

DOI: 10.19112/2413-6174-2024-25-3-14

ВЛИЯНИЕ Fe, Zn, Co НА АНТАГОНИСТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ *BACILLUS* SP. В МОДЕЛЬНОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO*

А.Н. Здоров, М.М. Маринчев, Т.А. СемьининФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет»,
Российская Федерация, 460018, Оренбург, пр. Победы, д. 13

РЕЗЮМЕ. Проведены экспериментальные исследования оценки степени влияния эссенциальных элементов из группы тяжелых металлов на антагонистическую активность транзиторных пробиотических штаммов *Bacillus* sp. Результаты исследования свидетельствуют о негативном влиянии избыточных концентраций металлов на показатели конкурентоспособности, характеризующееся снижением показателей ингибирующих характеристик в отношении тест организмов. Положительный эффект оказывает железо в отношении *E. coli*, что гипотетически можно охарактеризовать образованием ультрадисперсных металлокомплексов, увеличивающих проникновение биологически активных ингибиторов роста через защитные механизмы бактериальных клеток.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: железо, цинк, кобальт, медь, *Bacillus*, антибиотикопродуктивность, *E. coli*, *S. aureus*.

Для цитирования: Здоров А.Н., Маринчев М.М., Семьинин Т.А. Влияние Fe, Zn, Co на антагонистическую активность пробиотических штаммов *Bacillus* sp. в модельном эксперименте *in vitro*. Микроэлементы в медицине. 2024;25(3):33–35. DOI: 10.19112/2413-6174-2024-25-3-14.

ВВЕДЕНИЕ

В современной научной литературе представлены многочисленные экспериментальные данные, свидетельствующие о выраженной антагонистической активности представителей рода *Bacillus* sp. и их высоком потенциале практического применения (Santos, et al., 2022; Podnar, et al., 2022). Наряду с этим широко известен биоремедиационный потенциал тяжелых металлов представителями данного рода (Wrobel, et al., 2023).

Ц е л ь р а б о т ы – оценить степень влияния эссенциальных элементов (Fe, Zn, Co) на антибиотикопродуктивность транзиторных штаммов *Bacillus* sp. в модельных экспериментах *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реализация поставленной цели включала в себя два этапа. Первый этап направлен на оценку уровня резистентности исследуемых штаммов микроорганизмов к химическим соединениям тестируемых в эксперименте металлов (FeSO₄, ZnSO₄, CoSO₄). Исследование проводили методом агаровых лунок в комбинации с методом серийных разведений (от 1 до 0,016 М/л). В качестве тест-организмов в работе использовали три пробиотических штамма *Bacillus* sp. (*B. subtilis* 534, *B. cereus* IP 5832 и *B. licheniformis* ВКПМ В 7038) и два клинических изолята – *E. coli* и *S. aureus*. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о выраженном ингибирующем действии всех исследуемых солей эссенциальных элементов на тест организмы. Так, внесение FeSO₄ вплоть до концентрации 0,125 М/л для штаммов *B. subtilis* 534, *B. licheniformis* ВКПМ В 7038, *E. coli* и *S. aureus* оказывает бактерицидный эффект, для *B. cereus* IP 5832 минимальная ингибирующая концентрация (МИК) железа составила 0,063 М/л. В отношении действия цинка наблюдается аналогичная картина толерантности, исключение составляет *S. aureus*, для которого МИК составила 0,032 М/л. Из всех тестируемых соединений наиболее выраженным токсическим эффектом обладает CoSO₄ подавляющий рост тестируемых штаммов *B. subtilis* 534, *B. licheniformis* ВКПМ В 7038 в концентрациях до 0,032 М/л и *B. cereus* IP 5832 – до 0,016 М/л. Следует отметить, что штаммы *E. coli* и *S. aureus* обладают более высокими показателями резистентности, проявляя устойчивость к концентрациям сульфата кобальта 0,063 и 0,032 М/л соответственно. В ходе данного этапа определены рабочие концентрации исследуемых солей металлов для реализации следующего блока исследований.

Второй этап направлен на оценку степени влияния исследуемых металлов на антибиотикопродуктивность тестируемых в эксперименте транзиторных штаммов *Bacillus* sp. в отношении *E. coli* и *S. aureus*. Данный этап работы включал культивирование *B. subtilis* 534, *B. cereus* IP 5832 и *B. licheniformis* ВКПМ В 7038 в присутствии рабочих концентраций металлов, определенных на первом

этапе исследования в течение 48 ч и интактных образцов (контроль роста). После культивирования отделялась биомасса клеток методом центрифугирования при 3000 оборотов/мин в течение 20 мин. В эксперименте использовали супернатант, отделенный от биомассы автоматической пипеткой. Для чистоты эксперимента контрольные и опытные образцы (культивирование в присутствии различных металлов) тестировали на одной чашки в 10 повторностях (определение статистически достоверных различий). После посева тест-культур *E. coli* и *S. aureus* на стерильные питательные среды микробиологическим пробойником в толще агаризованной пластинки вырезали лунки диаметром 5 мм, в которые вносили исследуемый супернатант к дозе 30 мкл.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о выраженном ингибирующем действии супернатанта полученного из контрольных образцов, при этом более выраженное действие регистрируется в отношении *S. aureus* (от 11,5 до 14,8 мм). Присутствие металлов негативно влияет на антагонистическую активность транзиторных штаммов. Так, присутствие Fe снижает показатели подавления роста на 10,81% ($p<0,05$), 7,52% ($p<0,05$) и 14,78% ($p<0,01$) для *B. subtilis* 534, *B. cereus* IP 5832 и *B. licheniformis* ВКПМ В 7038 соответственно. Присутствие Zn снижает биологическую активность штаммов на 37,16% ($p<0,01$), 35,34% ($p<0,05$), 45,22% ($p<0,01$) и Co – на 62,84% ($p<0,001$), 58,6% ($p<0,01$) и 53,91% ($p<0,01$) соответственно.

В отношении *E. coli* тестируемые штаммы проявляют менее выраженную биологическую активность (от 6,3 до 9,5 мм). Культивирование *B. cereus* IP 5832 и *B. licheniformis* ВКПМ В 7038 в присутствии FeSO_4 , активизировало уровень биологической активности на 24,60% ($p<0,01$) и 26,88% ($p<0,01$) соответственно. При этом биологическая активность *B. subtilis* 534 снизилась на 4,30%. Присутствие цинка не оказывает выраженного влияния на биологическую активность, разница между результатами средних показателей составляет менее 3,00% для всех транзиторных штаммов. Кобальт негативно влияет на антагонистическую активность, снижая показатели ингибирования роста *E. coli* на 33,39% ($p<0,05$), 47,37% ($p<0,01$) и 8,82% для *B. subtilis* 534, *B. cereus* IP 5832 и *B. licheniformis* ВКПМ В 7038 соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о выраженной антагонистической активности исследуемых транзиторных штаммов *Bacillus* sp. в отношении тест-организмов, при этом максимальные показатели регистрируются в отношении *S. aureus*. Однако присутствие металлов в субстрате оказывает негативное влияние на выработку антибиотикоподобных веществ, что визуально проявляется в достоверно значимом снижении зон ингибирования роста. Соединения цинка и кобальта аналогично влияют и в отношении *E. coli*, исключение составляет железо, которое, напротив, стимулирует ингибирующие характеристики *B. cereus* IP 5832 и *B. licheniformis* ВКПМ В 7038, что гипотетически можно охарактеризовать образованием ультрадисперсных металлокомплексов, увеличивающих проникновение биологически активных ингибиторов роста через защитные механизмы бактериальных клеток.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Santos J.E.Á., de Brito M.V., Pimenta A.T.Á., et al. Antagonism of volatile organic compounds of the *Bacillus* sp. against *Fusarium kalimantanense*. World J Microbiol Biotechnol. 2022; 39(2): 60. DOI: 10.1007/s11274-022-03509-9.
- Podnar E., Erega A., Danevčič T., et al. Nutrient Availability and Biofilm Polysaccharide Shape the Bacillaceae-Dependent Antagonism of *Bacillus subtilis* against *Salmonella typhimurium*. Microbiol Spectr. 2022; 10(6): e0183622. DOI: 10.1128/spectrum.01836-22.
- Wróbel M., Śliwakowski W., Kowalczyk P., et al. Bioremediation of Heavy Metals by the Genus *Bacillus*. Int J Environ Res Public Health. 2023; 20(6): 4964. DOI: 10.3390/ijerph20064964.

INFLUENCE OF Fe, Zn, CO ON THE ANTAGONISTIC ACTIVITY OF PROBIOTIC STRAINS *BACILLUS* SP. IN A MODEL EXPERIMENT *IN VITRO*

A.N. Zdorov, M.M. Marinchev, T.A. Semynin

Orenburg State University,
Pobedy Ave., 13, Orenburg, 460018, Russian Federation

ABSTRACT. The scientific literature presents numerous experimental data on the study of both antagonistic and sorption activity of representatives of the genus *Bacillus* sp. In our work, we carried out experimental studies to assess the degree of influence of essential elements from the group of heavy metals on the antagonistic activity of transient probiotic strains of *Bacillus* sp. The results of the study indicate a negative impact of excessive concentrations of metals on competitiveness indicators, characterized by a decrease in inhibitory characteristics in relation to test organisms. Fe has a positive effect on *E. coli*, which can hypothetically be characterized by the formation of ultradispersed metal complexes that increase the penetration of biologically active growth inhibitors through the protective mechanisms of bacterial cells.

KEYWORDS: iron, zinc, cobalt, copper, *Bacillus*, antibiotic productivity, *E. coli*, *S. aureus*.