань природного черепашику і мідій Одеської затоки Чорного моря.

Матеріали і методи

Дослідження проводили зі штамми актинобактерій, 20 із яких виділені із біологічних обростань природного черепашику, 14 штамів – із мідій (*Mytilus galloprovincialis*). Зразки черепашику були зібрані на глибині 0,2–1,0 м, мідій – 3,0–5,0 метрів у червні–липні 2020 р. в Одеській затоці Чорного моря в районі Гідробіологічної станції Одеського національного університету імені І.І. Мечникова (Одеса, Україна, 46°27'01''N 30°46'14''E). За результатами порівняння жирнокислотних спектрів з використанням бібліотеки MIDI Sherlock (ACTIN 3.80) 19 штамів, ізольованих з біологічних обростань черепашику, та всі штами із мідій були ідентифіковані з різними індексами подібності як представники роду *Streptomyces*, один штам із черепашику відноситься до роду *Nocardioopsis* [5, 7].

Чутливість актинобактерій до катіонів важких металів визначали на середовищі крохмаль-казеїновий агар [22] диско-дифузійним методом. Актинобактеріями щільно засівали поверхню середовища, після чого на нього розкладали стерильні диски фільтрувального паперу, просочені розчинами солей Cu^{2+} ($\text{CuSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$), Co^{2+} ($\text{CoSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$), Ni^{2+} ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$), Cd^{2+} ($\text{CdSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$) і Zn^{2+} ($\text{ZnSO}_4 \times 6\text{H}_2\text{O}$) у концентраціях катіонів 0,001 моль/л, 0,01 моль/л, 0,05 моль/л, 0,1 моль/л, 0,5 моль/л і 1,0 моль/л.

Контролем були чашки з крохмаль-казеїновим агаром без додавання розчинів солей металів, засіяні актинобактеріями відповідних штамів.

Посіви культивували при 28 °С. Облік результатів проводили через 5 (проміжні) і 10 (остаточні) діб, вимірюючи розміри зон відсутності росту штамів навколо дисків. За наявності зони відсутності росту ≤ 10 мм штам вважали помірночутливим, від 11 мм до 20 мм – середньочутливим, ≥ 21 мм – високочутливим; при наявності росту навколо диску з металом штам вважали стійким. Мінімальною інгібуючою (пригнічувальною) вважали концентрацію (МК), при якій спостерігали відсутність росту штаму.

Дослідження проведено в трьох повторях. Для аналізу отриманих результатів проведено описову статистику, яку здійснювали за допомогою програми Microsoft Office Excel-2016.

Результати та їх обговорення

Дослідження чутливості актинобактерій, виділених із біологічних обростань черепашику і мідій, до важких металів виявило, що майже усі штами високочутливі до катіонів купруму у концентраціях 1,0 моль/л – 0,1 моль/л Cu^{2+} (рис. 1 А, Б). У діапазоні концентрацій Cu^{2+} від 0,01 моль/л до 0,001 моль/л виявлено штами з різним рівнем чутливості. Стрептоміцети штамів із мідій



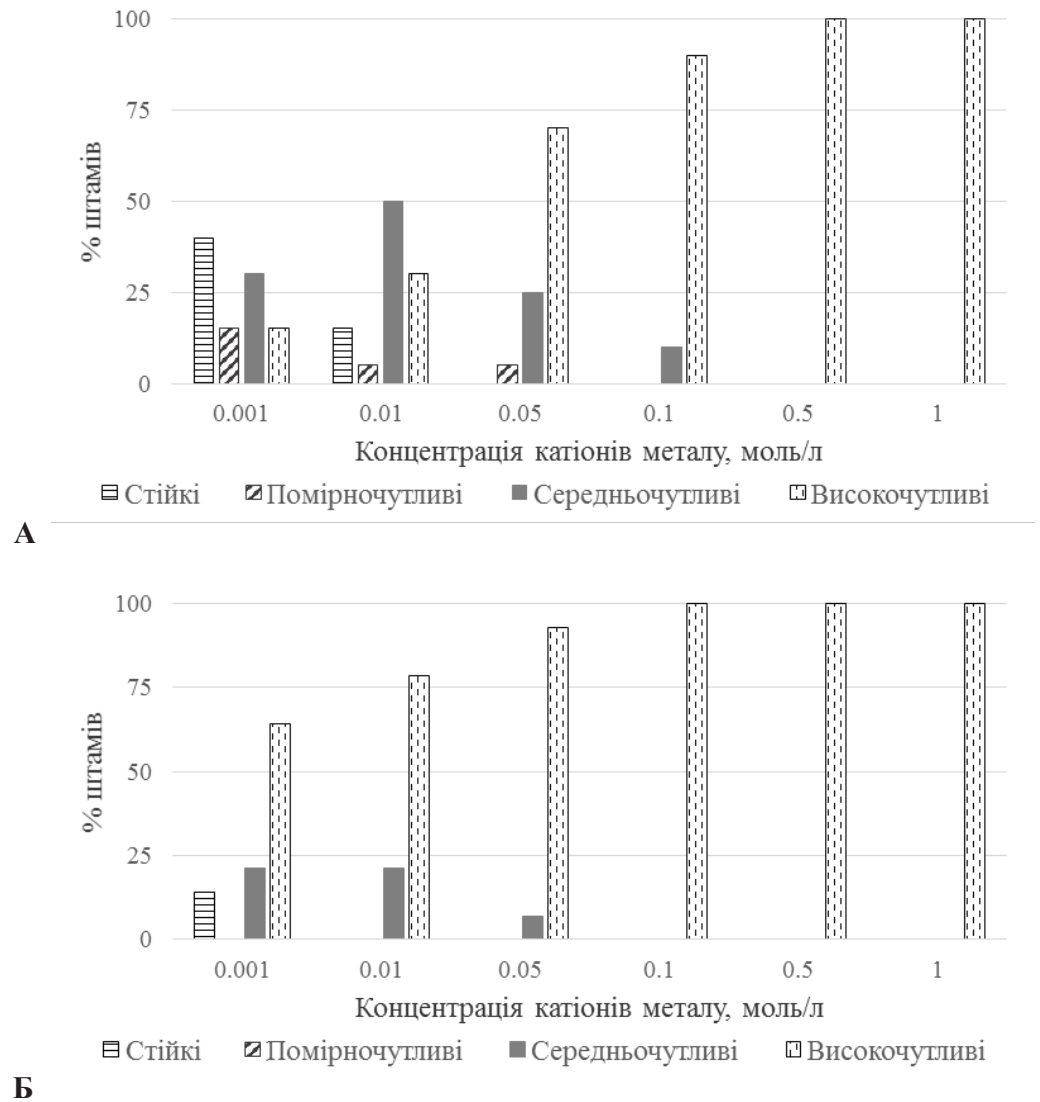


Рис. 1. Чутливість штамів актинобактерій до різних концентрацій Cu^{2+} (через 10 діб)
Примітка: А – виділені з черепашнику; Б – виділені з мідій

Fig. 1. Sensitivity of actinobacteria strains to different concentrations of Cu^{2+} (after 10 days)

Note: A – isolated from shell rock; B – isolated from mussels

є чутливішими до купруму у порівнянні із бактеріями, виділеними із черепашнику. Найменш токсичним для усіх виділених штамів актинобактерій був купрум у концентрації у 0,001 моль/л. За такої концентрації виявлено стійкі штами (40,0% із черепашнику і 14,3% із мідій).

Відомо, що купрум є важливим мікроелементом. Він входить до складу ферментів галактозооксидази, глутамілтрансферази, гіпонітритредуктази, редуктази окису азоту.



Купрум бере участь в окисно-відновних реакціях, диханні, метаболізмі вуглеводів та білків, азотному обміні, впливає на мембранні Na^+/K^+ -АТФ-ази, на структуру та функції нуклеїнових кислот, синтез фосфоліпідів. В разі нестачі цього елемента пригнічується обмін речовин, у першу чергу, в результаті порушення активності купрумвмісних ферментів. Надмірна концентрація купруму спричиняє токсичний вплив на живі організми [6].

У дослідженнях інших авторів показано, що реакція мікроорганізмів різних таксономічних груп на купрум (як і на багато інших важких металів) визначається багатьма параметрами і залежить, зокрема, від виду мікроорганізму (а часто навіть штаму), джерела виділення, концентрації металу, умов проведення експерименту та ін. [2, 3, 8]. Так, у дослідженнях Н.Ю. Васильєвої та ін. [3] встановлено, що більшість штамів чорноморських лактобацил (57,1%) росли при концентрації Cu^{2+} 0,5 мМ, 14,2% – при концентрації 1 мМ і 23,8% – при 5 мМ. При дослідженні ацидофільних хемолітотрофних бактерій, виділених із техногенної сировини, стійкість до купруму коливалася у межах 2,5 – 11,5 г/дм³ у залежності від штаму [1]. Нейтрофільні тіонові бактерії, ізольовані з води Чорного моря, були здатні до акумуляції $\text{Cu}(\text{II})$ з водного розчину в межах від 22,83% до 89,24% і при цьому активність залежала від штаму та не залежала від МІК [2]. Штами *Streptomyces* spp. АВ2А, АВ3 і АВ5А, виділені із забруднених купрумом відкладень дренажного каналу, інтенсивно росли на мінімальному середовищі із 0,5 мМ вмістом сульфату купруму, при цьому демонструючи морфологічну, фізіологічну і молекулярну неоднорідність [8]. При формуванні стійкості до купруму у актинобактерій відзначають механізми біоаккумуляції, біосорбції та біотрансформації [19].

Окрім купруму, важливими мікроелементами для багатьох мікроорганізмів є нікель і кобальт. Кобальт є невід'ємним компонентом комплексу вітамінів B_{12} [13, 18], нікель – необхідним кофактором деяких ключових ферментів, у першу чергу, супероксиддисмутази, гідрогенази й уреази [23].

Виділені стрептоміцети виявилися стійкішими до дії кобальту і нікелю, у порівнянні із купрумом. При цьому рівні чутливості залежали від металу, його концентрації і штаму актинобактерій. Із збільшенням концентрації Co^{2+} і Ni^{2+} від 0,001 моль/л до 1,0 моль/л частка стійких штамів закономірно зменшувалася, натомість зростала частка середньо- та високочутливих штамів (рис. 2 А, Б; 3 А, Б).

До кобальту і нікелю у найменшій концентрації (0,001 моль/л) частка стійких актинобактерій із черепашику складала, відповідно, 45,0% і 60,0%, із мідій – 50,0% і 42,9%. За дії Co^{2+} у концентраціях 0,5 моль/л і 1,0 моль/л ріст переважної більшості усіх досліджених бактерій не спостерігався, тобто вони були високочутливими. Щодо нікелю в цих же концентраціях, то більшість штамів також не росла, але при цьому актинобактерії із мідій були більш чутливими, ніж актинобактерії із черепашику. Пороговою концентрацією катіонів кобальту, до якої виявлено резистентні штами як із черепашику, так із мідій, є 0,1 моль/л. Цей же показник катіонів нікелю для штамів із черепашику становив 0,1 моль/л, для штамів із мідій – 0,05 моль/л. Отримані результати підтверджуються публікаціями інших дослідників, мова в яких йде про залежність рівня стійкості мікроорганізмів до кобальту і нікелю від природного й

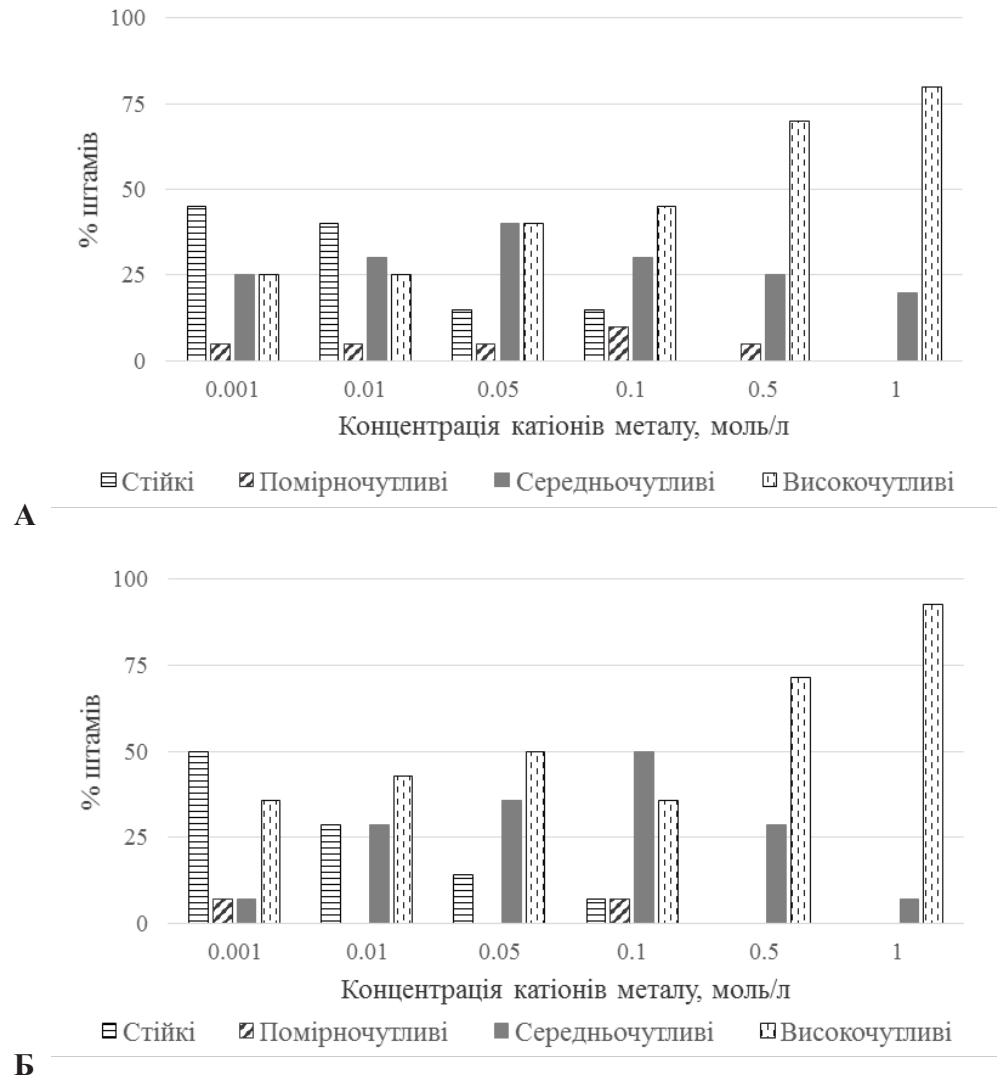


Рис. 2. Чутливість штамів актинобактерій до різних концентрацій Co^{2+} (через 10 діб)
Примітка: А – виділених із черепашнику; Б – виділених із мідій

Fig. 2. Sensitivity of actinobacteria strains to different concentrations of Co^{2+} (after 10 days)

Note: A – isolated from shell rock; B – isolated from mussels

антропогенного навантаження на джерело виділення і безпосередньо штаму мікроорганізму [17, 20]. Так, у дослідженнях Matej Remenár et al. [20] відзначається, що виділені із ґрунту актинобактерії були стійкі до нікелю, кобальту, а також до інших важких металів, при цьому спостерігалася дивергенція всередині самої групи бактерій. Про мікробну толерантність до важких металів, як індивідуальну ознаку мікроорганізмів, вказано у публікації Edyta Boros-Lajszner et al. [17]. При цьому автори зазначають, що забруднення ґрунту Cd^{2+} , Co^{2+} та Ni^{2+} суттєво вплинуло на мікробне різноманіття загалом і суттєво



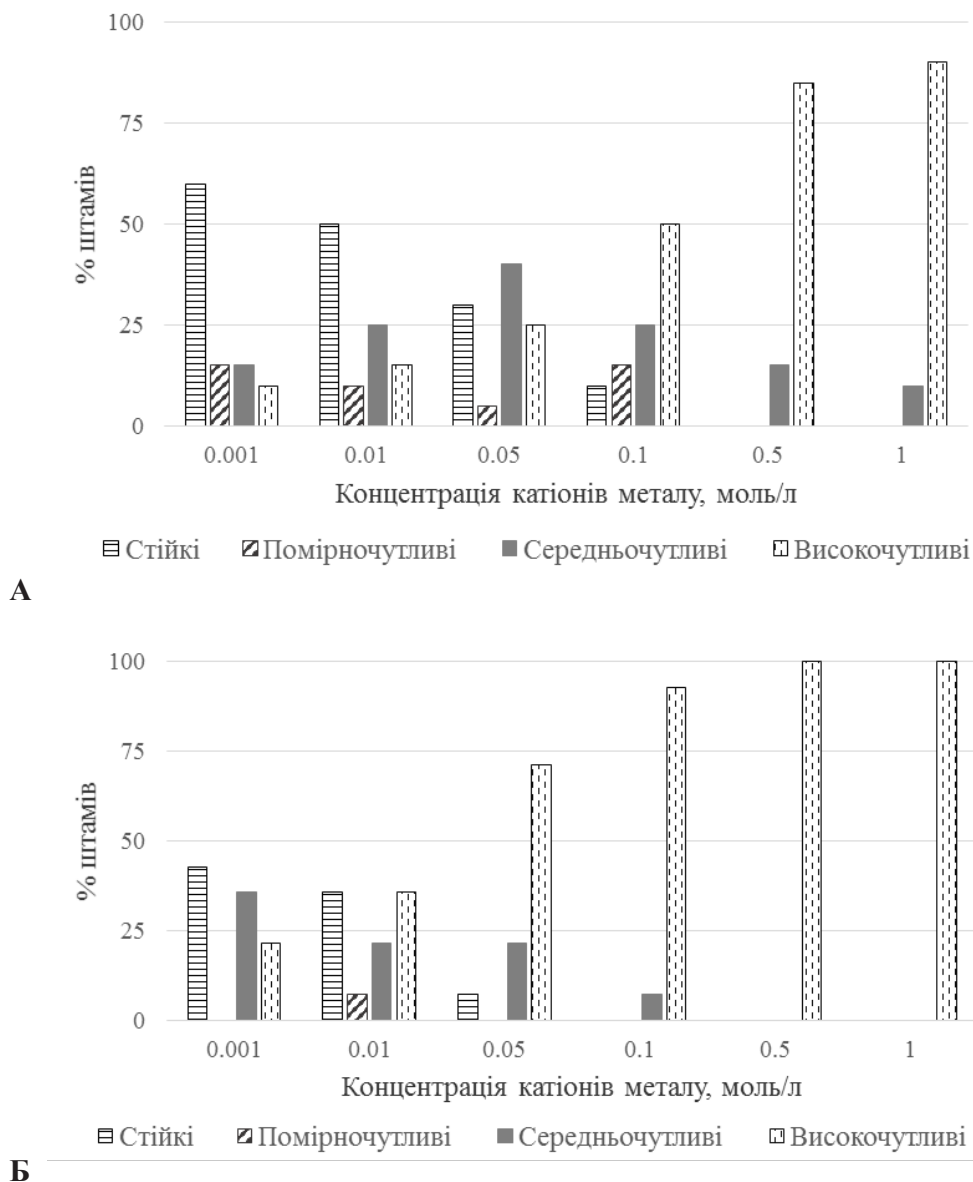


Рис. 3. Чутливість штамів актинобактерій до різних концентрацій Ni²⁺ (через 10 діб)
Примітка: А – виділених із черепашнику; Б – виділених із мідій

Fig. 3. Sensitivity of actinobacteria strains to different concentrations of Ni²⁺ (after 10 days)
Note: A – isolated from shell rock; B – isolated from mussels

зменшило генетичне різноманіття бактерій, зокрема у представників філумів *Actinobacteria* та *Proteobacteria*. Мікроорганізми, резистентні до мінливих умов навколишнього середовища (наприклад, забруднення важкими металами), можуть порушувати гомеостаз екосистем, це призводить до еволюції стійких бактерій, що, у свою чергу, знижує біорізноманіття в даному біотопі [17].

Щодо резистентності до Co^{2+} та Ni^{2+} відзначається формування у актинобактерій здатності до біоаккумуляції, біосорбції, еффлюксу [19]. Є дані про те, що мікроорганізми виживають у забруднених середовищах завдяки відновленню металів до нижчого ступеня окиснення (менш токсичних) або завдяки зв'язуванню металів за участі специфічних та неспецифічних сполук, які є продуктами метаболізму мікроорганізмів [18]. Специфічні сполуки включають металотіонеїни, а неспецифічні сполуки включають низькомолекулярні органічні кислоти, спирти та високомолекулярні поліцукриди [17]. Розподіл акумульованих важких металів залежить від виду мікроорганізму та самого металу. Йони купруму, цинку, нікелю, кобальту, мангануму частіше транспортуються у клітину. Гидраргірум, кадмій, аргентум, уран сорбуються в основному бактеріями та грибами на поверхні клітин, лише частково проникаючи усередину [17].

Одним із важких металів, який не має ніякої біологічної цінності і досить токсичний для мікроорганізмів навіть у дуже малих концентраціях, є кадмій. Кадмій, а також плумбум згубно впливають на мікроорганізми: пошкоджують клітинні мембрани і руйнують або змінюють структуру ДНК, внаслідок витіснення металів з їх нативних місць зв'язування або взаємодії лігандів, що викликає функціональні порушення [14]. Отримані результати показали високу чутливість актинобактерій, виділених із Одеської затоки, до кадмію. Досліджені штами втрачали життєздатність за дії Cd^{2+} у діапазоні концентрацій 0,001 моль/л – 0,01 моль/л (рис. 4 А, Б).

У публікаціях деяких інших дослідників також відмічається висока чутливість бактерій цієї групи до кадмію [12, 14]. Однак, є публікації, в яких наведено дані, що актинобактерії є стійкішими до Cd^{2+} у порівнянні з іншими групами мікроорганізмів [16, 22]. Зокрема, у роботі Chotinan Junpradit et al. [16] показано, що штами *Streptomyces rapamycinicus* K5PN1 і *Streptomyces suaneus* 11-10SHT, виділені із коріння рослин у торф'яно-болотних лісах, стійкі до кадмію і продукують у великих кількостях індол-3-оцтову кислоту і сидерофори, відповідно, що, можливо зумовлює стійкість.

Щодо цинку, то це важливий перехідний метал, який є незамінним у каталітичній і структурній функції білків, відіграє важливу окисно-відновлювальну та регуляторну роль. Бактерії включають його до складу 5 – 6% всіх своїх білків, які беруть участь, наприклад, у реплікації ДНК, регуляції рН та гліколізі. Цинк є другим за важливістю йоном металу в живих організмах після феруму [23]. Однак надлишок цинку є токсичним для мікроорганізмів, у тому числі актинобактерій, насамперед тому, що він є висококонкурентним двовалентним металом і витісняє слабкіше зв'язані перехідні метали в активних центрах металоферментів, якщо його не регулювати [19]. У дослідженнях Seung-Hwan Choi et al. [10] описано режим цинк-залежної активації генів, який використовує один металорегулятор для контролю генів як для поглинання, так і для експорту в широкому діапазоні концентрацій цинку. Незважаючи на тонку систему регуляції гомеостазу цинку у бактеріях, варто відзначити високу пристосованість деяких штамів стрептоміцетів до високого навантаження металом, як, наприклад, у випадку *Streptomyces* sp. K11, який був стійким і спроможним біоакмулювати значні концентрації йонів Zn^{2+} [19].



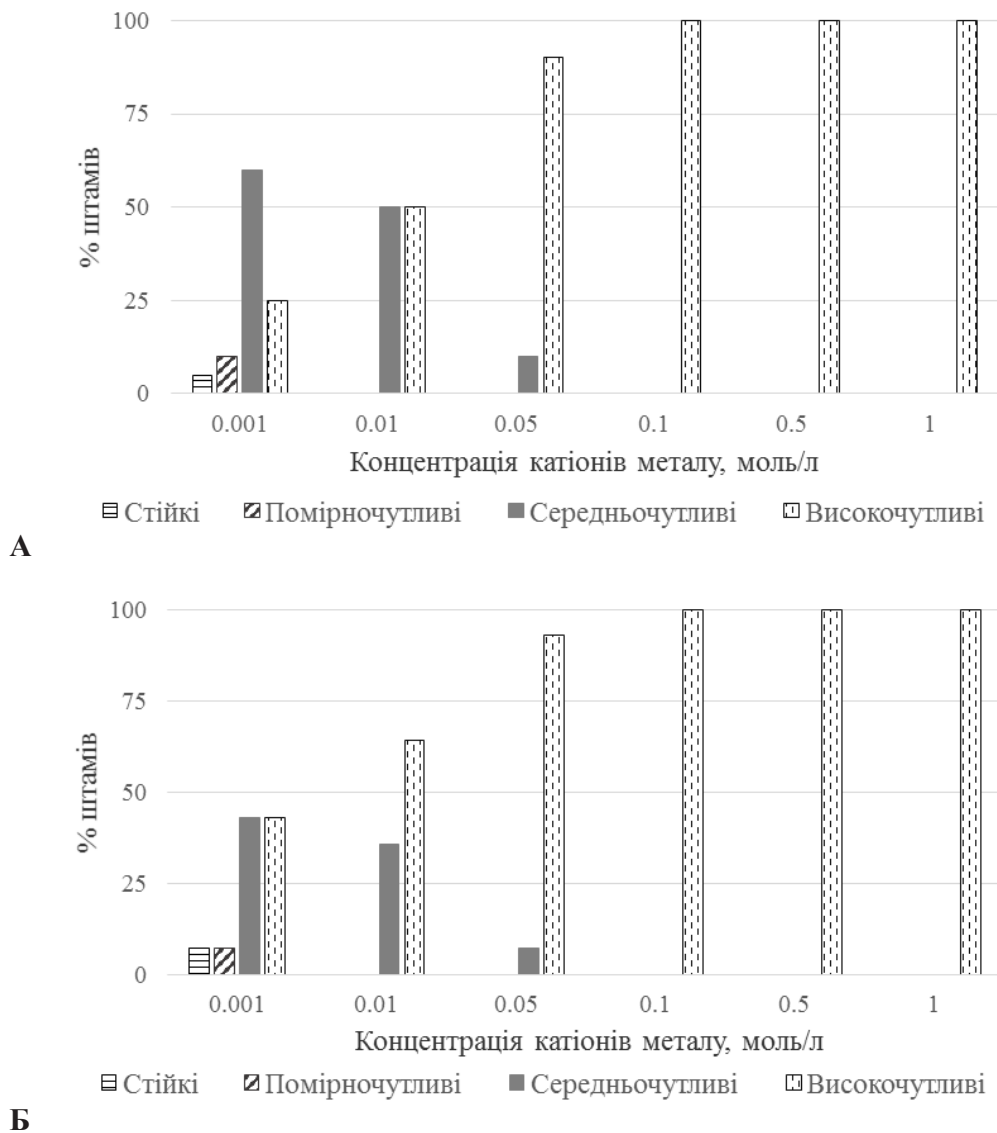


Рис. 4. Чутливість штамів актинобактерій до різних концентрацій Cd²⁺ (через 10 діб)
Примітка: А – виділених із черепашнику; Б – виділених із мідій

Fig. 4. Sensitivity of actinobacteria strains to different concentrations of Cd²⁺ (after 10 days)

Note: A – isolated from shell rock; B – isolated from mussels

У проведених дослідженнях усі актинобактерії проявили стійкість до катіонів цинку у діапазоні концентрацій 0,001 моль/л – 0,5 моль/л, багато штамів, здебільшого із черепашнику, продемонстрували інтенсивне утворення повітряного міцелію.

Пороговою для досліджених актинобактерій була концентрація 1,0 моль/л катіонів цинку (рис. 5 А, Б).

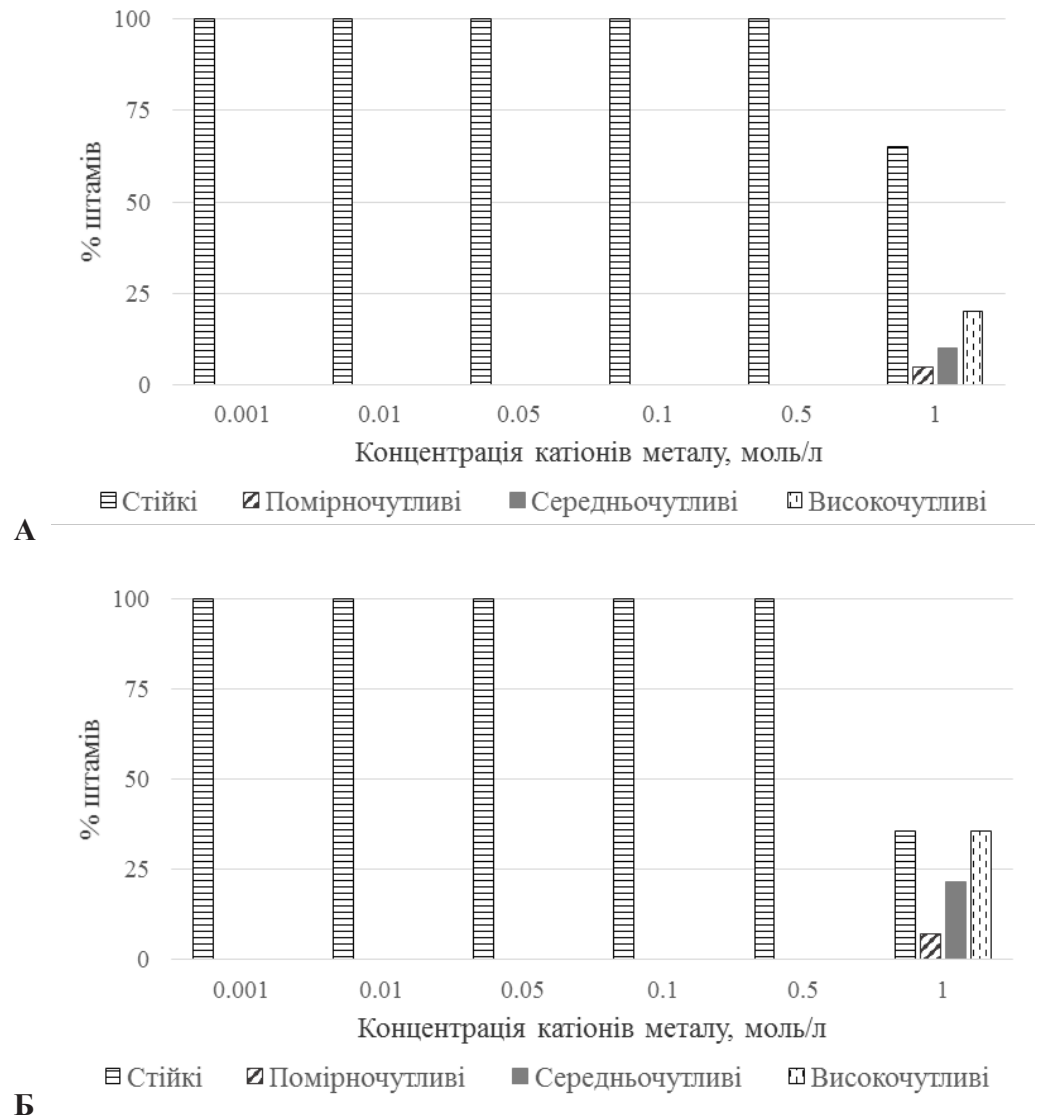


Рис. 5. Чутливість штамів актинобактерій до різних концентрацій Zn^{2+} (через 10 діб)
Примітка: А – виділених із черепашнику; Б – виділених із мідій

Fig. 5. Sensitivity of actinobacteria strains to different concentrations of Zn^{2+} (after 10 days)

Note: A – isolated from shell rock; B – isolated from mussels

До цинку у такій концентрації виявилися високочутливими 20,0% актинобактерій із черепашнику і 35,7% – із мідій. Однак більшість штамів (65,0%) із черепашнику інтенсивно росли і при такій концентрації цього металу.

Відзначимо, що у деяких штамів цинк також стимулював пігментоутворення. Так, інтенсивний синтез водорозчинних пігментів за дії Zn^{2+} в усіх концентраціях відмічено для актинобактерій *Streptomyces* sp. Lum 6.1 (виділено із обростань черепашнику) і *Streptomyces* spp. Myt 4, Myt 6, Myt 7ch,



Myt 8 і Myt 10 (штами із мідій). При цьому різноманітною була кольорова гама синтезованих пігментів. *Streptomyces* sp. Lym 6.1 і *Streptomyces* sp. Myt 7ch продукували темно-сірий пігмент, *Streptomyces* sp. Myt 4 – яскраво-зелений, а *Streptomyces* sp. Myt 6 – темно-зелений; інтенсивну лимонно-жовту пігментацію спостерігали при рості *Streptomyces* sp. Myt 10, коричнево-оранжеву – *Streptomyces* sp. Myt 8. Окрім згадуваних штамів, стимуляція утворення пігменту чорного кольору відзначена у штамів *Streptomyces* spp. Lym 3.1, Lym 3.2 і Lym 3.3 за дії катіонів нікелю у концентраціях 0,001 моль/л – 0,05 моль/л. Про вплив важких металів на продукцію пігментів зазначено у публікації Poornam Sharma et al. [21], у якій показано, що Co^{2+} , Cu^{2+} і Pb^{2+} у концентраціях 0,1 мМ підвищують синтез меланіну, у той же час як Mn^{2+} має зворотній ефект. В інших дослідженнях наводяться дані щодо пригнічення пігментоутворення стрептоміцетами за дії Cd^{2+} , Co^{2+} і Cu^{2+} в концентраціях нижчих за МІК [15].

У загальному вигляді, аналізуючи отримані результати з урахуванням проміжних і остаточних даних, рівнів чутливості, розмірів зон відсутності росту, у порядку зменшення токсичної дії на виділені із обростань черепашнику штами актинобактерій використані катіони важких металів можна розташувати у ряд: $\text{Cd}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$. Для актинобактерій із мідій цей ряд має такий порядок: $\text{Cd}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$.

Дія металу може виявлятися по-різному. В окремих випадках відбувається тривала затримка росту, після якої швидкість росту і кінцева біомаса досягають величин як за відсутності металу. В інших тривалість lag-фази не збільшується, проте швидкість росту та кількість біомаси нижчі, ніж у контролі. Встановлено, що в деяких випадках низькі концентрації металу стимулюють ріст та активність метаболічних процесів, а у більш високих концентраціях стають токсичними [9, 13]. Тому важливим у практичному відношенні є питання про можливі критичні концентрації важких металів, що має вирішуватися для кожного виду мікроорганізму та металу окремо.

Визначення рядів чутливості досліджених актинобактерій підтвердило таке ранжування катіонів важких металів за токсичністю їх дії і дозволило встановити МІК для кожного штаму (табл. 1, 2).

Так, МІК Cd^{2+} для усіх виділених штамів (за виключенням *Streptomyces* sp. Lym 9.2 і *Streptomyces* sp. Myt 5) становила 0,001 моль/л. Така чутливість до кадмію, на нашу думку, є підтвердження його високої токсичності і свідченням відсутності у досліджених штамів актинобактерій механізмів стійкості до цього важкого металу. З урахуванням отриманих даних, актинобактерії, як одні із членів морського мікробіому, можна розглядати як біоіндикатори забруднення морської екосистеми кадмієм, оскільки вони набагато чутливіші до стресу, ніж макроорганізми і досить швидко реагують на відповідні зміни [24].

Мінімальна інгібуюча концентрація Cu^{2+} для актинобактерій із черепашнику склала 0,001 моль/л – 0,05 моль/л, а для актинобактерій із мідій – 0,001 моль/л – 0,01 моль/л в залежності від штаму. Найвища стійкість до купруму (МІК 0,05 моль/л) встановлена для *Streptomyces* sp. Lym 5.1 і *Streptomyces* sp. Lym 10. При поясненні високих рівнів МІК купруму щодо стрептоміцетів наводиться припущення, що на ранньому етапі впливу купрум



Таблиця 1
Мінімальні інгібуючі концентрації металів (моль/л) для штамів актинобактерій,
виділених із обростань черепашнику

Table 1
Minimum inhibitory concentrations of metals (mol/l) for actinobacteria strains
isolated from shell rock

Штам	Cd ²⁺	Cu ²⁺	Co ²⁺	Ni ²⁺	Zn ²⁺
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 2.1	0,001	0,001	0,001	0,001	>1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 2.2	0,001	0,001	0,001	0,010	>1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 3.1	0,001	0,010	0,500	0,010	>1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 3.2	0,001	0,010	0,100	0,100	>1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 3.3	0,001	0,001	0,001	0,010	>1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 3.4	0,001	0,001	0,050	0,050	>1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 4	0,001	0,001	0,001	0,100	>1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 5.1	0,001	0,050	0,050	0,500	1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 5.2	0,001	0,010	0,010	0,050	1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 6.1	0,001	0,001	0,050	0,050	>1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 6.2	0,001	0,010	0,010	0,050	1,0
<i>Nocardiosis</i> sp. Lym 7.1	0,001	0,010	0,001	0,001	1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 7.2	0,001	0,001	0,001	0,001	1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 9.1	0,001	0,001	0,001	0,001	>1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 9.2	0,010	0,010	0,001	0,001	1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 10	0,001	0,050	0,001	0,100	>1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 12.1	0,001	0,001	0,100	0,001	>1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 12.2	0,001	0,001	0,050	0,500	>1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym 12.3	0,001	0,001	0,001	0,001	>1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Lym Sb	0,001	0,010	0,001	0,100	1,0



Таблиця 2

Мінімальні інгібуючі концентрації металів (моль/л) для штамів актинобактерій, виділених із мідій

Table 2

Minimum inhibitory concentrations of metals (mol/l) for strains of actinobacteria isolated from mussels

Штам	Cd ²⁺	Cu ²⁺	Co ²⁺	Ni ²⁺	Zn ²⁺
<i>Streptomyces</i> sp. Myt 1	0,001	0,001	0,001	0,050	1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Myt 2	0,001	0,010	0,010	0,100	>1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Myt 3a	0,001	0,001	0,010	0,010	>1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Myt 3b	0,001	0,001	0,001	0,050	1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Myt 4	0,001	0,001	0,001	0,001	1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Myt 5	0,010	0,001	0,001	0,001	1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Myt 6	0,001	0,001	0,001	0,001	1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Myt 7ch	0,001	0,001	0,100	0,001	0,5
<i>Streptomyces</i> sp. Myt 7b	0,001	0,001	0,050	0,001	>1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Myt 8	0,001	0,010	0,010	0,001	1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Myt 10	0,001	0,001	0,001	0,001	>1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Myt 11	0,001	0,001	0,001	0,001	1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Myt 12a	0,001	0,001	0,050	0,050	1,0
<i>Streptomyces</i> sp. Myt 12b	0,001	0,001	0,050	0,050	>1,0

проникає в клітину для забезпечення фізіологічних потреб мікроорганізму, але незабаром після того, як метал досяг токсичних рівнів, індукується механізм еффлюксу. Така поведінка відзначається в інших стійких до купруму мікроорганізмів, таких як *Pseudomonas syringae*, *Escherichia coli* і *Enterococcus hirae* [8].

Мінімально інгібуючі концентрації Co²⁺ і Ni²⁺ для штамів актинобактерій, виділених із обростань черепашнику, визначені у межах 0,001 моль/л – 0,5 моль/л, для штамів із мідій – 0,001 моль/л – 0,1 моль/л. Як до купруму, так і до кобальту, і до нікелю більше стійкіших штамів серед актинобактерій із черепашнику. Максимальну стійкість до катіонів кобальту і катіонів нікелю проявили штами *Streptomyces* sp. Lym 3.1 і *Streptomyces* sp. Lym 12.2, відповідно.



Для більшості штамів, виділених із обростань черепашнику, значення МІК Zn^{2+} перевищило 1,0 моль/л. Актинобактерії з мідій були дещо чутливіші і для них МІК цинку визначена у межах 0,5 моль/л – <1,0 моль/л у залежності від штаму. Висока стійкість до цинку може розглядатися як перспективна характеристика виділених штамів актинобактерій у розробці біотехнологій вилучення або зменшення концентрації цього важкого металу у довкіллі.

Таким чином, проведені дослідження щодо визначення чутливості актинобактерій, виділених із обростань природного черепашнику і мідій Одеської затоки Чорного моря, до п'яти важких металів показали, що цей показник залежить від джерела виділення, штаму актинобактерій, типу металу, його концентрації. Загалом актинобактерії, виділені з мідій, є чутливішими до Cd^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} ніж актинобактерії з черепашнику. Усі досліджені штами виявилися високочутливими до Cd^{2+} (МІК Cd^{2+} майже для усіх штамів склала 0,001 моль/л) і стійкі до Zn^{2+} у концентраційному діапазоні 0,001 моль/л – 0,5 моль/л.

I.V. Strashnova, K.S. Potapenko, N.Yu. Vasylieva,
N.V. Korotaeva, I.P. Metelitsyna

Odesa I.I. Mechnikov National University, 2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: fabiyanska@ukr.net

SENSITIVITY TO HEAVY METALS OF ACTINOBACTERIA ISOLATED FROM THE BIOLOGICAL FOULING OF SHELL ROCK AND MUSSELS OF THE ODESA GULF OF THE BLACK SEA

Summary

*Environmental pollution with heavy metals/metalloids is one of the most important environmental problems, which leads to the development of bioremediation strategies and the search for biomarkers to assess its condition. **Aim.** To determine the sensitivity to heavy metals of actinobacteria isolated from the biological fouling of natural shell rock and mussels of the Odesa gulf of the Black Sea. **Methods.** Thirty-four strains of actinobacteria isolated from fouling of shell rock and mussels of the Odesa gulf were used in the investigation. The sensitivity of the studied bacteria to heavy metal cations was determined on starch-casein agar by the disk diffusion method. Discs impregnated with salts solutions of Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} in concentrations of 0.001 mol/l, 0.01 mol/l, 0.05 mol/l, 0.1 mol/l, 0.5 mol/l and 1.0 mol/l were used. **Results.** The investigated actinobacteria showed variable sensitivity to heavy metals, which depended on the source of isolation, strain, type of metal and its concentration. All tested bacteria were most sensitive to Cd^{2+} (MIC was 0.001 mol/l), the most resistant to Zn^{2+} (MIC was higher than 1.0 mol/l for the vast majority of bacteria). At concentrations lower than the MIC, zinc stimulated the formation of aerial mycelium of almost all strains, and pigment formation increased in some of them. The sensitivity to heavy metals of actinobacteria isolated from shellfish decreased in the following sequence: $Cd^{2+} > Cu^{2+} > Co^{2+} > Ni^{2+} > Zn^{2+}$, and in actinobacteria isolated from mussels – $Cd^{2+} > Cu^{2+} > Ni^{2+} > Co^{2+} > Zn^{2+}$. **Conclusions.** Actinobacteria isolated from mussels are more sensitive to cadmium,*



cuprum, cobalt, nickel and zinc, compared with actinobacteria from shell rock. All studied strains were highly sensitive to Cd²⁺ (MIC Cd²⁺ for almost all strains was 0.001 mol/l) and resistant to Zn²⁺ in the concentration range of 0.001 mol/l – 0.5 mol/l.

Key words: marine actinobacteria, sensitivity, heavy metals

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Блайда І.А., Васильєва Т.В., Слюсаренко Л.І., Васильєва Н.Ю. Стійкість до важких металів ацидофільних хемолітотрофних бактерій, що виділені з техногенної сировини // Мікробіологія і біотехнологія. – 2019. – № 1 (45). – С. 24–35. [рос.]. doi: [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2019.1\(45\).159902](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2019.1(45).159902)
2. Васильєва Н.Ю., Слюсаренко Л.І., Васильєва Т.В. Акумуляція Cu(II) морськими нейтрофільними тіоновими бактеріями // Мікробіологія і біотехнологія. – 2019. – № 1 (45). – С. 56–68. doi: [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2019.1\(45\).164171](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2019.1(45).164171)
3. Васильєва Н.Ю., Страшнова І.В., Васильєв М.А., Метеліцина І.П. Стійкість бактерій роду *Lactobacillus*, ізольованих з чорноморських губок, до антибіотиків і важких металів // Мікробіологія і біотехнологія. – 2019. – № 3 (47). – С. 58–77. doi: [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2019.3\(47\).186592](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2019.3(47).186592)
4. Іутинська Г.О., Петруша З.В., Васильєва Т.В., Сопліна О.М. Токсичність і мутагенність важких металів – забруднювачів ґрунту // Современные проблемы токсикологии. – 2000. – № 2. – С. 53–56.
5. Коротаєва Н.В., Страшнова І.В., Васильєва Н.Ю., Потапенко К.С., Метеліцина І.П., Філіпова Т.О., Іваниця В.О. Характеристика актинобактерій, ізольованих із *Mytilus galloprovincialis* Одеської затоки Чорного моря // Мікробіологія і біотехнологія. – 2021. – № 3 (53). – С. 84–98. doi: [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2021.3\(53\).246392](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2021.3(53).246392)
6. Кушкевич І., Гнатуш С., Гудзь С. Вплив важких металів на клітини мікроорганізмів // Вісник Львів. ун-ту. Серія біологічна. – 2007. – Вип. 45. – С. 3–28.
7. Страшнова І.В., Коротаєва Н.В., Потапенко К.С., Васильєва Н.Ю., Чабан М.М., Штеніков М.Д., Лісютін Г.В., Іваниця В.О. Актинобактерії обростання твердих субстратів Одеської затоки Чорного моря // Морський екологічний журнал. – 2021. – № 2. – С. 71–82. doi: <https://doi.org/10.47143/1684-1557/2021.2.07>
8. Albarracín V.H., Ávila A.L., Amoroso M.J., Abate C.M. Copper removal ability by *Streptomyces* strains with dissimilar growth patterns and endowed with cupric reductase activity // FEMS Microbiology Letters. – 2008. – Vol. 288 (2). – P. 141–148. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01335.x>
9. Alvarez A., Saez J.M., Costa J.S.D., Colin V.L., Fuentes M.S., Cuzzo S.A. *Actinobacteria*: Current research and perspectives for bioremediation of pesticides and heavy metals // Chemosphere. – 2017. – Vol. 166. – P. 41–62. doi: [10.1016/j.chemosphere.2016.09.070](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.070)



10. Choi S-H., Lee K-L., Shin J-H., Cho Y-B., Cha S-S., Roe J-H. Zinc-dependent regulation of zinc import and export genes by Zur // Nature Communications. – 2017. – Vol. 8. – P. 1–11. doi: 10.1038/ncomms15812
11. Cimermanova M., Pristas P., Piknova M. Biodiversity of *Actinomycetes* from heavy metal contaminated technosols // Microorganisms. – 2021. – Vol. 9 (8). – P. 1–12. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081635>
12. El Baz S., Baz M., Barakate M., Hassani L., El Gharmali A., Imziln B. Resistance to and accumulation of heavy metals by *Actinobacteria* isolated from abandoned mining areas // The Scientific World Journal. – 2015. – Vol. 2015. – P. 1–15. <https://doi.org/10.1155/2015/761834>
13. El Baz S. Bioremediation of heavy metal by actinobacteria: review // Am. J. innov. res. appl. sci. – 2017. – Vol. 5 (5). – P. 359–369. www.american-jiras.com
14. Igiri B.I., Okoduwa S.I.R., Idoko G.O., Akabuogu E.P., Adeyi A.O., Ejiogu I.K. Toxicity and bioremediation of heavy metals contaminated ecosystem from tannery wastewater: a review // Journal of Toxicology. – 2018. – Vol. 2018. – P. 1–17. <https://doi.org/10.1155/2018/2568038>
15. Jastaniah S.D., Aburas M.M.A. Effects of some heavy metals on growth, protein content and pigment production by *Streptomyces coelicolor* SM1 // Biosci. Biotech. Res. Asia. – 2016. – Vol. 13 (4). – P. 1975–1981. doi: <http://dx.doi.org/10.13005/bbra/2352>
16. Junpradit C., Thooppeng P., Duangmal K., Prapagdee B. Influence of cadmium-resistant *Streptomyces* on plant growth and cadmium uptake by *Chlorophytum comosum* (Thunb.) Jacques // Environ. Sci. Pollut. Res. – 2021. – Vol. 28. – P. 39398–39408. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13527-z>
17. Karczewska A., Lewińska K. The response of the soil microbiome to contamination with cadmium, cobalt and nickel in soil sown with *Brassica napus* // Minerals. – 2021. – Vol. 11 (5). – P. 1–16. <https://doi.org/10.3390/min11050498>
18. Kosiorek M., Wyszowski M. Effect of cobalt on environment and living organisms – a review // Applied ecology and environmental research. – 2019. – Vol. 17 (5). – P. 11419–11449. doi: http://dx.doi.org/10.15666/aer/1705_1141911449
19. Presentato A., Piacenza E., Turner J.R., Zannoni D., Cappelletti M. Processing of metals and metalloids by *Actinobacteria*: cell resistance mechanisms and synthesis of metal(loid)-based nanostructures // Microorganisms. – 2020. – Vol. 8 (12). – P. 1–37. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8122027>
20. Remenár M., Karellová E., Harichová J., Zámocký M., Krčová K., Ferienc P. *Actinobacteria* occurrence and their metabolic characteristics in the nickel-contaminated soil sample // Biologia. – 2014. – Vol. 69 (11). – P. 1453–1463. doi: 10.2478/s11756-014-0451-z.
21. Sharma P., Singh T.A., Bharat B., Bhasin S., Modi H.A. Approach towards different fermentative techniques for the production of bioactive actinobacterial melanin // Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences. – 2018. – Vol. 7. – P. 695–700. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2018.08.002>



22. Singh S., Pandey S., Chaudhary H.S. *Actinomycetes*: tolerance against heavy metals and antibiotics // *Int. J. Bioassays*. – 2014. – Vol. 3 (10). – P. 3376–3383. www.ijbio.com
23. Timková I., Sedláková-Kaduková J., Pristaš P. Biosorption and bioaccumulation abilities of *Actinomycetes*/*Streptomyces* isolated from metal contaminated sites // *Separations*. – 2018. – Vol. 5 (54). – P. 1–14. doi:10.3390/separations5040054
24. Yu X., Zhao J.T., Liu X., Sun L.X., Tian J., Wu N. Cadmium pollution impact on the bacterial community structure of arable soil and the isolation of the cadmium resistant bacteria // *Front. Microbiol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.698834>

REFERENCES

1. Blyda IA, Vasylieva TV, Sliusarenko LI, Vasylieva NYu. Resistance of acidophilic chemolytotrophic bacteria isolated from technogenic raw materials to heavy metals. *Microbiology and biotechnology*. 2019; 1(45): 24–35. [in Russian]. doi: [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2019.1\(45\).159902](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2019.1(45).159902)
2. Vasylieva NYu, Sliusarenko LI, Vasylieva TV. Cu(II) accumulation by marine neutrophil sulfur-oxidizing bacteria. *Microbiology and biotechnology*. 2019; 1(45): 56–68. [in Ukrainian]. doi: [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2019.1\(45\).164171](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2019.1(45).164171)
3. Vasylieva NYu, Strashnova IV, Vasyliiev MA, Metelitsyna IP. Resistance of *Lactobacillus* strains isolated from the Black Sea sponges to antibiotics and heavy metals. *Microbiology and biotechnology*. 2019; 3(47): 58–77. [in Ukrainian]. doi: [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2019.3\(47\).186592](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2019.3(47).186592)
4. Iutynska GO, Petruscha ZV, Vasylieva TV, Soplina OM. Toxicity and mutagenicity of heavy metals – soil pollutants. *Sovremennii problemi toksikologii*. 2000; 2: 53–56. [in Ukrainian].
5. Korotaeva NV, Strashnova IV, Vasylieva NYu, Potapenko KS, Metelitsyna IP, Filipova TO, Ivanytsia VO. Characteristics of actinobacteria from *Mytilus galloprovincialis* of Odesa gulf of the Black Sea. *Microbiology and biotechnology*. 2021; 3(53): 84–98. [in Ukrainian]. doi: [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2021.3\(53\).246392](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2021.3(53).246392)
6. Kushkevych I, Hnatush S, Gudzh S. Influence of heavy metals on microorganisms' cells. *Visnyk of Lviv. un-tu. Biology series*. 2007; 45: 3–28. [in Ukrainian].
7. Strashnova IV, Korotaeva NV, Potapenko KS, Vasylieva NYu, Chaban MM, Shtenikov MD, Lisyutin GV, Ivanytsia VO. Actinobacteria of growth of solid substrates of the Odesa gulf of the Black Sea. *Marine ecological journal*. 2021; 2: 71–82. [in Ukrainian]. doi: <https://doi.org/10.47143/1684-1557/2021.2.07>
8. Albarracín VH, Ávila AL, Amoroso MJ, Abate CM. Copper removal ability by *Streptomyces* strains with dissimilar growth patterns and endowed with cupric reductase activity. *FEMS Microbiology Letters*. 2008; 288(2): 141–148. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01335.x>
9. Alvarez A, Saez JM, Costa JSD, Colin VL, Fuentes MS, Cuzzo SA. Actinobacteria: Current research and perspectives for bioremediation of pesticides



- and heavy metals. *Chemosphere*. 2017; 166: 41–62. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.09.070
10. Choi S-H, Lee K-L, Shin J-H, Cho Y-B, Cha S-S, Roe J-H. Zinc-dependent regulation of zinc import and export genes by *Zur*. *Nature Communications*. 2017; 8: 1–11. doi: 10.1038/ncomms15812
 11. Cimermanova M, Pristas P, Piknova M. Biodiversity of Actinomycetes from heavy metal contaminated technosols. *Microorganisms*. 2021; 9 (8): 1 – 12. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081635>
 12. El Baz S, Baz M, Barakate M, Hassani L, El Gharmali A, Imziln B. Resistance to and accumulation of heavy metals by Actinobacteria isolated from abandoned mining areas. *The Scientific World Journal*. 2015; 2015: 1–15. <https://doi.org/10.1155/2015/761834>
 13. El Baz S. Bioremediation of heavy metal by actinobacteria: review. *Am. J. innov. res. appl. sci*. 2017; 5 (5): 359–369. www.american-jiras.com
 14. Igiri BI, Okoduwa SIR, Idoko GO, Akabuogu EP, Adeyi AO, Ejiogu IK. Toxicity and bioremediation of heavy metals contaminated ecosystem from tannery wastewater: a review. *Journal of Toxicology*. 2018; 2018: 1–17. <https://doi.org/10.1155/2018/2568038>
 15. Jastaniah SD, Aburas MMA. Effects of some heavy metals on growth, protein content and pigment production by *Streptomyces coelicolor* SM1. *Biosci. Biotech. Res. Asia*. 2016; 13 (4): 1975–1981. doi: <http://dx.doi.org/10.13005/bbra/2352>
 16. Junpradit C, Thooppeng P, Duangmal K, Prapagdee B. Influence of cadmium-resistant Streptomyces on plant growth and cadmium uptake by *Chlorophytum comosum* (Thunb.) Jacques. *Environ. Sci. Pollut. Res*. 2021; 28: 39398–39408. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13527-z>
 17. Karczewska A, Lewińska K. The response of the soil microbiome to contamination with cadmium, cobalt and nickel in soil sown with *Brassica napus*. *Minerals*. 2021; 11 (5): 1–16. <https://doi.org/10.3390/min11050498>
 18. Kosiorek M, Wyszowski M. Effect of cobalt on environment and living organisms - a review. *Applied ecology and environmental research*. 2019; 17 (5): 11419–11449. doi: http://dx.doi.org/10.15666/aer/1705_1141911449
 19. Presentato A, Piacenza E, Turner JR, Zannoni D, Cappelletti M. Processing of metals and metalloids by Actinobacteria: cell resistance mechanisms and synthesis of metal(loid)-based nanostructures. *Microorganisms*. 2020; 8 (12): 1–37. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8122027>
 20. Remenár M, Karelová E, Harichová J, Zámocký M, Krčová K, Ferianc P. Actinobacteria occurrence and their metabolic characteristics in the nickel-contaminated soil sample. *Biologia*. 2014; 69 (11): 1453–1463. doi: 10.2478/s11756-014-0451-z.
 21. Sharma P, Singh TA, Bharat B, Bhasin S, Modi HA. Approach towards different fermentative techniques for the production of bioactive actinobacterial melanin. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 2018; 7: 695–700. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2018.08.002>
 22. Singh S, Pandey S, Chaudhary HS. Actinomycetes: tolerance against heavy metals and antibiotics. *Int. J. Bioassays*. 2014; 3 (10): 3376–3383. www.ijbio.com



23. Timková I, Sedláková-Kaduková J, Pristaš P. Biosorption and bioaccumulation abilities of Actinomycetes/Streptomyces isolated from metal contaminated sites. *Separations*. 2018; 5 (54): 1–14. doi:10.3390/separations5040054
24. Yu X, Zhao JT, Liu X, Sun LX, Tian J, Wu N. Cadmium pollution impact on the bacterial community structure of arable soil and the isolation of the cadmium resistant bacteria. *Front. Microbiol.* 2021; 12: P. 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.698834>

Стаття надійшла до редакції 15.07.2022 р.

