

України». – № 201015739 ; заявл. 27.12.2010 ; опубл. 25.07.11, Бюл. №14. – 3 с.

Стоян В.С.

студентка,

Навчально-науковий центр «Інститут біології»

Київського національного університету

імені Тараса Шевченка

Смирнова Г.Ф.

кандидат біологічних наук,

старший науковий співробітник,

Інститут мікробіології та вірусології

імені Д.К. Заболотного

ВИДІЛЕННЯ АКТИВНИХ ШТАМІВ БАКТЕРІЙ, ЩО ВІДНОВЛЮЮТЬ ШЕСТИВАЛЕНТНИЙ ХРОМ

Широкомасштабне використання хрому в металургійній промисловості та викликані цим проблеми забруднення довкілля зумовили великий інтерес до знешкодження окислених сполук металу. Завдяки своїй високій токсичності Cr^{6+} визнаний одним з головних забруднювачів довкілля в багатьох країнах [3].

Хром перебуває переважно в двох окислених станах: у вигляді сполук Cr^{6+} – найбільш токсичних та мобільних формах металу, та Cr^{3+} – значно менш розчинний і є необхідним мікроелементом, що впливає на діяльність підшлункової залози і регулює жировий та вуглеводний

обмін. Доведено, що Cr^{6+} у 1000 разів більш токсичний за його тривалентну форму [1, 2].

Найбільш поширеним способом знешкодження сполук шестивалентного хрому є хімічне його відновлення до тривалентного за допомогою хімічних реагентів за низьких значень рН, з подальшим осадженням Cr^{3+} за нейтральним рН. Сучасні дослідження показали, що мікроорганізми здатні також відновлювати шестивалентний хром при нейтральних значеннях рН, і можуть бути використаними в очистці забруднених Cr^{6+} вод.

Таблиця 1

Мікроорганізми, що здатні відновлювати Cr^{6+} до Cr^{3+}

Бактерії	Грам (+)/Грам (-)	Умови відновлення
<i>E. coli</i> ATCC 33456	грам (-)	анаеробні, аеробні
<i>Agrobacterium radiobacter</i> EPS-916	грам (-)	анаеробні, аеробні
<i>Desulfovibrio vulgaris</i>	грам (-)	анаеробні, аеробні
<i>Aeromonas dechromatica</i> KC-II	грам (-)	факультативні анаероби
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	грам (-)	анаеробні
<i>Pantoea agglomerans</i> SP1	грам (-)	анаеробні, використовують як термінальний акцептор електронів
<i>Achromobacter eurydice</i>	грам (-)	-

<i>Pseudomonas putida MK1</i>	грам (-)	анаеробні
<i>P. sp. CRB5</i>	грам (-)	анаеробні, аеробні
<i>P. dechromaticans</i>	грам (-)	анаеробні
<i>P. chromatophila</i>	грам (-)	аеробні, менше анаеробні
<i>P. fluorescens LB300</i>	грам (-)	аеробні, менш анаеробні
<i>P. ambigua G-1</i>	грам (-)	аеробні
<i>P. aeruginosa</i>	грам (-)	анаеробні
<i>P.putida PRS2000</i>	грам (-)	анаеробні, аеробні
<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	грам (-)	аеробні, анаеробні
<i>Enterobacter cloacae HO1</i>	грам (-)	анаеробні
<i>Bacillus subtilis</i>	грам (+)	аеробні
<i>Dienococcus radiodurans R 1</i>	грам (+)	анаеробні, менше аеробні
<i>Desulfotomaculum reducens</i>	грам (+)	анаеробні
<i>Streptomyces (Actinomycete)</i>	грам (+)	анаеробні, аеробні
<i>Micrococcus roseus</i>	грам (+)	анаеробні, аеробні

Як аеробні, так і анаеробні бактерії надзвичайно поширені в природі: ґрунті, воді, живих організмах. Число бактерій у навколишньому середовищі змінюється під впливом різних факторів (інсоляція, обробіток ґрунту тощо).

Метою роботи було виділити активні штами бактерій, що відновлюють шестивалентний хром до трьохвалентного.

Для виділення чистих культур хромат відновлювальних бактерій були відібрані зразки природних вод (заплава р. Дніпро), ґрунту з поля для випасу великої рогатої худоби, з курячого посліду.

Для ізоляції хроматвідновлювальних бактерій відібрані зразки (2 мл води або 2 г зразків мулу та ґрунту) висівали на середовище №1 (г/л): NH_4Cl – 2,0; K_2HPO_4 – 1,0; KH_2PO_4 – 1,0; $MgSO_4$ – 0,1.; МПБ-10%, куди вносили K_2CrO_4 у кількості, що забезпечувала 10 – 30 мг Cr^{6+} /л. Висів проводили в пробірки повністю заповнені живильним середовищем і закритих гумовими пробками. Культивували при 34°C. Здатність до відновлення шестивалентного хрому реєстрували по зникненню жовтого забарвлення, характерного для шестивалентного хрому. Чисту культуру виділяли методом серійних розведень. Хроматвідновлювальну активність встановлювали на рідкому поживному середовищі з хроматами по реакції з дифенілкарбазидом, принцип якого базується на тому, що в кислому середовищі Cr^{6+} утворює з дифенілкарбазидом комплекс яскраво малинового кольору, інтенсивність забарвлення якого пропорційна вмісту іонів хромату. Метод придатний для визначення хроматів в діапазоні концентрацій від 1 до 50 мг/л.

Хід визначення: 1 мл пробі підкислюють 1 мл сірчаної кислоти H_2SO_4 (1:4) та додають 2,5 мл дифенілкарбазиду (0.25 % розчину в етиловому спирті). Колориметрують при довжині хвилі=540 нм, в кюветі $L=1$ см.

За калібрувальним графіком визначають вміст хроматів у пробі. Дані для побудови калібрувального графіка представлені в табл.

Таблиця 2

Дані для побудови калібрувальної графіка

Зразок проби	Концентрація хроматів (C), мг/л	Оптична густина (D), 540 нм
1	6,5	0,05
2	14	0,11
3	12,5	0,085
4	8,5	0,07
5	18	0,14
6	9	0,075
7	12,5	0,095
8	17,5	0,13
9	20	0,15
10	16	0,12

Чисті культури активних редукторів отримували шляхом посіву накопичувальних культур на агаризоване мінеральне поживне середовище. Культури пересівали на косяки із МПА, а потім знову перевіряли ріст отриманих чистих культур і відновлення хроматів на рідкому середовищі. Первинну ідентифікацію найбільш активних культур проводили за загально прийнятими методиками.

Низькі концентрації хрому майже не здійснюють вплив на ріст бактерій. Зі збільшенням концентрації шестивалентного хрому ріст бактерій пригнічується. Отже, чим вища концентрація, тим більший вплив.

Вивчення розповсюдження хроматвідновлювальних бактерій показало, що досліджувані бактерії широко поширені у природі.

Цікаво відмітити, що у посліді свійських птахів і тварин зустрічались культури з досить високою стійкістю до значних концентрацій хроматів.

Список використаних джерел:

1. Costa M. Toxicology and carcinogenicity of Cr (6) in animal models and humans. Crit. Rev. Toxicol, 1997; 27(5): 431–442.
2. Kotas J., Stasicka Z. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. Environ. Pollut, 2000; 107(3): 263–283.
3. Toxicological review of hexavalent chromium. U.S. Environmental Protection Agency, Washington DC, 1998: 77.

Ткачук Д.М.

студент,

Навчально-науковий центр «Інститут біології»

Київського національного університету

імені Тараса Шевченка

Маланчук О.М.

кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник,

Інститут молекулярної біології та генетики

Національної академії наук України

АНАЛІЗ РІВНЯ СИНТЕЗУ БІЛКА RICTOR В РІЗНИХ ЛІНІЯХ КЛІТИН ССАВЦІВ

Більшість організмів мають добре розвинуті механізми для ефективного переходу між анаболічними та катаболічними станами. У ссавців прикладом такого механізму є сигнальна система, ключовим елементом якої є