перерывом между ними в 5 минут. Перед проведением каждого сеанса проводилась запись ЭЭГ с закрытыми глазами в течение 3 минут.

В динамике после проведения 20 сеансов нейробиоуправления отмечено уменьшение лимбических нарушений к 5 сеансу, отклонений верхнестеблового генеза – к 11, а фронтоталамической системы – к 20 сенсу.

Таким образом, в ходе 20 сеансов нейробиоуправления у мальчика 7 лет с нарушением произвольной регуляции деятельности отмечено улучшение функционального состояния глубинных регуляторных структур.

1. Безруких М.М., Логинова Е.С., Мачинская Р.И., Семенова О.А., Филиппова Т.А. Комплексная методика диагностики познавательного развития детей дошкольного возраста и первоклассников: Методическое пособие. М.: МПГИ, 2007. – 124 с.
2. Джафарова О.А., Даниленко Е.Н. Нейробиоуправление в коррекции синдрома дефицита внимания и гиперактивности школьников // Открытое образование. 2016. № 2. С. 93-96.
3. Лукашевич И.П., Мачинская Р.И., Фишман М.Н. Автоматизированная диагностическая система ЭЭГ-ЭКСПЕРТ // Медицинская техника 1999. - Т. 6. - С. 29-34.
4. Сойко К.В. Особенности развития функций программирования, регуляции и контроля младших школьников с трудностями обучения // Научные стремления. – 2016. № 3 (19). – С. 84-88.

Сивухин А.Н., Курючкин В.А., Марков Д.С.
Изучение устойчивости бактерий рода *Bacillus* к воздействию различных концентраций нитрата свинца

*Ивановский государственный университет
(Россия, Иваново)*

doi:10.18411/spc-18-01-2018-19

idsp: 000001:spc-18-01-2018-19

Аннотация

Работа посвящена оценке степени воздействия нитрата свинца на жизнедеятельность и продуктивность бактерий рода *Bacillus* (*B. Mesentericus* и *B. Subtilis*) с целью установления предела чувствительности этих микроорганизмов к присутствию катиона свинца в среде. Эти сведения помогут при использовании бактерий в качестве биоиндикаторов и очистителей. Установлено, что бактерии в целом имеют довольно высокую чувствительность к небольшим (от 50 мг/л) концентрациям нитрата свинца в среде при росте. Полная остановка роста наблюдается при концентрации в среде нитрата свинца 2 г/л. Кратковременное же воздействие даже очень высоких концентраций нитрата свинца (100 г/л) не оказывают существенного влияния на дальнейшее развитие колонии. По результатам эксперимента можно сделать вывод о том, что бактерии *B. Subtilis* более устойчивы к воздействию катиона свинца, чем *B. Mesentericus*.

Ключевые слова: бактерии, *Bacillus*, свинец, нитрат, тяжёлые металлы, биоремедиация, биоиндикация.

Введение

Повышающаяся антропогенная нагрузка на окружающую среду приводит к увеличению количества поллютантов, попадающих в воду, почву и живые организмы, что оказывает негативное воздействие на здоровье населения [4]. Среди наиболее часто встречающихся загрязнителей особняком стоит группа тяжёлых металлов, которые могут накапливаться в организме животных и человека, связываясь с ферментами в клетках. К примеру, свинец вызывает свинцовую интоксикацию – сатурнизм, которая сопровождается поражением нервной и кровеносной систем через денатурацию, то есть изменение третичной структуры, белков-ферментов. Особенно опасно такое

воздействие для детей, поскольку ферментные яды наиболее губительны по отношению к развивающейся нервной системе [5].

Растения также способны накапливать большие количества свинца, в частности, из выхлопных газов автомобилей. В течение вегетативного периода одно дерево обезвреживает соединения свинца, содержащиеся в 130 л. бензина. В листьях деревьев, обращённых к автомагистралям, обнаруживается на 30-60% больше этого металла. Хвоя ели и сосны обладает свойствами хорошего фильтра по отношению к свинцу [3].

Бактерии тоже имеют способность усваивать тяжёлые металлы. Доказано, что таким образом возможно биологическое очищение тканей млекопитающих от свинца. Причём, наилучшим образом с этой задачей справляются бактерии рода *Bacillus* [2].

Таким образом, у растений и бактерий имеется высокий потенциал к очистке среды от избыточного количества свинца, что может быть использовано при биоремедиации сельскохозяйственных угодий и в медицине [1].

В связи с этим, было принято решение выяснить особенности влияния ионов свинца на жизнедеятельность бактерий рода *Bacillus* с целью установления предельно допустимых концентраций, оказывающих бактерицидное и бактериостатическое действие. Это позволит не только почерпнуть ценную информацию для использования бактерий в качестве биологического очистителя, но и, при необходимости, даст возможность создать новый метод биоиндикации.

Методы

Исследования проводились на чистых культурах бактерий рода *Bacillus* – *B. Mesentericus* и *B. Subtilis*, выделенных в лабораторных условиях. В качестве источника катиона свинца использовался свинец азотнокислый (ч.). Основным субстратом для выращивания колоний послужил питательный агар. Финальная окраска производилась по методике Грама.

Контрольная группа всегда выращивалась на чистом питательном агаре. Опытные группы подвергались воздействию различных концентраций нитрата свинца, растворённого в дистиллированной воде с последующим помещением на подложку из чистого питательного агара, либо выращивались на питательном агаре с добавлением в него определённого количества нитрата свинца. Посев производился методом штриха. Экспозиция в термостате для всех случаев составляла 48 часов. Для того, чтобы убедиться, что негативное влияние исходит именно от катиона свинца, а не от нитрат-иона, в эксперимент была включена группа сравнения, с которой производились те же манипуляции, но вместо нитрата свинца использовался нитрат кальция.

Результаты

В контрольной группе (Рис. 1) наблюдается стабильный рост, в среднем до 30 КОЕ/см². Иногда встречаются участки сплошного роста. Концентрации нитрата свинца до 100 г/л при 30-минутном воздействии не оказывают сколько-либо существенного воздействия на дальнейший рост бактерий при помещении их на чистый питательный агар. Единственное отличие от контрольной группы – колонии становятся слизистыми. При микроскопировании виден хороший рост с преобладанием спорных форм.

Нитрат кальция не оказывает существенного влияния на рост колоний и форму самих бактерий. Проверялись концентрации до 5 г/л.

Бактерицидное действие нитрат свинца оказывает лишь при длительном воздействии: после суток выдерживания колонии *B. Mesentericus* в растворе нитрата свинца концентрацией 100 г/л и высевания на чистый субстрат – роста не наблюдается. Аналогичный опыт с нитратом кальция даёт хороший рост, что подтверждает негативное влияние катиона свинца.

Бактериостатический эффект на колонии *B. Mesentericus* оказывают даже малые концентрации нитрата свинца в агаре (от 50 мг/л). При концентрации 100 мг/л на 8 секторе чашки рост отсутствует полностью. При этом характер споруляции, форма и плотность бактерий в выросших колониях не отличается от контрольной группы. При

концентрации 2 г/л и выше роста нет вообще. При 500 мг/л (Рис. 2) рост едва заметен, отдельные единичные колонии в первом и втором секторах, почти пустое поле зрения в мазке с отдельными группами по несколько десятков спор.

Рисунок 1. Мазок из контрольного посева *B. Mesentericus* на чистый питательный агар (x1600)

Рисунок 2. Бактерии *B. Mesentericus* при культивировании на питательном агаре, содержащем 500 мг/л нитрата свинца (x1600)

Бактериостатический эффект на *B. Subtilis* оказывают более высокие концентрации нитрата свинца. При 500 мг/л (Рис. 3) можно наблюдать отдельные деформированные слизистые колонии с большим количеством спор и молодых клеток на мазке. От 2 г/л роста нет.

Рисунок 3. Бактерии *B. Subtilis* при культивировании на питательном агаре, содержащем 500 мг/л нитрата свинца (x1600)

Рисунок 4. Зависимость количества колониеобразующих единиц бактерий группы *Bacillus* от концентрации нитрата свинца (мг/л) в питательном агаре через двое суток культивирования.

Обсуждение результатов

Очевидно, что на бактерий рода *Bacillus* катион свинца оказывает угнетающее действие, причём в течение короткого времени они способны выдерживать максимально возможные концентрации нитрата свинца в растворе, сохраняя затем продуктивность и жизнеспособность. Постоянное же присутствие катиона свинца в среде полностью угнетает рост и размножение даже при концентрации 2 г/л. Предел чувствительности к присутствию свинца определён в 50 мг/л. Бактерии *B. Subtilis* оказались более устойчивыми к воздействию свинца, чем *B. Mesentericus* (Рис. 4). Исходя из результатов эксперимента, можно предположить, что катион свинца

связывается с ферментами, участвующими в процессах дыхания бактерий, что приводит к их гибели в итоге длительной блокировки. В дальнейшем планируется выяснить локализацию накопления свинца в бактериальной клетке, а также скорость потребления и выведения свинца. Это поможет более эффективно использовать бактерий для биоремедиации почв и очищения живых систем от тяжёлых металлов.

1. Schnoor, J.L. (2000) Degradation by Plants-Phytoremediation // *Biotechnology*, 11b, 372-384
2. Бабушкина А.Е. Влияние пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* на морфологию органов-мишеней млекопитающих при интоксикации солями свинца // *Современные проблемы науки и образования*. – 2014. – № 2
3. Козловский Е.В., Баганова О.А., Мастерова С.А. Результаты мониторинга атмосферных осадков, воды и почвы на содержание свинца в г. Иванове // *Региональное устойчивое развитие: комплексные биосферно-ноосферные исследования, проектирование и реализация* / Под ред. ред. В. А. Исаева и Г. С. Смирнова. 2007. с. 100-102.
4. Сивухин А. Н., Марков Д. С. Оценка содержания тяжелых металлов в почвенном покрове средней полосы Российской Федерации // *Научная жизнь*, 2016. №12. С. 87.
5. Т.Р. Харрисон. Внутренние болезни Часть 1, 1992. Перевод с английского доктора мед.наук А. В. Сучкова, канд. мед. наук Н. Н. Заваденко, канд. мед. наук Д. Г. Катковского // МОСКВА «МЕДИЦИНА» 1992—1997, 3430 с.