DOI 10.66073/ReFocus-Conf/3010091

СКРИНИНГ И ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К РАЗЛИЧНЫМ КОНЦЕНТРАЦИЯМ ИОНОВ СВИНЦА (Pb^{2+})

Шонахунов Тулкин Эркинович, **Кадырова Гулчехра Хакимовна**
Институт микробиологии АН РУз, kadirovagul@mail.ru

Аннотация: Изучена устойчивость изолированных штаммов из загрязненных тяжелыми металлами почв и коллекционных штаммов микроорганизмов к воздействию ионов Pb^{2+} в концентрациях 48,0; 95,9 и 287,7 мг/л. Проведён скрининг, оценена оптическая плотность культур при 600 нм и исследованы морфологические изменения клеток. Установлено, что *Rhodococcus ruber* 318, *Bacillus cereus* 138, *Bacillus paralicheniformis, Bacillus subtilis, Bacillus atrophaeus* сохраняли рост при высоких концентрациях Pb^{2+}. При 287,7 мг/л Pb^{2+} значения $ОП_{600}$ *B. cereus* 138 и *B. paralicheniformis* превышали контрольные показатели. Выявленные устойчивые штаммы перспективны для дальнейшего изучения механизмов устойчивости к свинцу и оценки их потенциала в биоремедиации загрязнённых сред.

Ключевые слова: тяжёлые металлы, свинец, Pb^{2+}, устойчивость микроорганизмов, *Bacillus*, *Rhodococcus*, биоремедиация.

Annotatsiya: Og‘ir metallar bilan ifloslangan tuproqlardan ajratib olingan shtammlar hamda mikroorganizmlarning kolleksiya shtammlarining 48,0; 95,9 va 287,7 mg/l konsentratsiyadagi Pb^{2+} ionlariga chidamliligi o‘rganildi. Skrining olib borildi, 600 nm to‘lqin uzunligida kulturaning optik zichligi baholandi va hujayralardagi morfologik o‘zgarishlar tekshirildi. Aniqlanishicha, *Rhodococcus ruber* 318, *Bacillus cereus* 138, *Bacillus paralicheniformis, Bacillus subtilis, Bacillus atrophaeus* shtammlari Pb^{2+} ning yuqori konsentratsiyalarida ham o‘sishni davom ettirgan. Pb^{2+} konsentratsiyasi 287,7 mg/l bo‘lgan sharoitda *B. cereus* 138 va *B. paralicheniformis* shtammlarining OD_{600} ko‘rsatkichlari nazorat darajasidan yuqori bo‘lgan. Aniqlangan chidamli shtammlar qo‘rg‘oshin ta’siriga chidamlilik mexanizmlarini chuqurroq o‘rganish hamda ifloslangan muhitni bioremediatsiya qilishdagi salohiyatini baholash uchun istiqbolli nomzodlar hisoblanadi.

Kalit so‘zlar: og‘ir metallar, qo‘rg‘oshin, Pb^{2+}, mikrobial chidamlilik, *Bacillus*, *Rhodococcus*, bioremediatsiya.

Abstract: The resistance of strains isolated from heavy-metal-contaminated soils and collection strains of microorganisms to Pb^{2+} ions at concentrations of 48.0, 95.9, and 287.7 mg/L was investigated. Screening was conducted, culture optical density at 600 nm was evaluated, and morphological changes in cells were examined. It was found that *Rhodococcus ruber* 318, *Bacillus cereus* 138, *Bacillus paralicheniformis, Bacillus subtilis, Bacillus atrophaeus* maintained growth at high Pb^{2+} concentrations. At a Pb^{2+} concentration of 287.7 mg/L, the OD_{600} values for *B. cereus* 138 and *B. paralicheniformis* exceeded control levels. The identified resistant strains are promising candidates for further study of lead resistance mechanisms and for the assessment of their potential in the bioremediation of contaminated environments.

Keywords: heavy metals, lead, Pb^{2+}, microbial resistance, *Bacillus*, *Rhodococcus*, bioremediation.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ
Шонахунов Т.Э., Кадырова Г.Х. Скрининг и оценка устойчивости микроорганизмов к различным концентрациям ионов свинца (Pb2+) // Состояние и перспективы развития фундаментальной и прикладной микробиологии: точка зрения молодых учёных: материалы Республиканской научно-практической конференции. – Ташкент, 2026. – С. 330–333.
DOI: https://doi.org/10.66073/ReFocus-Conf/3010091

Введение

Загрязнение почв тяжёлыми металлами является одной из актуальных экологических проблем, поскольку такие элементы, как свинец (Pb), отличаются высокой токсичностью, устойчивостью и способностью длительно сохраняться в окружающей среде. В отличие от органических загрязнителей, тяжёлые металлы не подвергаются биологическому разложению, что способствует их накоплению в почве и поступлению в трофические цепи. Свинец оказывает неблагоприятное воздействие на живые организмы, поэтому поиск эффективных и экологически безопасных методов снижения его подвижности и биодоступности имеет важное значение [1,2].

Микроорганизмы, обитающие в загрязнённых почвах, способны адаптироваться к повышенным концентрациям тяжёлых металлов и формировать различные механизмы устойчивости к Pb^{2+}, включая биосорбцию, внеклеточную секвестрацию, связывание металла клеточными компонентами, активный вынос и биоминерализацию [3,4]. Выделение устойчивых местных микроорганизмов непосредственно из загрязнённых почв представляет особый интерес, поскольку такие штаммы уже адаптированы к условиям техногенной нагрузки и могут рассматриваться как перспективные объекты для биоремедиационных исследований. Показано, что устойчивые к свинцу бактерии способны участвовать в иммобилизации и удалении Pb^{2+} из загрязнённых сред, что определяет перспективность их дальнейшего практического применения [3,4].

Цель исследования – провести сравнительную оценку устойчивости штаммов микроорганизмов, изолированных из загрязненных тяжелыми металлами почв, и коллекционных штаммов микроорганизмов к различным концентрациям ионов Pb^{2+} с использованием чашечного метода и количественной оценки образования биомассы по показателям $ОП_{600}$.

Методы

В качестве объектов исследования использовали местные штаммы микроорганизмов, выделенные из почв, загрязнённых тяжёлыми металлами, Кашкадарьинской и Самаркандской областей: *Bacillus paralicheniformis, Bacillus subtilis, Bacillus atrophaeus*, *Enterobacter cloacae* и штаммы, которые хранятся в Коллекции промышленно важных культур Института микробиологии: *Pseudomonas putida 133, Bacillus cereus 138, Pseudomonas fluorescens 206* и *Rhodococcus ruber 318.*

Первичный скрининг устойчивости штаммов к ионам Pb^{2+} проводили чашечным методом на питательной среде с добавлением свинца в концентрациях 48,0; 95,9 и 287,7 мг/л. Устойчивость оценивали по способности микроорганизмов сохранять рост в присутствии исследуемых концентраций Pb^{2+}.

Для количественной оценки влияния свинца на рост микроорганизмов определяли образование биомассы по оптической плотности культуры при 600 нм ($ОП_{600}$). Значения $ОП_{600}$ исследуемых культур при различных концентрациях Pb^{2+} сравнивали с контролем без добавления свинца. По полученным значениям оценивали степень ингибирования роста и относительную устойчивость исследуемых штаммов к воздействию ионов свинца [5].

Результаты и обсуждение

Для оценки устойчивости исследуемых микроорганизмов к воздействию ионов тяжёлых металлов культуры выращивали в присутствии Pb^{2+} в концентрациях 48,0; 95,9 и 287,7 мг/л. Первичный скрининг проводили чашечным методом, после чего влияние Pb^{2+} на рост микроорганизмов оценивали по оптической плотности культуры при 600 нм ($ОП_{600}$). Согласно полученным результатам, среди исследованных коллекционных культур *Rhodococcus ruber* 318 и *Bacillus cereus* 138, а также среди изолированных резистентных культур *Bacillus paralicheniformis* и *Bacillus atrophaeus* сохраняли способность к росту при всех исследованных концентрациях Pb^{2+}, включая 287,7 мг/л, что позволяет рассматривать

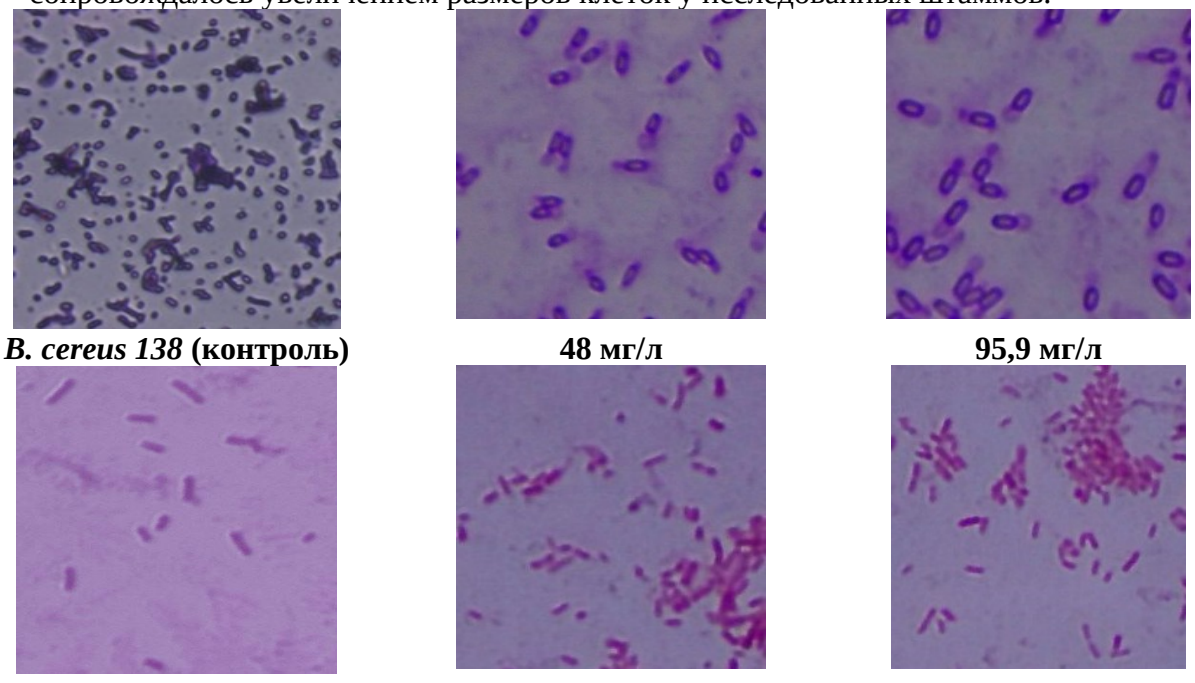
DOI: 10.66073/ReFocus-Conf/3010091

данные штаммы как перспективные объекты для дальнейшего изучения механизмов устойчивости к свинцу (табл. 1).

Таблица 1. Титр клеток микроорганизмов при различных концентрациях ионов Pb^{2+}

№	Культуры	Контроль	Концентрации ионов Pb^{2+}, мг/л		
			48,0	95,9	287,7
1	*Rhodococcus ruber 318*	$4,9 \times 10^8$	$3,4 \times 10^7$	$2,1 \times 10^6$	$1,0 \times 10^5$
2	*Pseudomonas putida 133*	$5,4 \times 10^7$	$3,2 \times 10^6$	$1,3 \times 10^5$	0
3	*Pseudomonas fluorescens 206*	$2,2 \times 10^7$	$1,8 \times 10^6$	$3,1 \times 10^5$	0
4	*Bacillus cereus 138*	$4,7 \times 10^8$	$2,1 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$	$1,3 \times 10^6$
5	*Bacillus paralicheniformis*	$5,4 \times 10^8$	$6,5 \times 10^7$	$5,4 \times 10^7$	$4,3 \times 10^7$
6	*Bacillus subtilis*	$5,2 \times 10^8$	$4,1 \times 10^7$	$3,4 \times 10^7$	$2,8 \times 10^7$
7	*Bacillus atrophaeus*	$5,1 \times 10^8$	$4,6 \times 10^7$	$3,8 \times 10^7$	$2,4 \times 10^7$
8	*Enterobacter cloacae*	$4,6 \times 10^7$	$4,2 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6$

Микроскопическое исследование показало, что воздействие Pb^{2+} сопровождалось изменениями морфометрических характеристик отдельных штаммов. Известно, что содержание в среде ионов тяжелых металлов даже в низких концентрациях негативно влияет на жизнедеятельность организмов [6]. При концентрации Pb^{2+} 48,0 мг/л выраженных изменений морфологии клеток по сравнению с контролем не наблюдалось. При увеличении концентрации свинца до 95,9 мг/л у *Pseudomonas putida* 133 отмечалось изменение формы клеток, выражавшееся в их укорочении и увеличении ширины. Данные изменения могут отражать морфологическую адаптацию клеток к воздействию повышенной концентрации тяжёлого металла, однако для установления конкретного механизма необходимы дополнительные исследования. При высокой концентрации Pb^{2+} (287,7 мг/л) более выраженные морфометрические изменения наблюдались у *Rhodococcus ruber* 318 и *Bacillus paralicheniformis* (рис. 1). У *R. ruber* 318 отмечалось увеличение размеров клеток приблизительно в 1,5 раза по сравнению с контролем. Размеры клеток в контрольном варианте составляли около 1,5–2,0 мкм в длину и 0,6–0,9 мкм в ширину. Для *B. paralicheniformis* в контрольном варианте размеры клеток составляли 2,5–3,2 мкм в длину и 0,4–0,6 мкм в ширину, тогда как при концентрации Pb^{2+} 287,7 мг/л длина клеток увеличивалась до 3,8–4,5 мкм, а ширина – до 0,8–1,0 мкм (рис. 1). Таким образом, воздействие высокой концентрации Pb^{2+} сопровождалось увеличением размеров клеток у исследованных штаммов.



***B. cereus 138* (контроль)** **48 мг/л** **95,9 мг/л**

DOI: 10.66073/ReFocus-Conf/3010091

***B. paralicheniformis* (контроль)**	**48 мг/л**	**95,9 мг/л**

Рисунок 1. Микрофотографии микроорганизмов в присутствии различных концентраций ионов Pb^{2+} (Увеличение:

Количественная оценка роста по показателю $ОП_{600}$ также продемонстрировала отсутствие выраженного подавления роста отдельных устойчивых штаммов при высокой концентрации свинца. На 7-е сутки культивирования $ОП_{600}$ *B. cereus* 138 в контрольном варианте составляла 0,724, тогда как в присутствии 287,7 мг/л Pb^{2+} достигала 0,896. Для *B. paralicheniformis* соответствующие значения составляли 0,886 и 1,174. Таким образом, при исследованной концентрации Pb^{2+} значения $ОП_{600}$ у обоих штаммов были выше, чем в контроле.

Заключение

Проведён скрининг устойчивости местных штаммов микроорганизмов, выделенных из почв, загрязнённых тяжёлыми металлами, и коллекционных штаммов микроорганизмов к воздействию ионов Pb^{2+} в концентрациях 48,0; 95,9 и 287,7 мг/л. Установлено, что исследуемые микроорганизмы характеризовались различной степенью устойчивости к свинцу. Коллекционные штаммы *Rhodococcus ruber* 318 и *Bacillus cereus* 138 сохраняли рост при всех исследованных концентрациях Pb^{2+}. У ряда штаммов воздействие высокой концентрации свинца сопровождалось изменением морфометрических характеристик клеток. Значения $ОП_{600}$ *B. cereus* 138 и *B. paralicheniformis* при концентрации Pb^{2+} 287,7 мг/л превышали контрольные показатели, что свидетельствует о сохранении способности данных культур к образованию биомассы в присутствии высокой концентрации свинца. Полученные штаммы представляют интерес для дальнейшего изучения механизмов устойчивости к тяжёлым металлам и оценки их потенциального применения в биоремедиационных технологиях.

Список литературы

1. Kumar A, Kumar A, M M S CP, Chaturvedi AK, Shabnam AA, Subrahmanyam G, Mondal R, Gupta DK, Malyan SK, S Kumar S, A Khan S, Yadav KK. Lead Toxicity: Health Hazards, Influence on Food Chain, and Sustainable Remediation Approaches. Int J Environ Res Public Health. 2020 Mar 25;17(7):2179. doi: 10.3390/ijerph17072179.
2. Generalova, A., Davidova, S., & Satchanska, G. (2025). The Mechanisms of Lead Toxicity in Living Organisms. Journal of Xenobiotics, 15(5), 146. https://doi.org/10.3390/jox15050146
3. Mitra A, Chatterjee S, Kataki S, Rastogi RP, Gupta DK. Bacterial tolerance strategies against lead toxicity and their relevance in bioremediation application. Environ Sci Pollut Res Int. 2021 Mar;28(12):14271-14284. doi: 10.1007/s11356-021-12583-9.
4. Nong Q, Yuan K, Li Z, Chen P, Huang Y, Hu L, Jiang J, Luan T, Chen B. Bacterial resistance to lead: Chemical basis and environmental relevance. J Environ Sci (China). 2019 Nov;85:46-55. doi: 10.1016/j.jes.2019.04.022.
5. Кадырова Г.Х., Усманкулова А.А., Закирьяева С.И., Каримов Х.Н., Пайзиллоев А.К., Атаджанова Ш.Ш. Скрининг устойчивых к ионам тяжелых металлов почвенных микроорганизмов // Universum: химия и биология: электрон. научн. журн. 2021. 12(90). С.11-18. https://7universum.com/ru/nature/archive/item/12547
6. Mitra S., Chakraborty A.J., Tareq A.M. et al. Impact of heavy metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity // Journal of King Saud University – Science. 2022. Vol. 34. 101865. DOI: 10.1016/j.jksus.2022.101865.