

УДК 579.266/68(477)

ФІЗІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ТА УЛЬТРАСТРУКТУРА КЛІТИН СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ ВОДОЙМИ КАР'ЄРУ РОЗДІЛЬСЬКОГО СІРКОВОГО РОДОВИЩА

О.М. Мороз, І.Я. Мурза, О.Р. Кулачковський

Фізіологічні особливості та ультраструктура клітин сульфатвідновлювальних бактерій водойми кар'єру Роздільського сіркового родовища. - О.М. Мороз, І.Я. Мурза, О.Р. Кулачковський. – З водойми кар'єру Роздільського сіркового родовища виділено 10 чистих культур сульфатвідновлювальних бактерій. Їх ріст спостерігали лише на селективному середовищі Кравцова-Сорокіна. Жодна з культур не здатна до спороутворення. Оптимальними для росту виявилися температури 14-30° С, рН 6-9. Всі культури активно утворювали сірководень під час культивування у середовищі Кравцова-Сорокіна: 29,53-70,20 мг/л, і нагромаджували ацетат: 0,24-0,35 г/л. Подібно до контрольних штамів *Desulfovibrio desulfuricans*, у присутності сульфатів клітини всіх культур утилізували фумарат, піруват, сукцинат, малонат, глюкозу, цитрат та лактат, але не росли з використанням бензоату, ацетату натрію, холіну і пальмітату. У відсутності сульфатів клітини не засвоювали жодної органічної сполуки. Сірку як акцептор електронів культури теж не використовували. Зроблено висновок про приналежність всіх виділених чистих культур до представників другої підгрупи сульфатвідновлювальних бактерій згідно Берджі, здатних окиснювати органічні субстрати неповністю, лише до ацетату. Морфологія клітин всіх культур типова для сульфатвідновлювальних бактерій: клітини поодинокі, паличковидні або віброїдні, у діаметрі 0,5–2,5 мкм, оточені клітинною стінкою та цитоплазматичною мембраною, у цитоплазмі видно нуклеоїд, рибосоми.

Ключові слова: сульфатвідновлювальні бактерії, сірководень

Адреса: Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005, Україна, e-mail: biolog@franko.lviv.ua

Physiological peculiarities and ultrastructure of sulfur reducing bacteria cells from water of Rozdil sulfur deposit open pit. - O.M. Moroz, I.Ya. Murza, O.R. Kulachkovsky. – From water of Rozdil sulfur deposit open pit 10 pure sulfur reducing bacteria cultures were isolated. Their growth was seen only on selective Kravtsov-Sorokin's medium. Cultures don't form spores. Optimal to growth were temperatures 14-30° C and pH 6-9. All cultures actively made hydrogen sulfide during cultivation in Kravtsov-Sorokin's medium: 29,53-70,20 mg/l, and accumulated acetate: 0,24-0,35 g/l. Like as control strains *Desulfovibrio desulfuricans*, in presence of sulfates the cells of all cultures utilized fumarate, pyruvate, succinate, malonate, glucose, citrate and lactate, but didn't use for growth benzoate, sodium acetate, choline and palmitate. In absence of sulfates the cells didn't use any organic compound. Also cultures didn't use sulfur as electron acceptor. It was made conclusion, that all isolated pure cultures belong to representatives of second subgroup of sulfur reducing bacteria according Bergey, able to oxidize organic substrates not completely, but only to acetate. Morphology of all cultures cells typical to sulfur reducing bacteria: cells are single, with bacillar or vibroid form, 0,5-2,5 mkm in diameter, surrounded by cell's wall and cytoplasmic membrane, in cytoplasm were seen nucleoid, ribosomes.

Key words: sulfur reducing bacteria, hydrogen sulfide

Address: Ivan Franko National University of L'viv, Hrushevsky Str., 4, Lviv 79005, Ukraine, e-mail: biolog@franko.lviv.ua

Вступ

Основна роль в утворенні сірководню в природі належить сульфатвідновлювальним бактеріям. Вони використовують сульфати та інші окиснені сполуки сірки як акцептори електронів у дисиміляційній сульфатредукції, донором електронів при цьому слугує молекулярний водень, а також органічні субстрати.

За морфологією клітини сульфатвідновлювальних бактерій овальні, паличковидні чи

спіральні, у діаметрі 0,4-3,0 мкм, окремі або в агрегатах, більшість родів грамнегативні, рухливі за рахунок джгутиків, нитчасті форми здатні до ковзного руху. Строгі анаероби. Сульфатвідновлювальні бактерії поширені в природних середовищах з діапазоном рН 4,15-9,92 і Eh +115 - -450 мВ. Чисті культури розвиваються в середовищах з рН 5,0-9,5 і при початковій величині Eh -100 мВ. Кислотостійкі

форми не виявлені. В природних умовах процес сульфатредукції спостерігається у широкому діапазоні температур, від 0 до 100° С [14]. Сульфатвідновлювальні бактерії відновлюють сульфат і в небагатьох випадках сірку до сірководню, на відміну від сірководновідновлювальних бактерій, нездатних відновлювати сульфат або інші оксоаніони сірки. Окиснення органічних сполук або неповне, з утворенням ацетату, або повне, з утворенням CO₂. Різні види сульфатвідновлювальних бактерій можуть здійснювати хемолітоавтотрофний, хемолітогетеротрофний та хемоорганогетеротрофний ріст [10, 14].

Сульфатвідновлювальні бактерії поширені у природі в місцях з низьким окисно-відновним потенціалом. У водоймах такими екологічними нішами є придонні осади, а також товща придонної води. Особливо важливу роль вони відіграють в місцях розробки сіркових родовищ, де за їх участю активно відбуваються процеси відновлення окиснених сполук сірки з утворенням сірководню, токсичного для довкілля [2, 4].

Метою роботи було вивчити поширення сульфатвідновлювальних бактерій у водоймі кар'єру Роздільського сіркового родовища і виділити їх чисті культури.

Матеріал і методики

В роботі використано штами сульфатвідновлювальних бактерій: *Desulfovibrio desulfuricans K-45 ВКМ* (Всеукраїнська колекція мікроорганізмів, Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України), *D. desulfuricans Ya-11* (колекція к.б.н., асист. Перетятка Т. Б., кафедра мікробіології ЛНУ імені Івана Франка) [12] та чисті культури сульфатвідновлювальних бактерій, виділені з водойми кар'єру Роздільського державного гірничо-хімічного підприємства (ДГХП) "Сірка".

Зразки води відбирали з глибини 30 м батометром за методом Столбунова-Рябова [13]. Нагромаджувальні культури отримали висівом водних проб у середовище Кравцова-Сорокіна [6]. Після 7 діб культивування за анаеробних умов при 30° С спостерігали наявність колоній сульфатвідновлювальних бактерій, забарвлених у чорний колір, в результаті утворення FeS, оскільки середовище містило залізо II у формі солі Мора. Нагромаджувальну культуру (0,5 мл) висівали в пробірки, доверху заповнювали рідким середовищем Кравцова-Сорокіна, щільно закривали стерильними гумовими корками. Після 7 діб культивування 0,05 мл суспензії висівали в агаризоване середовище Кравцова-Сорокіна для отримання окремих колоній. Окремі колонії відбирали, переносили у пробірки і заповнювали рідким середовищем Кравцова-Сорокіна. Найбільш інтенсивно забарвлені у чорний колір

10 культур висівали у рідке середовище Кравцова-Сорокіна, яке не містило солі Мора. Культури перевіряли на чистоту, вивчали морфологічні особливості згідно з Берджі [10].

Культури перевіряли на чистоту за ростом на різних середовищах: м'ясо-пептонному агарі (МПА), сусло-агарі, крохмало-аміачному агарі (КАА), середовищах Гільтая, Баалсруда, Ван Ніля, Кравцова-Сорокіна [3]. Культивування здійснювали на протязі 14 діб при 30° С. Наявність чи відсутність росту фіксували візуально.

Здатність бактерій до споруутворення визначали як описано [8, 11]. Суспензію клітин після прогрівання на водяній бані при 80° С впродовж 10 хв висівали у агаризоване середовище та культивували за анаеробних умов протягом 14 діб. Для визначення наявності спор клітини фарбували за методом Пешкова [3], морфологію вивчали під світловим мікроскопом (x1600).

Перевіряли ріст культур при 4, 14, 20, 30, 45° С та рН 4, 5, 6, 7, 9. Клітини культивували у рідкому середовищі Кравцова-Сорокіна без солі Мора у пробірках в термостаті, визначали біомасу на початку і після 7 діб росту.

Біомасу бактерій після вирощування у рідкому середовищі визначали за мутністю суспензії клітин шляхом її фотометрування на фотоелектроколориметрі КФК-3 при 340 нм у кюветі з оптичним шляхом 3 мм і розраховували за формулою: $C, \text{ г/л} = (E_{340} \times n) / 0,19$, де E_{340} - екстинкція при 340 нм; n - фактор розведення; 0,19 - коефіцієнт перерахунку, отриманий за калібрувальною кривою залежності екстинкції від сухої маси клітин.

Сірководень у культуральній рідині визначали йодометричним методом [7], ацетат – як описано у праці [1].

Для вивчення здатності бактерій засвоювати різні джерела вуглецю, використовуючи їх як донори електронів, у середовище Кравцова-Сорокіна без солі Мора з сульфатами та без замість лактату у еквімолярній кількості додавали бензоат, fumarат, піруват, сукцинат, малонат, ацетат Na, глюкозу, холін, пальмітат чи цитрат. Для перевірки росту отриманих культур у присутності різних акцепторів електронів клітини культивували у модифікованому середовищі Кравцова-Сорокіна, яке містило замість сульфатів елементну сірку (0,5%). Біомаса при засіві клітин всіх культур була приблизно однаковою (0,05 – 0,09 г/л). Клітини культивували впродовж 14 діб, визначали біомасу.

Фіксовані фуксином препарати сульфатвідновлювальних бактерій переглядали під світловим мікроскопом *Ergaval* (x1440) за допомогою програми *Win Fast*, фотографування здійснювали з використанням *High performance color CCD camera "Vision"*.

Для електронномікроскопічних досліджень ультраструктури клітини двічі відмивали дистильованою водою і осаджували центрифугуванням при 8000 об/хв впродовж 10 хв. Клітини 20 хв фіксували в 1,5% водному розчині $KMnO_4$ при кімнатній температурі. Постфіксацію проводили з використанням 1% OsO_4 у какодилатному буфері протягом 90 хв при 0° С. Фіксовані клітини промивали, обезводнювали в розчинах із зростаючими концентраціями етанолу і оксиду пропілену. Далі зразки переносили в епоксидну смолу *Epon 812*. Ультратонкі зрізи отримували на ультратомі УМТП-6 і контрастували цитратом свинцю [15]. Перегляд і фотографування зразків проводили на електронному трансмісійному мікроскопі ПЕМ-100 за прискорювальної напруги 75 кВ. Кінцеве збільшення на мікрофотографіях –15 тис. разів.

Статистичну обробку проводили як описано у праці [5].

Результати досліджень та їх обговорення

У районі недіючого ДГХП “Сірка” склалася складна екологічна ситуація у зв’язку з забрудненням довкілля великою кількістю агресивних сполук сірки. Запропоновано ряд проектів з вирішення проблем Роздільського сіркового родовища. Одним із них є затоплення кар’єру, що розпочалося у 2002 році. На даний час глибина затоплення перевищує 40 м. Мікробіологічні процеси, що відбуваються у водоймі, досліджуються недостатньо, а наслідки затоплення залишаються непередбачуваними.

Відомо, що індикатором екологічного стану водойм служить розвиток різних фізіологічних груп мікроорганізмів та їх функціональний стан [4, 9]. У штучній водоймі техногенного походження з підвищеним вмістом сульфатів, такий як водойма кар’єру Роздільського сіркового родовища, основним індикатором є сульфатвідновлювальні бактерії, від життєдіяльності яких залежить інтенсивність процесу дисиміляційної сульфатредукції та кількість сірководню у воді [4].

З глибини 30 м водойми кар’єру Роздільського сіркового родовища відібрано проби води, з яких на середовищі Кравцова-Сорокіна отримано нагромаджувальні культури та виділено 10 культур сульфатвідновлювальних бактерій.

Для перевірки на чистоту вивчали ріст виділених культур за анаеробних умов у неселективних середовищах: МПА (для сапрофітів), сусло-агар (для мікроскопічних грибів і дріжджів), КАА (для мікроорганізмів, що використовують мінеральні форми азоту, в тому числі актиноміцетів), Гільтая (для денітрифікаторів), Баалсруда (для *Thiobacillus denitrificans*), Ван Ніля (для фотосинтезувальних пурпурових і зелених сіркобактерій), та селективному для сульфатвідновлювальних бактерій середовищі Кравцова-Сорокіна (табл. 1). Оскільки ріст всіх культур спостерігався лише у середовищі Кравцова-Сорокіна, припустили, що отримані бактерії - сульфатвідновлювальні.

Таблиця 1. Ріст сульфатвідновлювальних бактерій на різних середовищах*

Культура	Середовище						
	МПА	Сусло-агар	КАА	Гільтая	Баалсруда	Ван Ніля	Кравцова-Сорокіна
<i>R-1</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>R-3</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>R-4</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>R-6</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>R-7</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>R-8</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>R-10</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>R-12</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>R-15</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>R-19</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>D. desulfuricans</i> <i>Ya-11</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>D. desulfuricans</i> <i>K-45 ВКМ</i>	-	-	-	-	-	-	+

*Примітка: “+” – наявність росту; “-” – відсутність росту

За відсутністю росту інкубованих при +80° С впродовж 10 хв культур у агаризованому середовищі Кравцова-Сорокіна, а також в результаті вивчення морфології клітин після фарбування для виявлення спор за Пешковим, зробили висновок про те, що жодна з культур здатністю до спорування не володіла (табл.

2). Тому можна вважати, що з-поміж ізольованих культур відсутні представники єдиного серед сульфатвідновлювальних бактерій споротвірного роду *Desulfotomaculum* (перша з чотирьох підгрупа сульфатвідновлювальних бактерій згідно з Берджі) [10].

Таблиця 2. Здатність сульфатвідновлювальних бактерій до спорування*

Культура	Наявність спор у разі фарбування за Пешковим	Ріст	
		перед інкубацією при +80° С	після інкубації при +80° С впродовж 10 хв
<i>R-1</i>	-	+	-
<i>R-3</i>	-	+	-
<i>R-4</i>	-	+	-
<i>R-6</i>	-	+	-
<i>R-7</i>	-	+	-
<i>R-8</i>	-	+	-
<i>R-10</i>	-	+	-
<i>R-12</i>	-	+	-
<i>R-15</i>	-	+	-
<i>R-19</i>	-	+	-
<i>D. desulfuricans Ya-11</i>	-	+	-
<i>D. desulfuricans K-45 ВКМ</i>	-	+	-

*Примітка: “+” – наявність спор та росту; “-” – відсутність спор та росту

Вивчено вплив температури (+4, +14, +20, +30, +45° С) на ріст сульфатвідновлювальних бактерій у середовищі Кравцова-Сорокіна (рис. 1). Оптимальними температурами для росту культур є 14-30° С, найвища біомаса спостерігалася після 7 діб росту при 30° С у культури *R-3* - 1,95±0,01 г/л, яка незначно відрізнялася від біомаси *Desulfobrevibacterium desulfuricans K-45 ВКМ*: 1,56±0,06 г/л, та *D. desulfuricans Ya-11*: 1,40±0,02 г/л.

Досліджено вплив кислотності середовища (рН 4, 5, 6, 7, 9) на ріст сульфатвідновлювальних бактерій у середовищі Кравцова-Сорокіна (рис. 2). Найкраще культури росли у середовищах з рН 6-9. При рН 9 за 7 діб культура *R-15* нагромаджувала найвищу серед інших культур біомасу - 2,01±0,01 г/л, яка незначно відрізнялася від біомаси *D. desulfuricans K-45 ВКМ*: 2,01±0,02 г/л, і *D. desulfuricans Ya-11*: 1,50±0,04 г/л.

Відомо, що окиснення органічних сполук сульфатвідновлювальними бактеріями може бути або неповним, з утворенням ацетату (у представників другої підгрупи сульфатвідновлювальних бактерій згідно з Берджі), або повним, з утворенням CO₂ (у представників першої, третьої і четвертої підгруп) [10]. Вивчали кінетику утворення сірководню та рівень нагромадження ацетату виділеними культурами під час росту впродовж 14 діб у

середовищі Кравцова-Сорокіна (рис. 3-5). За цей час біомаса всіх досліджуваних культур сульфатвідновлювальних бактерій становила від 1,92±0,01 до 2,32±0,02 г/л (див. рис. 3). На 14 добу максимальна кількість сірководню нагромаджувалася культурою *R-19* і становила 70,20±0,22 мг/л, що перевищувало концентрації сірководню, який утворився контрольними штамами: *D. desulfuricans K-45 ВКМ*: 51,16±0,17 мг/л, і *D. desulfuricans Ya-11*: 36,34±0,38 мг/л. Найменше сірководню утворювала культура *R-1*: 29,53±0,01 мг/л (див. рис. 4). Всі отримані культури нагромаджували у культуральній рідині ацетат (0,24±0,01 – 0,35±0,01 г/л), подібно до *D. desulfuricans K-45 ВКМ*: 0,26±0,03 г/л і *D. desulfuricans Ya-11*: 0,23±0,02 г/л (див. рис. 5).

Клітини ізольованих культур вирощували у середовищі Кравцова-Сорокіна впродовж 14 діб з сульфатами та без них, з додаванням лактату (контроль), бензоату, фумарату, пірувату, сукцинату, малонату, ацетату, глюкози, холіну, пальмітату і цитрату, а також з елементною сіркою (0,5%) та лактатом (табл. 3-4). Як показали проведені дослідження, клітини всіх культур у присутності сульфатів утилізували фумарат, піруват, сукцинат, малонат, глюкозу, цитрат та лактат, але не росли з використанням бензоату, ацетату натрію, холіну і пальмітату (див. табл. 3).

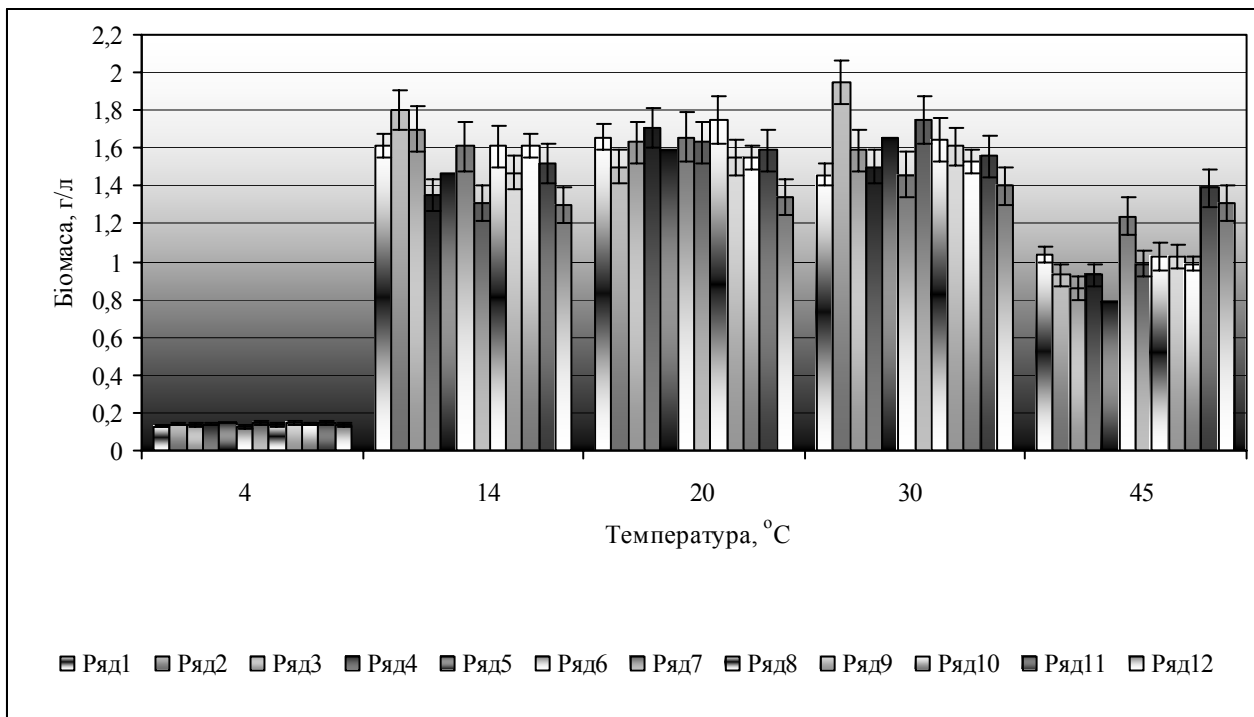


Рис. 1. Вплив температури на ріст сульфатвідновлювальних бактерій. Культури *R-1* (1), *R-3* (2), *R-4* (3), *R-6* (4), *R-7* (5), *R-8* (6), *R-10* (7), *R-12* (8), *R-15* (9), *R-19* (10), *D. desulfuricans* *Ya-11*(11), *D. desulfuricans* *K-45 BKM* (12) культивували впродовж 7 діб у середовищі Кравцова-Сорокіна.

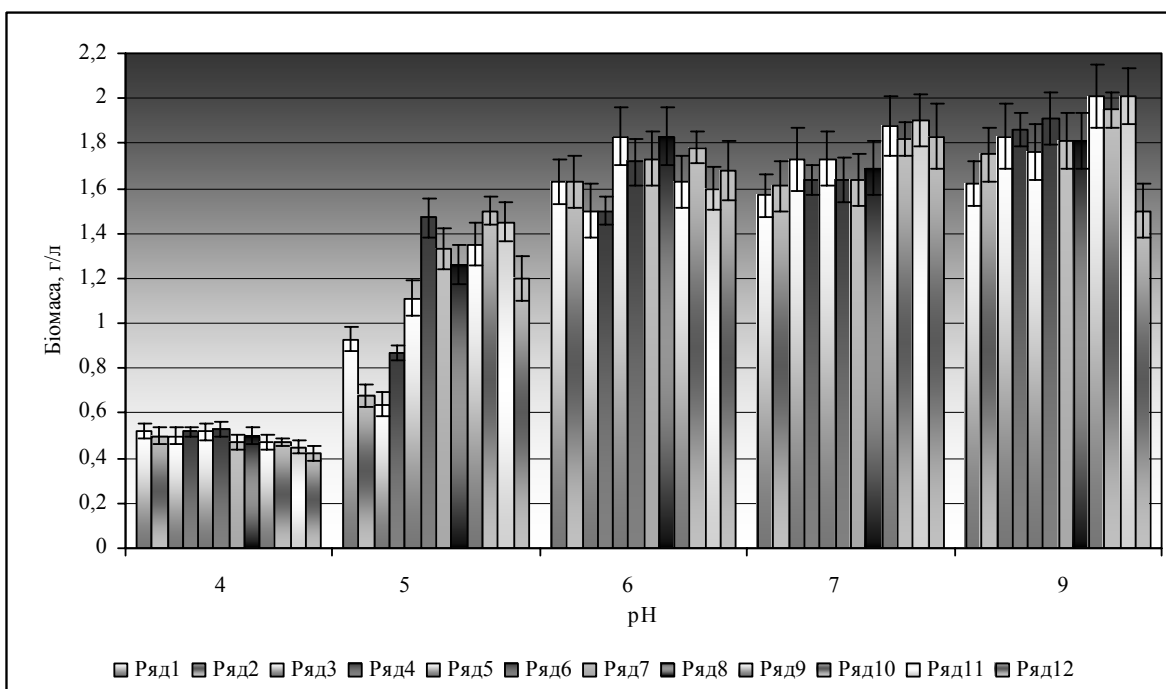


Рис. 2. Вплив кислотності середовища на ріст сульфатвідновлювальних бактерій. Культури *R-1* (1), *R-3* (2), *R-4* (3), *R-6* (4), *R-7* (5), *R-8* (6), *R-10* (7), *R-12* (8), *R-15* (9), *R-19* (10), *D. desulfuricans* *Ya-11*(11), *D. desulfuricans* *K-45 BKM* (12) культивували впродовж 7 діб у середовищі Кравцова-Сорокіна.

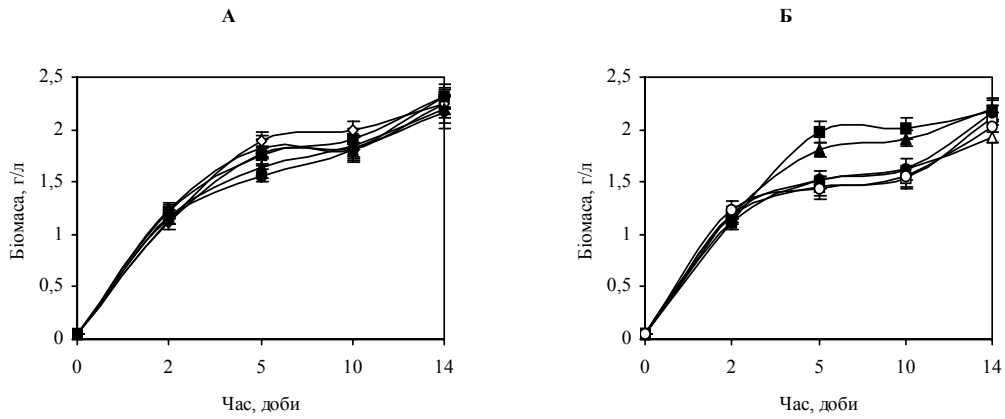


Рис. 3. Ріст у середовищі Кравцова-Сорокіна культур сульфатвідновлювальних бактерій. А: R-1 (■), R-3 (Δ), R-4 (◇), R-6 (◆), R-7 (●), R-8 (▲); Б: R-10 (□), R-12 (▲), R-15 (Δ), R-19 (■), *D. desulfuricans* Ya-11(●), *D. desulfuricans* K-45 BKM (○).

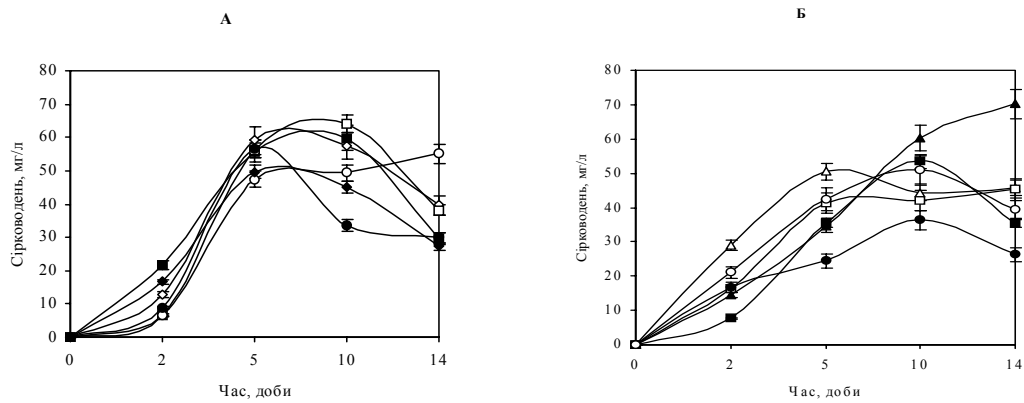


Рис. 4. Утворення сірководню під час росту у середовищі Кравцова-Сорокіна культур сульфатвідновлювальних бактерій. А: R-1 (■), R-3 (◇), R-4 (□), R-6 (○), R-7 (◆), R-8 (●); Б:

R-10 (■), R-12 (Δ), R-15 (□), R-19 (▲), *D. desulfuricans* Ya-11(●), *D. desulfuricans* K-45 BKM (○).

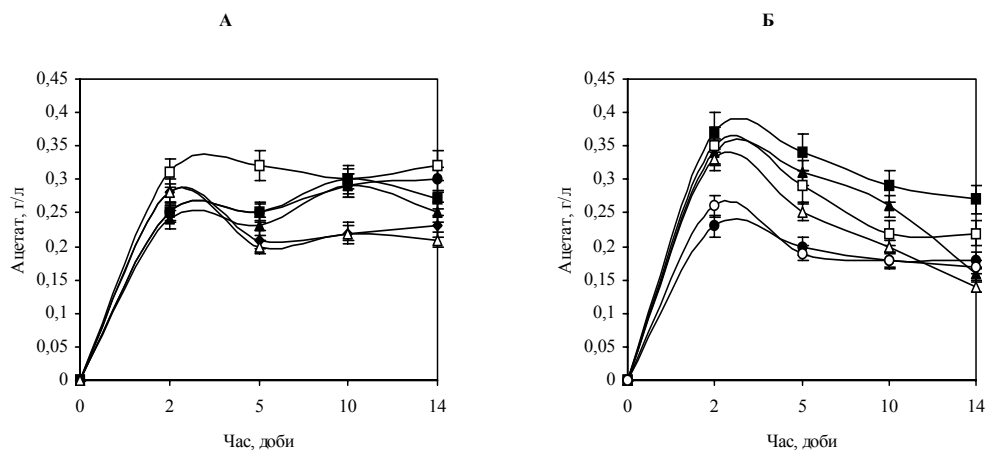


Рис. 5. Нагромадження ацетату під час росту у середовищі Кравцова-Сорокіна культур сульфатвідновлювальних бактерій. А: R-1 (□), R-3 (▲), R-4 (■), R-6 (◆), R-7 (●), R-8 (Δ); Б:

R-10 (■), R-12 (▲), R-15 (Δ), R-19 (□), *D. desulfuricans* Ya-11(●), *D. desulfuricans* K-45 BKM (○).

Оскільки всі культури нагромаджували у середовищі культивування ацетат, логічно, що ацетат натрію не забезпечував їх ріст. У відсутності сульфатів клітини не росли за наявності жодної з органічних сполук як донора електронів. У присутності сірки як акцептора електронів та лактату як донора електронів клітини всіх досліджуваних культур теж не росли (див. табл. 4), що може бути свідченням відсутності представників четвертої підгрупи за Берджі (*Desulfurella* і *Desulfuromonas*). Таким чином, характер утилізації органічних сполук у присутності та без сульфатів, а також S^0 , клітинами всіх культур виявився подібним до контрольних штамів *D. desulfuricans*, що дозволило зробити припущення про можливу їх приналежність до представників другої підгрупи

сульфатвідновлювальних бактерій, які окиснюють органічні субстрати неповністю, лише до ацетату (*Desulfobulbus*, *Desulfomicrobium*, *Desulfomonas*, *Desulfovibrio*, *Thermodesulfobacterium*).

За морфологією (світловий мікроскоп, $\times 1440$) клітини всіх культур поодинокі, овальні, паличковидні або віброїдні, у діаметрі 0,5–2,5 мкм (рис. 6). Проведено електронномікроскопічні дослідження ($\times 15\ 000$) ультраструктури клітин культур R-3, R-15, R-19 та *D. desulfuricans* K-45 ВКМ (рис. 7). На фотографіях видно, що клітини мають паличковидну або віброїдну форму, оточені клітинною стінкою та цитоплазматичною мембраною. У цитоплазмі можна спостерігати наявність нуклеоїда, рибосом, запасних речовин. Отже, морфологія досліджуваних клітин типова для сульфатвідновлювальних бактерій.

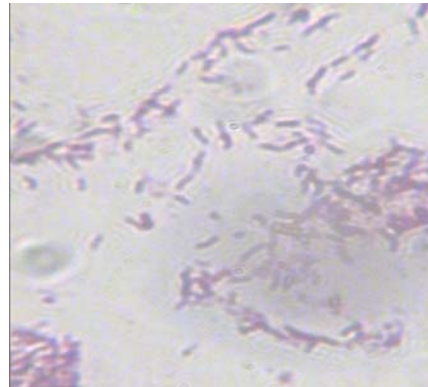
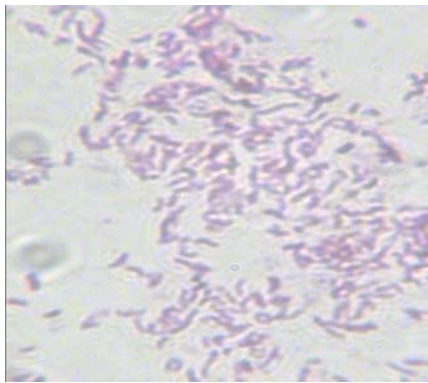


Рис. 6. Морфологія клітин культур сульфатвідновлювальних бактерій ($\times 1440$)

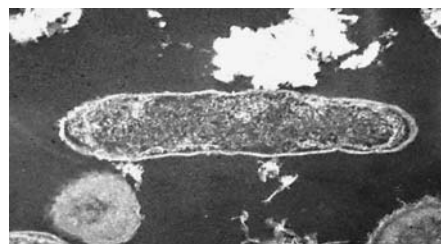
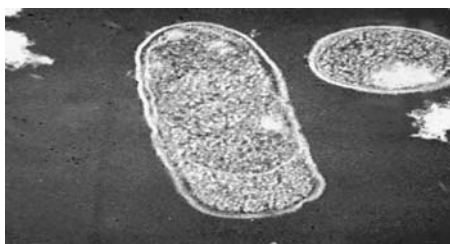


Рис. 7. Ультраструктура клітин сульфатвідновлювальних бактерій ($\times 15\ 000$): R-3 (1), R-15 (2), R-19 (3) та *D. desulfuricans* K-45 ВКМ (4).

Таблиця 3. Ріст сульфатвідновлювальних бактерій впродовж 14 діб у середовищі Кравцова-Сорокіна з сульфатами у присутності різних донорів електронів

Культура	Біомаса, г/л										
	бензоат	фумарат	піруват	сукцинат	малонат	ацетат Na	глюкоза	холін	пальмітат	цитрат	лактат
R-1	0,045±0,001	1,563±0,001	1,411±0,001	1,571±0,008	1,089±0,001	0,068±0,001	1,626±0,001	0,021±0,006	0,040±0,001	1,416±0,010	1,063±0,010
R-3	0,026±0,001	1,747±0,001	1,495±0,001	1,142±0,005	1,095±0,006	0,051±0,005	1,555±0,050	0,087±0,008	0,055±0,003	1,448±0,006	1,732±0,001
R-4	0,033±0,005	1,079±0,010	1,679±0,005	1,137±0,001	1,137±0,001	0,023±0,001	1,326±0,001	0,079±0,010	0,082±0,001	1,458±0,037	1,069±0,006
R-6	0,041±0,001	1,747±0,007	1,682±0,008	1,192±0,008	1,092±0,003	0,052±0,008	1,326±0,002	0,095±0,003	0,067±0,001	1,192±0,008	1,082±0,019
R-7	0,078±0,001	1,432±0,010	1,361±0,007	1,182±0,002	1,127±0,006	0,097±0,002	1,466±0,013	0,067±0,003	0,073±0,005	1,432±0,010	1,137±0,001
R-8	0,048±0,006	1,408±0,003	1,163±0,001	1,129±0,008	1,095±0,006	0,075±0,001	1,029±0,013	0,068±0,001	0,087±0,002	1,629±0,003	1,245±0,003
R-10	0,015±0,008	1,676±0,008	1,163±0,001	1,626±0,001	1,140±0,003	0,070±0,002	1,326±0,001	0,025±0,006	0,032±0,003	1,747±0,001	1,242±0,001
R-12	0,057±0,008	1,456±0,003	1,887±0,008	1,095±0,006	1,092±0,003	0,056±0,008	1,242±0,002	0,084±0,009	0,035±0,001	1,747±0,001	1,324±0,002
R-15	0,082±0,008	1,579±0,001	1,948±0,006	1,626±0,001	1,137±0,001	0,068±0,001	1,326±0,001	0,016±0,001	0,062±0,001	1,385±0,010	1,458±0,005
R-19	0,024±0,001	1,598±0,035	1,129±0,066	1,718±0,050	1,168±0,021	0,091±0,001	1,363±0,005	0,025±0,003	0,061±0,003	1,148±0,011	1,624±0,003
<i>D.desulfuricans</i> Ya-11	0,078±0,014	1,566±0,045	1,543±0,001	1,566±0,045	1,135±0,003	0,045±0,001	1,135±0,082	0,033±0,003	0,079±0,001	1,742±0,005	1,737±0,011
<i>D.desulfuricans</i> K-45 ВКМ	0,042±0,005	1,206±0,006	1,248±0,032	1,726±0,042	1,087±0,003	0,090±0,005	1,542±0,001	0,089±0,004	0,063±0,001	1,716±0,031	1,042±0,047

Таблиця 4. Ріст сульфатвідновлювальних бактерій у середовищі Кравцова-Сорокіна без сульфатів впродовж 14 діб у присутності різних донорів та акцепторів електронів

Культура	Біомаса, г/л											
	бензоат	фумарат	піруват	сукцинат	малонат	ацетат Na	глюкоза	холін	пальмітат	цитрат	лактат	лактат + S ⁰
R-1	0,083±0,001	0,051±0,001	0,044±0,004	0,036±0,002	0,067±0,002	0,067±0,005	0,076±0,006	0,082±0,002	0,089±0,001	0,091±0,003	0,089±0,004	0,049±0,009
R-3	0,094±0,004	0,051±0,006	0,049±0,009	0,031±0,002	0,054±0,001	0,089±0,002	0,018±0,001	0,044±0,001	0,042±0,001	0,086±0,001	0,100±0,004	0,032±0,001
R-4	0,061±0,003	0,095±0,001	0,050±0,002	0,042±0,002	0,087±0,001	0,032±0,002	0,082±0,001	0,031±0,004	0,043±0,002	0,091±0,002	0,073±0,001	0,047±0,001
R-6	0,070±0,001	0,091±0,003	0,052±0,001	0,077±0,005	0,019±0,001	0,020±0,002	0,064±0,002	0,077±0,005	0,084±0,002	0,088±0,005	0,047±0,001	0,031±0,002
R-7	0,064±0,001	0,043±0,004	0,049±0,002	0,078±0,001	0,055±0,005	0,029±0,002	0,037±0,003	0,043±0,002	0,028±0,002	0,070±0,002	0,097±0,002	0,036±0,001
R-8	0,077±0,001	0,037±0,002	0,029±0,005	0,066±0,005	0,041±0,007	0,045±0,001	0,035±0,008	0,068±0,002	0,032±0,002	0,055±0,008	0,031±0,009	0,029±0,003
R-10	0,061±0,031	0,072±0,003	0,044±0,001	0,063±0,009	0,074±0,002	0,060±0,007	0,037±0,007	0,034±0,005	0,040±0,003	0,088±0,001	0,026±0,002	0,081±0,002
R-12	0,061±0,004	0,078±0,003	0,041±0,002	0,053±0,003	0,087±0,008	0,017±0,002	0,093±0,001	0,026±0,003	0,046±0,001	0,083±0,007	0,052±0,003	0,040±0,001
R-15	0,052±0,001	0,078±0,003	0,051±0,001	0,048±0,002	0,083±0,002	0,081±0,008	0,089±0,010	0,093±0,010	0,053±0,001	0,094±0,002	0,047±0,002	0,048±0,001
R-19	0,053±0,002	0,048±0,003	0,049±0,001	0,073±0,003	0,067±0,001	0,073±0,008	0,028±0,001	0,076±0,007	0,037±0,002	0,083±0,003	0,026±0,002	0,082±0,004
D.desulfuricans Ya-11	0,042±0,001	0,026±0,001	0,067±0,004	0,067±0,001	0,029±0,008	0,070±0,002	0,050±0,001	0,043±0,008	0,063±0,002	0,086±0,002	0,087±0,005	0,047±0,001
D.desulfuricans K-45 BKM	0,055±0,002	0,073±0,007	0,080±0,002	0,076±0,005	0,008±0,005	0,055±0,005	0,044±0,002	0,082±0,002	0,071±0,008	0,097±0,003	0,063±0,003	0,074±0,004

Висновки

Таким чином, за ростом на неселективних та селективному середовищах, здатністю утворювати спори, температурним і кислотним оптимумами, здатністю відновлювати сульфати до сірководню та нагромаджувати ацетат в результаті утилізації лактату, а також за

характером засвоєння органічних сполук у присутності та без сульфатів і елементної сірки, виділені з водою кар'єру Роздільського сіркового родовища чисті культури сульфатвідновлювальних бактерій можна попередньо віднести до другої підгрупи згідно Берджі, типовим і найбільш розповсюдженим представником якої є рід *Desulfovibrio*.

1. Бабко А.К., П'ятницький І.В. Кількісний аналіз. – К.: Вища школа, 1974. – 352 с.
2. Горленко В.М., Дубинина Г.А., Кузнецов С.И. Экология водных микроорганизмов. - М.: Наука, 1977. - 287 с.
3. Гудзь С., Гнатуш С., Білінська І. Практикум з мікробіології. Ч. 1. Навчальний посібник. – Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2003. – 80 с.
4. Гудзь С.П., Гнатуш С.О., Подопрігора О.І., Клим І.Р., Мороз О.М. Сіркометаболізуючі бактерії Роздільського сірководобувного кар'єру в процесі його затоплення // Науковий вісник Ужгородського ун-ту. Серія біологія. – 2007. – Вип. 20. – С. 230-233.
5. Деркач М.П., Гумецький Р.Я., Чабан М.С. Курс варіаційної статистики – К.: Вища школа, 1977. – 208 с.
6. Каравайко Г.И., Кузнецов С.И., Голомзик А.И. Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд. - М.: Наука, 1972. - 215 с.
7. Крешков А.Г. Основы аналитической химии. – М.: Мир, 1961. – 636 с.
8. Методы общей бактериологии / Под ред. Ф. Герхардта и др.: Пер. с англ. – М.: Мир, 1983. – Т. 1. – 536 с.
9. Мороз О.М., Колісник Я.І., Подопрігора О.І., Клим І.Р., Гудзь С.П., Борсукевич Б.М., Гнатуш С.О. Мікрофлора води озера “Яворівське” // Науковий вісник Ужгородського ун-ту. Серія біологія. – 2008. – 14 с. (в друці).
10. *Определитель* бактерий Берджи. В 2-х т. Т 2: Пер. с англ. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса. – Москва: Мир, 1997. – 368 с.
11. Перетятко Т.Б., Гнатуш С.О., Гудзь С.П. Сульфатвідновлювальні бактерії водою Яворівського сіркового родовища // Мікробіол. журн. – 2006. – Т. 68, № 5. – С. 87-93.
12. Перетятко Т., Гнатуш С., Гудзь С. Утворення сульфідів *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 за різних умов культивування // Вісник Львів. ун-ту. Серія біологічна. – 2007. – Вип. 43. – С. 180-184.
13. Родина А.Г. Методы водной микробиологии: Практ. руководство. – Москва, Ленинград: Наука, 1965. – 363 с.
14. Розанова Е.П. Методы культивирования и идентификации анаэробных бактерий, восстанавливающих серу и ее окисленные соединения // Теоретические и методические основы изучения анаэробных микроорганизмов. – Пушкино, 1978. – С. 123-136.
15. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy // J. Cell Biol. – 1963. – V.17. - P. 208 – 212.

Отримано: 11 березня 2008 р.

Прийнято до друку: 12 травня 2008 р.