

УДК: 579.68:546.48+49+81

В.О. Іваниця, А.Є. Бухтіяров

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, тел.: 8 (0482) 68 79 64,
e-mail: v_ivanit@te.net.ua

СТІЙКІСТЬ БАКТЕРІОПЛАНКТОНУ ОДЕСЬКОГО ПРИБЕРЕЖЖЯ ДО СВИНЦЮ, КАДМІЮ ТА РТУТІ

*Встановлено, що вміст Pb і Cd у воді Одеського прибережжя перевищує мінімальну мутагенну концентрацію. З використанням тест-штаму *Salmonella typhimurium* TA 98 показано, що проби морської води мають мутагенну активність, яка корелює із присутністю у дослідженій акваторії Pb, Cd. Виявлено наявність в морських біоценозах мікроорганізмів, стійких до концентрацій металів, що у багато разів перевищують їхній вміст у морській воді. Визначено рівень стійкості представників бактеріопланктону Одеського прибережжя до вивчених важких металів. Встановлено, що в усі сезони найбільш стійкими до Pb, Cd, Hg є бактерії з районів з більшим рівнем антропогенного забруднення.*

К л ю ч о в і с л о в а: Одеське прибережжя, Pb, Cd, Hg, резистентність, бактеріопланктон.

Хімічне забруднення водою, у тому числі сполуками, що мають мутагенну і генотоксичну дію, спричиняє збільшення частоти й накопичення індукованих мутацій, що призводить до техногенної мікроеволюції, зміни чисельності мікроорганізмів, структури мікробних ценозів та еколого-фізіологічних властивостей мікроорганізмів [1, 4].

Екологічні й епідеміологічні наслідки таких змін ще не визначені, але можна припустити, що генетичні перебудови сприяють адаптації мікроорганізмів до хімічних токсикантів.

У зв'язку з цим очевидна актуальність вивчення резистентності до важких металів у морських бактерій, ізольованих з районів з різним рівнем антропогенного навантаження з метою оцінки екологічної ситуації й оцінки можливих генетичних змін.

Метою даної роботи було вивчення гетеротрофного бактеріопланктону Одеського прибережжя і резистентності його до свинцю, кадмію, ртуті.

Матеріали і методи

Проби морської води відбирали на трьох станціях у районі Нафтової гавані Одеського порту, пляжів Дельфін і Дача Ковалевського, що відрізнялися екологічними умовами, з поверхневого шару води (0 – 50 см). Чисельність гетеротрофних бактерій визначали методом прямого посіву на модифіковане щільне живильне середовище [2] з діапазоном концентрацій солей важких металів (0,1; 0,5; 1; 1,5 ммоль/л Pb (NO₃)₂, 0,05; 0,1; 0,5; 1 ммоль/л CdCl₂, 0,005; 0,01; 0,05; 0,1 ммоль/л HgCl₂) [3, 4].

© В. О. Іваниця, А.Є. Бухтіяров, 2008



Вміст Pb, Cd у пробах визначали методами атомної спектрофотометрії в полум'ї ацетилено-повітряної газової суміші, а Hg — методом холодних парів [5]. Культивування бактерій проводили при температурі 22 °С. Облік кількості колоній, що виросли, здійснювали через 2 доби.

Ступінь резистентності бактерій до важких металів визначали методом стандартних серійних розведень у щільному живильному середовищі [6].

Для оцінки мутагенної активності проб морської води застосовували тест Еймса [7] з використанням тест-штаму бактерій *Salmonella typhimurium* TA 98.

Статистичну обробку отриманих даних виконали, базуючись на загальноприйнятих методах [8], використовуючи пакети програм “STATGRAPHICS PLUS 3.0”, “Microsoft Excel 97” [9].

Результати та їх обговорення

Проведені дослідження показали, що окремо взяті токсичні метали — свинець, кадмій і ртуть — виявили мутагенну дію на тест-штам бактерій *S. typhimurium* TA 98. Найбільший мутагенний ефект встановлено для кадмію й свинцю в концентраціях, відповідно, 0,4 і 0,5 ммоль/л і більше (табл. 1)

Таблиця 1

Мінімальні концентрації свинцю, кадмію й ртуті, що спричиняють мутагенну дію на бактерії штаму *Salmonella typhimurium* TA 98

Table 1

Minimal concentrations of lead, cadmium and mercury cause mutagenic effect on bacteria of *Salmonella typhimurium* TA 98 strain

Метал	ГДК у воді (мг/л)	ГДК у воді (нмоль/л)	ММК (нмоль/л)
Pb	150,0	0,5	312,5
Cd	8,9	0,4	19,8
Hg	2,5	2,5	1,0

П р и м і т к а:

ГДК — гранично допустима концентрація;

ММК — мінімальна мутагенна концентрація.

Як свідчать результати, представлені у таблиці 2, у пробах морської води містяться важкі метали (свинець і кадмій) у концентраціях, які можуть індукувати мутації у тест-бактерій з досить високою частотою. Виявлений в пробах морської води вміст кадмію перевищував ММК в 4,0 — 6,2 рази, а свинцю в 14,2 — 32,3 рази. Проведений аналіз не виявив у воді досліджуваних станцій наявність ртуті у кількості, яка може спричинити мутагенну дію.

Проби води, відібрані на станції Нафтова гавань, виявили токсичну дію, про що свідчить зниження числа життєздатних клітин *S. typhimurium* TA 98 на 16,8 — 30,4 % відносно контролю.



Таблиця 2

Вміст важких металів ($X_{cp} \pm s_x$ нмоль/л) у воді досліджуваних станцій

Table 2

Heavy metals content in the water of the investigated stations

Метал	Сезон	Нафтова гавань	Дача Ковалевського	Пляж Дельфін
Pb	літо	14,5 ± 0,15	13,5 ± 0,09	12,6 ± 0,12
	осінь	13,5 ± 0,09	15,0 ± 0,15	14,0 ± 0,12
	зима	8,7 ± 0,12	7,7 ± 0,09	6,8 ± 0,09
	весна	15,5 ± 0,09	13,5 ± 0,09	13,0 ± 0,3
Cd	літо	2,6 ± 0,06	2,8 ± 0,03	2,2 ± 0,09
	осінь	2,8 ± 0,09	2,5 ± 0,12	2,1 ± 0,09
	зима	2,1 ± 0,09	2,0 ± 0,14	1,8 ± 0,03
	весна	2,2 ± 0,06	2,4 ± 0,03	2,0 ± 0,09

Проведені дослідження показали, що проби морської води здійснювали мутагенну дію на тест-бактерії, викликаючи мутації, які реєструвалися за типом зміщення рамки зчитування, середні значення яких коливались і перевищували рівень спонтанних мутацій у 1,2 – 7,2 рази (табл. 3).

Таблиця 3

Мутагенна дія забруднення морської води на *Salmonella typhimurium* TA 98

Table 3

Mutagenic influence of sea water contamination pollution upon *Salmonella typhimurium* TA 98

Сезон	Нафтова гавань		Дача Ковалевського		Пляж Дельфін		Контроль	
	КМ ¹	МА ²	КМ	МА	КМ	МА	КМ	МА
Літо	1,9 · 10 ⁻⁴	6,8	1,3 · 10 ⁻⁴	4,6	3,6 · 10 ⁻⁵	1,3	2,8 · 10 ⁻⁵	1,0
Осінь	2,0 · 10 ⁻⁴	7,2	1,4 · 10 ⁻⁴	4,7	3,7 · 10 ⁻⁵	1,4	2,7 · 10 ⁻⁵	1,0
Зима	1,8 · 10 ⁻⁴	6,1	1,3 · 10 ⁻⁴	4,6	3,9 · 10 ⁻⁵	1,3	3,0 · 10 ⁻⁵	1,0
Весна	2,0 · 10 ⁻⁴	6,9	1,3 · 10 ⁻⁴	4,6	3,4 · 10 ⁻⁵	1,2	2,9 · 10 ⁻⁵	1,0

П р и м і т к а:

1. Концентрація мутацій (%);
2. Мутагенна активність (%).

Хімічне забруднення в Нафтовій гавані індукувало утворення мутацій у тест-штама *Salmonella typhimurium*, рівень яких перевищував фоновий у 6,1 – 7,2 рази.

Для вивчених акваторій установлена наявність тісних кореляційних зв'язків між мутагенною активністю і присутністю у воді Нафтової гавані й Дачі Ковалевського кадмію ($r = 0,99; 0,96$, відповідно) і свинцю ($r = 0,85; 0,89$, відповідно).

Вміст бактеріопланктону на всіх станціях був найбільшим у літній період і зменшувався в ряду літо, осінь, весна, зима. Протягом усіх сезонів найменший



Таблиця 4

Доля бактерій (%), резистентних до різних концентрацій свинцю, кадмію й ртуті (ммоль/л)

Table 4.

Bacteria quata (%) resistant to different concentrations of lead, cadmium, mercury (mmol/l)

Концентрація металу, ммоль/л	Нафтова гавань			Дача Ковалевського			Пляж Дельфін			
	літо	осінь	зима	літо	осінь	зима	літо	осінь	зима	весна
0,000	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0,100 Pb	96,0	92,9	91,8	85,4	86,6	76,5	81,5	51,7	50,5	37,5
0,500 Pb	42,7	38,9	38,8	34,4	35,1	23,5	31,5	15,5	13,6	0
1,000 Pb	22,2	16,0	16,3	2,7	3,7	0	1,9	0	0	0
1,500 Pb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,050 Cd	96,4	96,3	85,7	85,4	83,6	82,4	74,1	45,4	40,8	40,3
0,100 Cd	51,3	50,3	44,9	49,1	45,5	35,3	40,7	25,5	22,3	25,0
0,500 Cd	10,6	9,0	8,2	12,7	8,2	11,8	7,4	0,7	0,6	0
1,000 Cd	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,005 Hg	99,5	98,5	91,8	69,1	67,2	70,6	64,8	62,0	56,3	58,3
0,010 Hg	91,4	89,8	79,6	10,8	7,5	5,9	9,3	0,4	1,0	0
0,050 Hg	65,1	63,0	49,0	2,4	2,2	0	1,9	0	0	0
0,100 Hg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

вміст бактерій установлений на станції пляж Дельфін (від 120 до 2710 КУО/мл), а найбільший — на станції Нафтова гавань (від 490 до 9540 КУО/мл), що, очевидно, пов'язано з наявністю у воді порту високих концентрацій органічних сполук. На станції Дача Ковалевського кількість гетеротрофних бактерій коливалася від 170 до 3690 КУО/мл.

Показано, що в усі сезони року в досліджуваних біоценозах існують мікроорганізми, стійкі до концентрацій токсичних металів, які в багато разів перевищують значення рівнів токсикантів, що містяться у морській воді. Це може бути пов'язане з наявністю природних генетично детермінованих механізмів резистентності бактерій до важких металів.

Значення мінімальних інгібувальних концентрацій (МІК) усіх досліджених токсикантів зменшуються в ряду станцій Нафтова гавань, Дача Ковалевського, пляж Дельфін. МІК свинцю влітку, восени й навесні для представників гетеротрофного бактеріального населення станції Дельфін й взимку Дачі Ковалевського склали 1,0 ммоль/л, взимку для станції Дельфін — 0,5 ммоль/л. В інші сезони МІК свинцю для бактеріопланктону всіх досліджених станцій дорівнювалася 1,5 ммоль/л (табл. 4).

МІК кадмію для гетеротрофних бактерій досліджених станцій влітку, восени й навесні складала 1 ммоль/л, взимку для бактерій станції пляж Дельфін — 0,5 ммоль/л.

Значення МІК ртуті для бактеріопланктону Дачі Ковалевського взимку, Дельфіна влітку, восени й навесні складало 0,05 ммоль/л, взимку для станції Дельфін — 0,01 ммоль/л. В інші сезони МІК ртуті рівнялася 0,1 ммоль/л.

Співвідношення кількості резистентних і чутливих ($N_r : N_s$) бактерій до свинцю, кадмію й ртуті знижується в ряду: Нафтова гавань, Дача Ковалевського й пляж Дельфін. Найбільше значення співвідношення (189,8) відзначено для Нафтової гавані влітку на середовищі із ртуттю в концентрації 0,005 ммоль/л.

Таким чином, рівень резистентності представників гетеротрофного бактеріопланктону вивчених районів до Pb, Cd і Hg за всіма показниками (значенням мінімальної інгібувальної концентрації, частки стійких бактерій і співвідношенню $N_r : N_s$) в усі сезони зменшується в ряду станцій Нафтова гавань, Дача Ковалевського, пляж Дельфін, що цілком узгоджується з рівнем антропогенного забруднення води в цих районах.

Отримані результати дають підставу рекомендувати використання стійкості бактеріопланктону до свинцю, кадмію, ртуті як інтегрального показника відгуку мікробіоти морських біоценозів на антропогенне забруднення морського середовища в комплексному екологічному моніторингу морських екосистем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Израэль Ю. А., Цыбань А. В. Антропогенная экология океана. — Л.: Гидрометеиздат, 1989. — 527 с.
2. Горбенко Ю. А. О наиболее благоприятном количестве “сухого питательного агара” в средах для культивирования морских гетеротрофных микроорганизмов // Микробиология. — 1961. — Т. 30, Вып. 1. — С. 168—172.
3. Авакян З. А. Сравнительная токсичность тяжелых металлов для некоторых микроорганизмов // Микробиология. — 1967. — Т. 36, № 3. — С. 445—450.
4. Іваниця В. О. Стан та мінливість мікробних ценозів морських екосистем: автореф. дис.... докт. біол. наук. — Одеса, 1996. — 48 с.



5. Карякин А. В., Грибовская И. Ф. Методы оптической спектроскопии и люминесценции в анализе природных и сточных вод. — М.: Химия, 1987. — 304 с.
6. Методы общей бактериологии / Под ред. Ф. Герхарда и др. — М.: Мир, 1983. — Т.1. — 576 с.
7. Ames B. N. et al. 1973. An improved bacterial test system for detection and classification of mutagens and cancerogens. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 70, № 3: 782-786.
8. Лакин Г. Ф. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
9. Лапач С. И., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы медико-биологических исследований с использованием Excel. — К.: Морион, 2001. — 408 с.

В. А. Иваница, А. Е. Бухтияров

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова, ул. Дворянская, 2,
Одесса, 65082, Украина, тел.: 8 (0482) 68 79 64, e-mail: v_ivanit@te. net. ua

УСТОЙЧИВОСТЬ БАКТЕРИОПЛАНКТОНА ОДЕССКОГО ПРИБЕРЕЖЬЯ К СВИНЦУ, КАДМІЮ И РТУТИ

Реферат

Установлено, что содержание Pb и Cd в воде Одесского побережья превышает минимальную мутагенную концентрацию. С использованием тест-штамма *Salmonella typhimurium* TA 98 показано, что мутагенная активность проб морской воды коррелирует с присутствием в исследованной акватории Pb, Cd. Выявлено наличие в морских биоценозах микроорганизмов, устойчивых к концентрациям металлов, которые во много раз превышают их содержание в морской воде. Определен уровень резистентности представителей бактериопланктона Одесского побережья к изученным тяжелым металлам. Показано, что во все сезоны наиболее устойчивые к Pb, Cd, Hg были бактерии из районов с большим уровнем антропогенного загрязнения.

К л ю ч е в ы е с л о в а: Одесское побережье, Pb, Cd, Hg, резистентность, бактериопланктон.

V. O. Ivanytsya, A. E. Bukhtiyarov

Odesa National I. I. Mechnykov University, Dvoryanska str., 2, Odesa, 65026,
Ukraine, tel.: 8 (0482) 68 79 64, e-mail: v_ivanit@te. net. ua

BACTERIOPLANKTON RESISTANCE OF THE ODESA COAST TO LEAD, CADMIUM, MERCURY

Summary

It was found that Pb and Cd levels in the Odesa coastal water exceeded their mutagenic concentrations. With use of test- strain of *Salmonella typhimurium* TA 98 it was shown that mutagenic activity of the water samples correlated with presence of Pb and Cd in the investigated area. Microorganisms resistant to toxic metal concentrations which many times exceeded the toxicants levels in the sea water were revealed in the marine biocenoses. The resistance level of heterotrophic bacterioplankton representatives of the Odesa coastal water to the investigated heavy metals was estimated. It was established that bacteria from the areas with higher levels of anthropogenic pollution were the most resistant to Pb, Cd and Hg in all year seasons.

К e y w o r d s: the Odesa coast, Pb, Cd, Hg, resistance, bacterioplankton.

