

ЮНГИН О.С.✉, БЕЛИКОВА Е.Ю., ГЛАДКА Г.В., ТАШИРЕВ А.Б.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,
Украина, 03143, г. Киев, ул. Заболотного, 154, e-mail: olga.suslova11@gmail.com

✉ olga.suslova11@gmail.com

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЗАГРЯЗНЕННЫХ КАДМИЕМ ПОЧВ

Цель. Определение таксономического положения и устойчивости выделенных из загрязненных кадмием почв бактериальных культур к ионам токсичных металлов – Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , CrO_4^{2-} . **Методы.** Культуры бактерий выделяли методом предельных разведений и последующим высевом на агаризованные питательные среды. Их таксономическое положение определяли молекулярно-генетическими методами с использованием ресурсов GenBank и BLAST. Устойчивость бактерий к ионам токсичных металлов устанавливали культивированием в жидких питательных средах в присутствии концентрационного градиента Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , CrO_4^{2-} . **Результаты.** Выделенные культуры высокоустойчивы к кадмию. По фенотипическим и молекулярно-генетическим признакам культуры отнесены к *Brevundimonas vesicularis* и *Cupriavidus gilardii*. Их устойчивость к указанным металлам на порядок превышает общеизвестную. **Выводы.** Выделенные штаммы перспективны для использования в новых природоохранных биотехнологиях для очистки металлосодержащих сточных вод.

Ключевые слова: металлрезистентность, токсичные металлы, таксономическое положение, *Cupriavidus gilardii*, *Brevundimonas vesicularis*.

Одним из наиболее токсичных металлов является кадмий. В природных экосистемах кадмий содержится в следовых концентрациях, однако в результате антропогенной нагрузки его содержание в природных экосистемах намного превышает ПДК [1]. В почве кадмий сорбируется органическими соединениями и передается по пищевой цепи, аккумулируясь в растениях и, как следствие, продуктах питания. В высоких концентрациях кадмий приводит к нарушению функционирования микробных сообществ. Из загрязненных тяжелыми металлами почв высока вероятность выделения бактерий, устойчивых к Cd^{2+} , т. к. металл в данном случае является селективным фактором [2].

Устойчивость бактерий к ионам токсичных металлов определяется их генетическим потенциалом [2]. Плазмидные гены часто определяют устойчивость к токсичным металлам и металлоидам в высоких концентрациях – Ag^+ , AsO_2^- , AsO_4^{3-} , Cd^{2+} , Co^{2+} , CrO_4^{2-} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , TeO_3^{2-} [3]. Устойчивость микроорганизмов к ионам токсичных металлов зависит также от условий культивирования, например, концентрации органических соединений, температуры, значений pH и т. д. [4]. Во многих случаях имеет место сцепленная устойчивость бактерий к нескольким токсичным металлам [5]. Так, для *Pseudomonas* была показана сцепленная резистентность к кадмию, кобальту и меди [6], а для *Agrobacterium* – к никелю и кобальту [7]. Таким образом, штаммы микроорганизмов, устойчивые к одному токсичному металлу, с большой вероятностью будут устойчивы и к другим металлам, что имеет как фундаментальное, так и прикладное значение. Такие штаммы являются подходящим объектом для изучения молекулярных механизмов взаимодействия клетки с ионами токсичных металлов и генетического потенциала бактерий. Устойчивые микроорганизмы перспективны для разработки биотехнологий биоремедиации почв, очистки сточных вод от токсичных металлов и т. д.

Целью нашей работы было определение таксономического положения и изучение устойчивости выделенных из загрязненных кадмием почв бактериальных культур к ионам токсичных металлов – Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , CrO_4^{2-} .

Материалы и методы

Бактерии выделяли из почвы, загрязненной кадмием (до 500 мг/кг почвы), методом предельных разведений и последующим высевом на агаризованные питательные среды [8].

Морфологические и физиологические характеристики штаммов определялись по руководству Берджи (второе издание, 2004). Изолирование ДНК, ПЦР-амплификация, определение

© ЮНГИН О.С., БЕЛИКОВА Е.Ю., ГЛАДКА Г.В., ТАШИРЕВ А.Б.

последовательностей генов 16S рРНК проводились по протоколам с использованием универсальных праймеров 27f (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') and 1492r (5'-GGC TAC CTT GTT ACG ACT T-3') [9]. Нуклеотидные последовательности данных генов использовались для определения близкородственных видов, филогенетического анализа и уточнения таксономического положения выделенных культур бактерий.

Сравнение последовательностей 16S рРНК штаммов проводили с использованием данных базы GenBank (<http://scihub.tw/http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) и программного пакета BLAST.

Устойчивость бактерий к токсичным металлам (Cd^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , CrO_4^{2-}) определяли в жидкой среде NB (HiMedia Ltd.). Стерильные растворы указанных металлов вносили в питательную среду для получения концентрационного градиента 0-1000 мг/л Cu^{2+} и CrO_4^{2-} , 0-500 мг/л Cd^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} . Концентрационный «шаг» составлял 10 мг/л для Co^{2+} , Ni^{2+} и CrO_4^{2-} , и 50 мг/л для Cu^{2+} и Cd^{2+} . Бактерии культивировали 7 суток при температуре 24°C стационарно. Ежедневно контролировали появление роста, изменение цветности раствора, выпадение осадка. По окончании культивирования колориметрически определяли наличие роста во всех вариантах с использованием КФК-2МП ($\lambda=540$ нм, длина оптического пути кюветы

0.5 см) [10].

Результаты и обсуждение.

Из почв, загрязненных CdCl_2 , были изолированы две чистые культуры – W9 и W4. Для определения таксономического положения необходимо использование комплекса фенотипических и молекулярно-генетических признаков. Поэтому был проведен сиквен-анализ на базе последовательностей генов 16S рРНК. Сравнительный анализ попарного подобия генов 16S рРНК выделенных бактерий с последовательностями генов 16S рРНК бактерий в базе GenBank представлен в таблице 1.

Высокий уровень родства выделенных штаммов был получен с *Brevundimonas vesicularis* FDAARGOS (NZ_CP022048.1) и *Cupriavidus gilardii* CR3 (NZ_CP010517.1).

Была установлена устойчивость выделенных культур к ионам токсичных металлов (табл. 2).

Выделенные культуры высокоустойчивы к токсичным металлам. Показатели устойчивости в десятки раз превышают общеизвестные. Так, МДК Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} для обеих культур находятся в диапазоне 100–500 мг/л, в то время, как для большинства хемоорганотрофных микроорганизмов не превышают 10–30 мг/л [11, 12]. Исключение составляют *Brevundimonas vesicularis* W9 (70 мг/л Co^{2+}) и *Cupriavidus gilardii* W4 (70 мг/л CrO_4^{2-}).

Таблица 1. Сравнительный анализ попарного подобия генов 16S рРНК выделенных бактерий с последовательностями генов 16S рРНК бактерий в базе GenBank

№ шт.	Виды бактерий, которые являются наиболее близкими к исследуемым штаммам (согласно программе BLASTN 2.2.28+)		
	GenBank accession No, вид, № штамма	Степень гомологии, %	Таксономическое положение
W9	NZ_CP022048.1 <i>Brevundimonas vesicularis</i> FDAARGOS	99,5	Alphaproteobacteria; Caulobacteraceae; <i>Brevundimonas</i>
	NZ_CP015614.1 <i>Brevundimonas naejangsanensis</i> B1	97,3	
	NZ_JNIX01000007.1 <i>Brevundimonas bacteroides</i> DSM47	97,3	
	NC_014375.1 <i>Brevundimonas subvibrioides</i> ATCC 15264	97,2	
	NZ_FOZV01000005.1 <i>Brevundimonas viscosa</i> CGMCC	99,0	
	NZ_AUAO01000001.1 <i>Brevundimonas aveniformis</i> DSM 17977	95,3	
W4	NZ_CP010517.1 <i>Cupriavidus gilardii</i> CR3	99,4	Proteobacteria; Betaproteobacteria; Burkholderiales; Burkholderiaceae; <i>Cupriavidus</i>
	NC_007974.2 <i>Cupriavidus metallidurans</i> CH34	98,8	
	NZ_BBQN01000185.1 <i>Cupriavidus pauculus</i> KF709	98,5	
	NC_015726.1 <i>Cupriavidus necator</i> N-1	97,9	
	NZ_CP010537.1 <i>Cupriavidus basilensis</i> 4G11	97,3	
	NC_003296.1 <i>Ralstonia solanacearum</i> GMI1000	96,2	

Таблица 2. Устойчивость выделенных культур к ионам токсичных металлов

Штамм	Максимально допустимые концентрации (МДК*), мг/л**				
	Cd ²⁺	Cu ²⁺	Co ²⁺	Ni ²⁺	CrO ₄ ²⁻
<i>Brevundimonas vesicularis</i> W9	200	100	70	400	200
<i>Cupriavidus gilardii</i> W4	500	400	100	100	70

Примечания: * – максимально допустимые концентрации – концентрации, при которых еще возможен рост штамма; ** – стандартное отклонение во всех вариантах эксперимента не превышало 10%, P<0,05.

На основе показателей резистентности были установлены ряды по возрастанию устойчивости для обеих культур:

Ni²⁺ > CrO₄²⁻ > Cd²⁺ > Cu²⁺ > Co²⁺ для *Brevundimonas vesicularis* W9, и

Cd²⁺ > Cu²⁺ > Ni²⁺ > Co²⁺ > CrO₄²⁻ для *Cupriavidus gilardii* W4.

Распределение устойчивости к ионам токсичных металлов для выделенных культур бактерий отличалось. Так, *Brevundimonas vesicularis* W9 оказался наименее устойчивым к Ni²⁺, на втором месте – CrO₄²⁻ и Cd²⁺, а наиболее устойчивым – к Cu²⁺ и Co²⁺. Штамм *Cupriavidus gilardii* W4 наименее устойчив к CrO₄²⁻, далее Ni²⁺ и Co²⁺, а наиболее устойчив к Cu²⁺ и Cd²⁺.

Высокая устойчивость к кадмию бактерий рода *Cupriavidus* описана в литературе [13–15]. Так, штамм *C. taiwanensis* EJ02 устойчив к кадмию в концентрации до 5 мМ/л [16]. Штамм *C. taiwanensis* KKU2500-3 устойчив к 2,5 мМ/л Cd²⁺ и способен трансформировать его в нетоксичный CdS [17]. Устойчивость и детоксикация ионов тяжелых металлов у вида *C. metallidurans* CH34 определяется наличием мегаплазмид pMOL28 и pMOL30, а также сигма и анти-сигма регуляторных белков CNR эффлюкс-системы (устойчивость к кобальту и никелю) [15]. С помощью биоинформатических исследований было показано, что последовательность мегаплазмиды pMOL30 *C. metallidurans* CH34 на 100% гомологична последовательности в *C. gilardii* CR3. Возможно, что устойчивость выделенного нами штамма *C. gilardii* W4 также определяется наличием данных генов, однако это остается предметом дальнейших исследований.

Вероятно, высокая устойчивость выделенных культур обеспечивается также и спо-

собностью взаимодействовать с ионами токсичных металлов. Такое взаимодействие может проявляться несколькими способами:

1) сорбция и осаждение ионов металлов экзогенными соединениями (например, *Bacillus megaterium*, *Nocardia carolina*);

2) образование комплексных соединений с металлами благодаря синтезу хеллаторов (например, *Alcaligenes faecalis*);

3) образование нерастворимых, а значит нетоксичных, соединений с микробными экзо-метаболитами (например, *Klebsiella aerogenes*, *Citrobacter freundii*);

4) синтез специальных белков, которые связывают ионы токсичных металлов (например, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) [18].

Для культуры *Brevundimonas vesicularis* описана устойчивость к Ni²⁺ и Cu²⁺ [19], а также способность этой культуры сорбировать ионы тяжелых металлов [4]. Большинство исследований последних лет сосредоточены на способности этого вида сорбировать ионы токсичных металлов (CrO₄²⁻, Ag⁺, Hg²⁺, Pb²⁺) инактивированной биомассой [4, 20, 21], однако отсутствуют данные об устойчивости метаболически активной культуры.

Выводы

Таким образом, было изолировано два штамма металлрезистентных бактерий, имеющих высокое генетическое сходство с *Brevundimonas vesicularis* и *Cupriavidus gilardii*. Оба штамма высокоустойчивы к ряду наиболее токсичных металлов и могут быть использованы для создания новых природоохранных биотехнологий.

Литература

1. Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. Устойчивость растений к кадмию (на примере семейства злаков): учебное пособие; Институт биологии Карельского научного центра РАН. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2012. 55 с.
2. Nies D.H. Microbial heavy-metal resistance. *Applied microbiology and biotechnology*. 1999. 51 (6). P. 730–750.

3. Abou-Shanab R.A.I., Van Berkum P., Angle J.S. Heavy metal resistance and genotypic analysis of metal resistance genes in gram-positive and gram-negative bacteria present in Ni-rich serpentine soil and in the rhizosphere of *Alyssum murale*. *Chemosphere*. 2007. 68 (2). P. 360–367.
4. Resmi G., Thampi S.G., Chandrasekaran S. *Brevundimonas vesicularis*: a novel bio-sorbent for removal of lead from wastewater. 2010. P. 281–288.
5. Silver S. Genes for all metals – a bacterial view of the periodic table. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 1998. 20 (1). P. 1–12.
6. Liu P., Chen X., Huang Q., Chen W. The Role of CzcRS Two-component systems in the heavy metal resistance of *Pseudomonas putida* X4. *International journal of molecular sciences*. 2015. 16 (8). P. 17005–17017.
7. Dokpikul, T., Chaoprasid, P., Saninjuk, K., Sirirakphaisarn, S., Johnrod, J., Nookabkaew, S., Mongkolsuk, S. Regulation of the cobalt/nickel efflux operon *dmeRF* in *Agrobacterium tumefaciens* and a link between the iron-sensing regulator *RirA* and cobalt/nickel resistance. *Applied and environmental microbiology*. 2016. 82 (15). P. 4732–4742.
8. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М., Колотилова Н.Н. Учебное пособие по микробиологии. М.: Академия, 2005. 608 с.
9. Stackebrandt E., Goebel B.M. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 1994. 44 (4). P. 846–849.
10. Tashyrev O.B., Suslova O.S., Rokitko P.V., Oleksenko H.O., Bondar K.M. Resistance of karst caverns nitrogen-fixing bacteria to extreme factors. *Biotechnologia Acta*, 2014. 7 (5). P. 43.
11. Limcharoensuk T., Sooksawat N., Sumarnrote A., Awutpet T., Kruatrachue M., Pokethitiyook P., Auesukaree C. Bioaccumulation and biosorption of Cd²⁺ and Zn²⁺ by bacteria isolated from a zinc mine in Thailand. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2015. 122. P. 322–330.
12. Gullberg E., Albrecht L.M., Karlsson C., Sandegren L., Andersson D.I. Selection of a multidrug resistance plasmid by sublethal levels of antibiotics and heavy metals. 2014. *MBio*. 5 (5). e01918-14.
13. Shamim S., Rehman A., Qazi M.H. Cadmium-resistance mechanism in the bacteria *Cupriavidus metallidurans* CH34 and *Pseudomonas putida* mt2. *Archives of environmental contamination and toxicology*. 2014. 67 (2). P. 149–157.
14. Zeng X., Wu L., Li W., Zhu S., Wei B., Tang J., Tan Y. Characterization of Strain *Cupriavidus* sp. ZSK and Its Biosorption of Heavy Metal Ions. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*. 2017. 11 (2). P. 154–158.
15. Mergeay M., Van Houdt R. (Eds.). *Metal Response in Cupriavidus metallidurans: Volume I: From Habitats to Genes and Proteins*. Springer, 2015.
16. Chen L., Luo S., Li X., Wan Y., Chen J., Liu C. Interaction of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and functional endophyte *Pseudomonas* sp. Lk9 on soil heavy metals uptake. *Soil Biology and Biochemistry*. 2014. 68. P. 300–308.
17. Punjee P., Siripornadulsil W., Siripornadulsil S. Reduction of cadmium uptake in rice endophytically colonized with the cadmium-tolerant bacterium *Cupriavidus taiwanensis* KCU2500-3. *Canadian journal of microbiology*. 2017. ja.
18. Таширев А.Б. Теоретические аспекты взаимодействия микроорганизмов с металлами. Восстановительная трансформация металлов. *Микробиол. журн.* 1994. 56, № 6. С. 76–88.
19. Singh N., Gadi R. Bioremediation of Ni(II) and Cu(II) from wastewater by the nonliving biomass of *Brevundimonas vesicularis*. *J. Environ. Chem. Ecotoxi.* 2012. 4 (8). P. 137–142.
20. Lima e Silva A.A.D., Carvalho M.A., de Souza S.A., Dias P.M.T., Silva Filho R.G.D., Saramago C.S., Hofer E. Heavy metal tolerance (Cr, Ag and Hg) in bacteria isolated from sewage. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2012. 43 (4). P. 1620–1631.
21. Aryal M., Liakopoulou-Kyriakides M. Bioremoval of heavy metals by bacterial biomass. *Environmental monitoring and assessment*. 2015. 187 (1). P. 4173.

References

1. Titov A.F., Kaznina N.M., Talanova V.V. Plant resistance to cadmium (*Poaceae* study): Handbook; Institute of Biology Karelian Research Center of RAS. Petrozavodsk: Karelian Research Center of RAS, 2012. 55 s.
2. Nies D.H. Microbial heavy-metal resistance. *Applied microbiology and biotechnology*. 1999. 51 (6). P. 730–750.
3. Abou-Shanab R.A.I., Van Berkum P., Angle J.S. Heavy metal resistance and genotypic analysis of metal resistance genes in gram-positive and gram-negative bacteria present in Ni-rich serpentine soil and in the rhizosphere of *Alyssum murale*. *Chemosphere*. 2007. 68 (2). P. 360–367.
4. Resmi G., Thampi S.G., Chandrasekaran S. *Brevundimonas vesicularis*: a novel bio-sorbent for removal of lead from wastewater. 2010. P. 281–288.
5. Silver S. Genes for all metals – a bacterial view of the periodic table. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 1998. 20 (1). P. 1–12.
6. Liu P., Chen X., Huang Q., Chen W. The Role of CzcRS Two-component systems in the heavy metal resistance of *Pseudomonas putida* X4. *International journal of molecular sciences*. 2015. 16 (8). P. 17005–17017.
7. Dokpikul, T., Chaoprasid, P., Saninjuk, K., Sirirakphaisarn, S., Johnrod, J., Nookabkaew, S., Mongkolsuk, S. Regulation of the cobalt/nickel efflux operon *dmeRF* in *Agrobacterium tumefaciens* and a link between the iron-sensing regulator *RirA* and cobalt/nickel resistance. *Applied and environmental microbiology*. 2016. 82 (15). P. 4732–4742.
8. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М., Колотилова Н.Н. Workshop on Microbiology. Handbook. Moscow: Academy, 2005. 608 p.
9. Stackebrandt E., Goebel B.M. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 1994. 44 (4). P. 846–849.

10. Tashyrev O.B., Suslova O.S., Rokitko P.V., Oleksenko H.O., Bondar K.M. Resistance of karst caverns nitrogen-fixing bacteria to extreme factors. *Biotechnologia Acta*, 2014. 7 (5). P. 43.
11. Limcharoensuk T., Sooksawat N., Sumarnrote A., Awutpet T., Kruatrachue M., Pokethitiyook P., Auesukaree C. Bioaccumulation and biosorption of Cd^{2+} and Zn^{2+} by bacteria isolated from a zinc mine in Thailand. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2015. 122. P. 322–330.
12. Gullberg E., Albrecht L.M., Karlsson C., Sandegren L., Andersson D.I. Selection of a multidrug resistance plasmid by sublethal levels of antibiotics and heavy metals. 2014. *MBio*. 5 (5). e01918-14.
13. Shamim S., Rehman A., Qazi M.H. Cadmium-resistance mechanism in the bacteria *Cupriavidus metallidurans* CH34 and *Pseudomonas putida* mt2. *Archives of environmental contamination and toxicology*. 2014. 67 (2). P. 149–157.
14. Zeng X., Wu L., Li W., Zhu S., Wei B., Tang J., Tan Y. Characterization of Strain *Cupriavidus* sp. ZSK and Its Biosorption of Heavy Metal Ions. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*. 2017. 11 (2). P. 154–158.
15. Mergeay M., Van Houdt R. (Eds.). *Metal Response in Cupriavidus metallidurans: Volume I: From Habitats to Genes and Proteins*. Springer, 2015.
16. Chen L., Luo S., Li X., Wan Y., Chen J., Liu C. Interaction of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and functional endophyte *Pseudomonas* sp. Lk9 on soil heavy metals uptake. *Soil Biology and Biochemistry*. 2014. 68. P. 300–308.
17. Punjee P., Siripornadulsil W., Siripornadulsil S. Reduction of cadmium uptake in rice endophytically colonized with the cadmium-tolerant bacterium *Cupriavidus taiwanensis* KCU2500-3. *Canadian journal of microbiology*. 2017. ja.
18. Tashyrev A.B. Theoretical aspects of microbial interactions with metals. Reduction transformation of metals. *Mikrobiol. zhurn.* 1994. 56 (№ 6). S. 76–88.
19. Singh N., Gadi R. Bioremediation of Ni(II) and Cu(II) from wastewater by the nonliving biomass of *Brevundimonas vesicularis*. *J. Environ. Chem. Ecotoxi.* 2012. 4 (8). P. 137–142.
20. Lima e Silva A.A.D., Carvalho M.A., de Souza S.A., Dias P.M.T., Silva Filho R.G.D., Saramago C.S., Hofer E. Heavy metal tolerance (Cr, Ag and Hg) in bacteria isolated from sewage. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2012. 43 (4). P. 1620–1631.
21. Aryal M., Liakopoulou-Kyriakides M. Bioremoval of heavy metals by bacterial biomass. *Environmental monitoring and assessment*. 2015. 187 (1). P. 4173.

IUNGIN O.S., BIELIKOVA O.Y., GLADKA G.V., TASHYREV O.B.

Institute of Microbiology and Virology of the NAS of Ukraine,

Ukraine, 03143, Kiev, Zabolotny str., 154, e-mail: olga.suslova11@gmail.com

GENETIC POTENTIAL OF BACTERIA ISOLATED FROM CADMIUM CONTAMINATED SOILS

Aim. Determination of taxonomic position and resistance to Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , CrO_4^{2-} of isolated bacteria from cadmium-contaminated soils. **Methods.** Bacterial cultures were isolated by ten-fold dilutions and further cultivation on agarized nutrient medium. Taxonomic position of isolated cultures was determined by molecular-genetic methods using GenBank and BLAST. Bacterial resistance to toxic metals was determined by strains cultivation in liquid medium in the presence of concentration gradient of Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , CrO_4^{2-} . **Results.** Isolated cultures were highly resistance to cadmium. These bacterial cultures were identified as *Brevundimonas vesicularis* and *Cupriavidus gilardii* by phenotypic and molecular-genetic characteristics. Their resistance was in one order higher comparing to generally accepted. **Conclusions.** Isolated strains are promising for using in novel industrial biotechnologies for metal containing wastewater treatment.

Keywords: metalresistance, toxic metals, taxonomic position, *Cupriavidus gilardii*, *Brevundimonas vesicularis*.

ЮНГІН О.С., БЄЛІКОВА О.Ю., ГЛАДКА Г.В., ТАШИРЕВ О.Б.

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,

Україна, 03143, м. Київ, вул. Заболотного, 154, e-mail: olga.suslova11@gmail.com

ГЕНЕТИЧНИЙ ПОТЕНЦІАЛ БАКТЕРІЙ, ЩО ВИДІЛЕНІ ІЗ ЗАБРУДНЕНИХ КАДМІЄМ ГРУНТІВ

Мета. Визначення таксономічного положення та стійкості виділених із забруднених кадмієм ґрунтів бактеріальних культур до іонів токсичних металів – Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , CrO_4^{2-} . **Методи.** Культури бактерій виділяли методом граничних розведень і подальшим висівом на агаризовані живильні середовища. Їх таксономічне положення визначали молекулярно-генетичними методами з використанням ресурсів GenBank і BLAST. Стійкість бактерій до іонів токсичних металів встановлювали культивуванням у рідких живильних середовищах за присутності концентраційного градієнта Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , CrO_4^{2-} . **Результати.** Виділені культури були високостійкими до кадмію. За фенотиповими та молекулярно-генетичними ознаками виділені культури були віднесені до *Brevundimonas vesicularis* і *Cupriavidus gilardii*. Їхня стійкість до вказаних металів на порядок перевищує загальновідомому. **Висновки.** Виділені штами перспективні для використання в нових природоохоронних біотехнологіях для очистки металовмісних стічних вод.

Ключові слова: металрезистентність, токсичні метали, таксономічне положення, *Cupriavidus gilardii*, *Brevundimonas vesicularis*.