

УДК 579.846.2:[546.48+546.47]

ВПЛИВ КОНЦЕНТРАЦІЙ Cd^{2+} ТА Zn^{2+} НА РІСТ КУЛЬТУРИ *DESULFOVIBRIO DESULFURICANS* YA-11

І. В. Кушкевич, С. О. Гнатуш, О. Р. Кулачковський

Вплив концентрацій Cd^{2+} та Zn^{2+} на ріст культури *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11. – І. В. Кушкевич, С. О. Гнатуш, О. Р. Кулачковський. – Досліджено вплив різних концентрацій іонів кадмію на нагромадження біомаси культурою *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 при рості в середовищі Постгейта С протягом 15 діб відповідно. Показано, що внесення кадмію у середовище у концентрації 1 мМ і більше, пригнічує ріст бактерій впродовж усього часу культивування. Внесення кадмію у середовище у концентрації 0,5 мМ пригнічує ріст культури лише до восьмої доби культивування. Внесення кадмію у середовище культивування суттєво впливає на ультраструктуру клітин *D. desulfuricans* Ya-11. Розглянуто вплив різних концентрацій іонів цинку на нагромадження біомаси культурою при рості в середовищі Постгейта С протягом 11 діб. Показано, що внесення цинку у середовище стимулює нагромадження біомаси культурою *D. desulfuricans* Ya-11. Найбільша біомаса нагромаджується при додаванні 1,5 мМ цинку, зі збільшенням концентрації цинку до 2,5 мМ біомаса знижується. Нами не встановлено інгібуючих концентрацій цього йону.

Ключові слова: кадмій, цинк, *Desulfovibrio desulfuricans*, важкі метали, токсичність

Адреса: Кафедра мікробіології Львівського національного університету імені Івана Франка, вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005 Україна, e-mail: Ivan_Kushkevych@ukr.net

Influence of Cd^{2+} and Zn^{2+} concentrations on *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 growth. – I. V. Kushkevych, S. O. Hnatysh, O. R. Kulachkovsky. – The influence of different cadmium ions concentrations on biomass accumulation by *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 culture at the growth in Postgate C medium during 15 days is investigated. It is shown that the addition of 1 mM and more cadmium to the medium inhibits the growth of bacteria during the whole cultivation time. The addition of 0.5 mM cadmium inhibits the growth of culture only till the eighth day. The influence of different zinc ions concentrations on *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 biomass accumulation in Postgate C medium during 11 days is investigated. It is shown that addition of zinc to the medium stimulates the accumulation of biomass. The highest biomass was observed at zinc concentration 1.5 mM, the increase of its concentration to 2.5 mM lead to the decrease of biomass. We didn't establish the inhibitory concentrations of this ion. The addition of cadmium to the medium have the significant influence on the ultrastructure of *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 cells.

Key words: cadmium, zinc, *Desulfovibrio desulfuricans*, heavy metals, toxicity.

Address: Microbiology Department of Lviv National Ivan Franko University, 4, Grushevsky street, Lviv, 79005, Ukraine e-mail: Ivan_Kushkevych@ukr.net

Вступ

Однією з важливих проблем сучасності є підвищення рівня антропогенного забруднення навколишнього середовища важкими металами. Важкі метали є токсичними для всіх живих організмів. Вони потрапляють у навколишнє середовище при видобуванні і переробці корисних копалин, разом із стічними водами металургійних і гальванічних виробництв, із газоаерозольними викидами при експлуатації теплових електростанцій тощо. На відміну від органічних ксенобіотиків, які хоч і повільно, але розкладаються у навколишньому середовищі, метали не можуть необоротно перетворитись у нетоксичні сполуки. Внаслідок цього, потрапляючи у довкілля, мігрують і нагромаджуються у харчових ланцюгах [6].

У малих концентраціях метали, як мікроелементи, необхідні для нормальної життєдіяльності мікроорганізмів. Деякі групи мікроорганізмів здатні використовувати певні сполуки важких металів у нетоксичних концентраціях як кінцевий акцептор електронів. У високих концентраціях важкі метали негативно впливають на структуру і функції природних екосистем, під їх впливом відбувається пригнічення біохімічної діяльності мікроорганізмів, інгібування активності більшості ферментів — фосфатаз, протеаз, дегідрогеназ, інвертаз та ін.

Процес індустріалізації призвів до підвищення концентрації іонів важких металів у техносфері та біосфері на декілька порядків. Стічні води промислових виробництв можуть містити солі

металів у концентрації до декількох грамів у 1 л. Такий «еволюційний тиск» змусив мікроорганізми розвивати «стратегії» стійкості, що призвело до набуття багатьма із них плазмід, які найчастіше визначають множинну стійкість до високих концентрацій сполук різних металів.

У міру зростання ступеня адаптації мікроорганізмів до важких металів спостерігають втягнення цих елементів у біологічні процеси. Це призводить до утворення замкнутого кругообігу, аналогічно до кругообігу азоту, сірки, вуглецю. За токсичністю важкі метали розташовуються у наступній послідовності: ртуть, срібло, мідь, кадмій, цинк, свинець, хром, нікель, кобальт [2]. Проте цей порядок може змінюватися залежно від виду організму і від того, присутні ці елементи в розчині у вигляді вільних іонів, чи входять до складу органічних або неорганічних сполук.

Мікроорганізми здатні здійснювати активний транспорт іонів важких металів всередину клітини [13]. Бактерії синтезують спеціальні хелатоутворюючі речовини, що полегшують проникнення іонів при нейтральних значеннях рН. Це проникнення відбувається у результаті активного транспорту хелатного комплексу з катіоном і подальшим його розпадом після перенесення через цитоплазматичну мембрану. У мікроорганізмів є внутрішньоклітинні компоненти, які володіють високою специфічністю до іонів важких металів, серед яких добре вивченим є білок металотіонеїн. До його складу входять сірковмісні амінокислоти, на основі сульфгідрильних груп яких утворюються хелати.

Імобілізацію металів (осадження) мікроорганізмами спостерігають найчастіше при взаємодії з біогенним сірководнем, який утворюється при дисиміляційній сульфатредукції або розкладі органічних сполук, що містять сірку у відновленому стані (цистеїн, метіонін). Із сірководнем метали утворюють нерозчинні сполуки – сульфідні, які є недоступними для більшості живих організмів. Катіони літію, натрію, калію та інші однозарядні лужні метали головної підгрупи першої групи елементів, а також деякі катіони другої групи (кальцій, магній) не мають такої властивості. Для осадження металів, переважно, не потрібно безпосереднього контакту з клітинами сульфیدогенів, але часто цей процес поєднується з транспортом катіонів металів у цитоплазму клітини та утворенням сульфідів всередині клітини. Деякі представники родів *Desulfovibrio* та *Desulfotomaculum* здатні осаджувати двазарядні катіони важких металів, виділяючи сірководень у процесі своєї життєдіяльності та нагромаджувати в клітинах кадмій у вигляді сульфиду [5]. Цю властивість можна використати при розробці біотехнологічних методів очистки водойм та промислових стоків від важких металів.

Метали також можуть іммобілізуватися при взаємодії з білками з утворенням нерозчинних комплексів.

Вуглекислий газ, що виділяється всіма гетеротрофними мікроорганізмами, утворює нерозчинні сполуки з кадмієм та плумбумом (CdCO_3 , PbCO_3).

Кадмій є токсичним для багатьох організмів, у тому числі для мікроорганізмів та людей. У навколишньому середовищі цей метал перебуває у вигляді двовалентного катіону, який переважно осаджується CO_3^{2-} у вигляді карбонату. У кислому середовищі йони кадмію звільняються. У бактеріальні клітини вони потрапляють через транспортні системи, які забезпечують надходження важливих двовалентних катіонів, зокрема магнію. Кадмій пригнічує дихання шляхом зв'язування сульфгідрильних груп ферментів, викликає денатурацію білків, впливає на метаболізм кальцію і цинку [16]. Системи резистентності бактерій до цього металу є трьох видів:

1. У грамозитивних бактерій – це АТФ-залежна система екскреції кадмію;
2. У грамнегативних бактерій – це мультибілкова хеміосмотична антипортна система;
3. Ціанобактерії використовують металотіонеїнову систему [17].

У живих організмах цинк знаходиться у сполуках з білками, амінокислотами, пуриновими основами та нуклеїновими кислотами [1]. Цинк є одним із важливих мікроелементів бактерій. Він є кофактором багатьох білків [7]. Цинквмісними є алкогольдегідрогеназа, гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа, альдолаза, фосфоліпаза А та ін. Виявлено багато металоферментних комплексів, які активуються цинком: аргіназа, амінопептидаза, гістидиндезаміназа, лецитиназа С, енолаза, карбоксилаза, оксалоацетаткарбоксилаза та інші [1]. Цинк також бере участь в об'єднанні регуляторної та каталітичної субодиноць аспартаткарбомаїлтрансферази у *E. coli* [8]. Відомо, що цинк (подібно до феруму та купруму) міститься в активному центрі супероксиддисмутази (СОД), (*E. coli*, *Desulfovibrio desulfuricans* та ін.) [3,14].

Йони цинку утворюють комплекси з різними фізіологічно активними речовинами: білками, нуклеїновими кислотами, амінокислотами, АТФ, АДФ, цукрами, вітамінами, антибіотиками. Є дані, згідно з якими цей елемент бере участь у процесі гліколізу та у синтезі порфіринів і гемопротейнів, у тому числі цитохромів, а також синтезі іРНК.

Мікроорганізми, які живуть у середовищі, де концентрації цинку є значними, мають механізми стійкості до цього металу. Від надлишку іонів Zn^{2+} цитоплазму бактерій захищають системи транспорту. Викачування іонів Zn^{2+} є повільним

при низьких концентраціях і швидким при високій концентрації, що дозволяє уникнути надмірної втрати клітиною іонів Zn^{2+} .

Метою нашої роботи було дослідження впливу різних концентрацій іонів Cd^{2+} та Zn^{2+} на ріст культури *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11.

Матеріали та методи досліджень

Об'єктом досліджень була культура *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11, виділена з водойм Яворівського сіркового родовища та ідентифікована на кафедрі мікробіології Львівського національного університету імені Івана Франка.

Культуру *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 вирощували в пробірках об'ємом 20 мл у середовищі Постгейта С протягом 15 діб при температурі 28°C за анаеробних умов.

Щоб дослідити здатність сульфатвідновлювальних бактерій рости в присутності іонів важких металів, до середовища вносили різні концентрації іонів кадмію та цинку (0,5 мМ, 1,0 мМ, 1,5 мМ, 2,0 мМ та 2,5 мМ).

У процесі культивування через певні проміжки часу визначали біомасу культури за мутністю розведеної суспензії клітин шляхом фотометрування на фотоелектроколориметрі КФК-3 (340 нм, з оптичним шляхом 3 мм).

Електронномікроскопічні дослідження. Для електронномікроскопічних досліджень клітини двічі відмивали дистильованою водою та осаджували центрифугуванням при 10 000 об./хв протягом 15 хв. Інтактні клітини фіксували в 1,5 % водному розчині $KMnO_4$ упродовж 20 хв при кімнатній температурі. Постфіксацію проводили з використанням 1 % OsO_4 у какодилатному буфері протягом 90 хв при 0°C. Фіксовані клітини промивали, обезводнювали в розчинах із зростаючими концентраціями етанолу і окису пропілену. Зразки переносили в епоксидну смолу Епон 812. Ультратонкі зрізи отримували на ультрамікроскопі УМТП – 6 і контрастували цитратом свинцю за Рейнольдсом [18].

Перегляд і фотографування зразків проводили на електронних трансмісійних мікроскопах УЕМВ – 100 Б і ПЕМ – 100 при прискорюючій напрузі 75 кВ. Кінцеве збільшення на мікрофотографіях – близько 10000 разів.

Статистична обробка даних. Для достовірності результатів експеримент проводили у двохкратній повторності. Вираховували основні статистичні показники за безпосередніми даними (середнє арифметичне – M ; стандартна похибка середнього

арифметичного – m). Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних, обраховували коефіцієнт Стьюдента. Достовірною вважалася різниця при показнику достовірності $P > 0,95$. Статистичне опрацювання результатів проводили, використовуючи програми Excel та Origin

Результати досліджень та їх обговорення

Вплив різних концентрацій іонів кадмію на ріст культури *D. desulfuricans* Ya-11 у середовищі Постгейта С. Бактерії *D. desulfuricans* Ya-11 вирощували протягом 15 діб у середовищі Постгейта С, в яке вносили кадмій сульфат у концентрації 0,5, 1, 1,5, 2,0, 2,5 мМ (у перерахунку на концентрацію іонів кадмію). Контроль не містив важкого металу. Початкова біомаса культури становила $0,60 \pm 0,002$ г/л. Проби для визначення біомаси відбирали через 1, 2, 3, 5, 8, 11, 15 доби.

Результати досліджень представлені на рис. 1. Як видно з рис. 1, при вирощуванні культури *D. desulfuricans* у середовищі Постгейта С без іонів кадмію (контроль) на 11 добу росту біомаса є максимальною і становить $2,12 \pm 0,003$ г/л. На 15 добу культивування біомаса не змінювалася, тобто культура перейшла у стаціонарну фазу росту.

У присутності 0,5 мМ Cd^{2+} на першу добу біомаса становила $0,99 \pm 0,003$ г/л. На другу і третю доби культивування спостерігали незначне зростання біомаси. Очевидно, під впливом такої концентрації кадмію ріст уповільнювався. На 8 добу біомаса зросла і становила $1,80 \pm 0,002$ г/л. Починаючи з 11 доби вирощування культура переходить у стаціонарну фазу росту. При культивуванні *D. desulfuricans* Ya-11 у присутності іонів кадмію у концентрації 1 мМ у перші п'ять діб спостерігався ріст культури (рис. 1). Найбільша біомаса визначалася на одинадцяту добу ($1,626 \pm 0,004$ г/л). На п'ятнадцяту добу росту біомаса залишилась майже незмінною $1,625 \pm 0,004$. При вирощуванні культури *D. desulfuricans* Ya-11 у середовищі Постгейта С, яке містило 1,5 мМ Cd^{2+} , у перші три доби ріст був уповільненим, порівняно із контролем. Ймовірно, мікроорганізми в цей час адаптуються до токсичної дії іонів металу. Біомаса на п'яту добу культивування становила $1,311 \pm 0,003$ г/л. Дещо зросла біомаса на восьму добу ($1,263 \pm 0,003$ г/л) та одинадцяту, а на п'ятнадцяту – майже не змінилась.

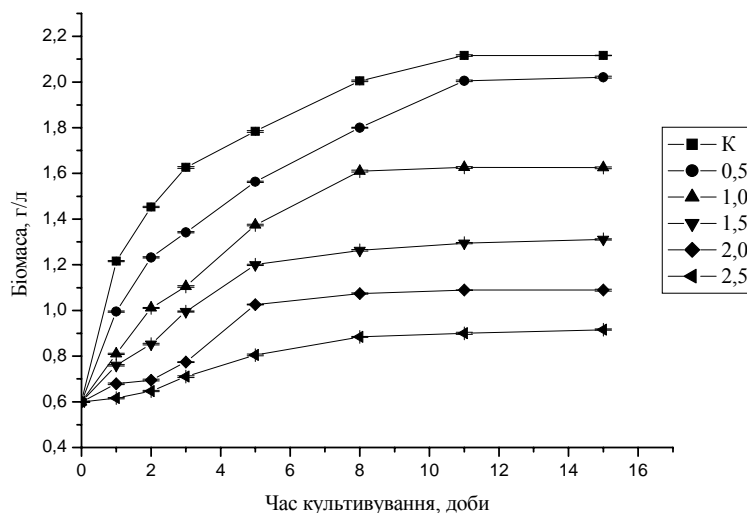


Рис. 1. Ріст культури *D. desulfuricans* Ya-11 у середовищі Постгейта С у присутності різних концентрацій іонів Cd^{2+}

Значно слабший ріст культури *D. desulfuricans* Ya-11 спостерігали у середовищі Постгейта С із концентрацією кадмію 2,0 мМ (рис. 1). Незначний ріст відмічено у перші три доби культивування. Зростання біомаси спостерігали на п'яту та восьму добу росту – $1,026 \pm 0,002$ г/л та $1,074 \pm 0,003$ г/л відповідно.

Найслабший ріст досліджуваної культури відмічено в присутності 2,5 мМ Cd^{2+} . У перші три доби культивування біомаса мікроорганізмів практично не змінювалась. Біомаса на п'яту добу культивування становила $0,805 \pm 0,004$ г/л. Максимальну біомасу відмічено на п'ятнадцяту добу ($0,916 \pm 0,003$ г/л).

Таким чином, протягом трьох перших діб культивування біомаса культури *D. desulfuricans* Ya-11 при усіх досліджуваних концентраціях іонів Cd^{2+} незначно зростає. Можливо на перших етапах взаємодії бактерій з металом відбувається фізико-хімічна сорбція, тобто поглинаються двозарядні катіони токсичного для клітини металу. Після проникнення в клітину метал зв'язується з білками цитоплазми і внутрішніми мембранними структурами або утворює нерозчинні продукти всередині клітини – сульфід кадмію [10]. Присутність кадмію у клітині уповільнює процеси клітинного поділу, транспорт цукрів, порушується проникність клітинної мембрани. Збільшення концентрації металу призводить до інгібування енергетичних процесів, що має сублетальні для бактерій наслідки.

Через певний проміжок часу (п'ята і восьма доби росту) мікроорганізми адаптовуються, долають інгібуєчу дію сполук кадмію та здатні акумулювати іони Cd^{2+} всередині клітини в

значних кількостях. Виникнення стійкості до важких металів спричинено не зниженням проникності клітинної стінки, а змінами у метаболізмі, які дозволяють клітині виживати при більш високих концентраціях металу [11]. При цьому спостерігаємо збільшення біомаси бактерій, стійких до дії цього токсичного металу. При високих концентраціях кадмію адаптація клітин проходить повільно.

Вплив різних концентрацій цинку на ріст культури *D. desulfuricans* Ya-11 у середовищі Постгейта С. Досліджували ріст культури *D. desulfuricans* Ya-11 у середовищі Постгейта С за різних концентрацій іонів цинку у середовищі (0,5, 1, 1,5, 2,0, 2,5 мМ). Визначали нагромадження біомаси через 3, 5, 7, 9, 11 діб. Початкова біомаса культури *D. desulfuricans* Ya -11 становила $0,474 \pm 0,003$ г/л. Результати досліджень представлені на рис. 2.

Як видно з рис. 2, при вирощуванні культури *D. desulfuricans* у контрольному середовищі Постгейта С, яке не містило іонів цинку, на 11 добу росту біомаса становить $1,926 \pm 0,002$ г/л.

При додаванні у середовище Постгейта С цинку в концентрації 0,5 мМ значний ріст спостерігали на третю і п'яту добу вирощування. Біомаса на дев'яту добу становила $1,991 \pm 0,002$ г/л. Найбільшою була біомаса на одинадцяту добу росту – $2,013 \pm 0,002$ г/л.

Інтенсивним був ріст культури *D. desulfuricans* у присутності 1,0 мМ іонів Zn^{2+} . На третю і п'яту доби культивування спостерігали значне зростання біомаси. Біомаса на сьому добу росту – $2,135 \pm 0,003$ г/л. Дещо зросла біомаса на дев'яту добу ($2,212 \pm 0,002$ г/л), а на одинадцяту вона була максимальною – $2,255 \pm 0,002$ г/л.

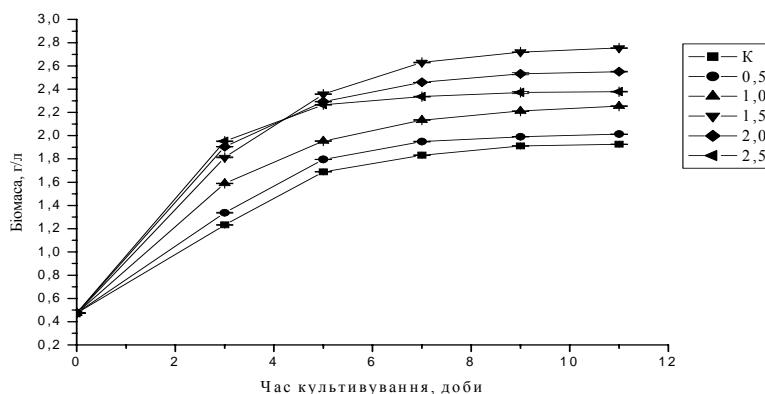


Рис. 2. Ріст культури *D. desulfuricans* Ya-11 у середовищі Постгейта С у присутності різних концентрацій іонів Zn^{2+}

При культивуванні *D. desulfuricans* Ya-11 у середовищі Постгейта С, яке містило 1,5 мМ іонів Zn^{2+} , відмічено найінтенсивніший ріст, порівняно з контролем – $2,719 \pm 0,002$ г/л.

Збільшення концентрації цинку до 2,0 мМ та 2,5 мМ не призводило до порушення встановлених закономірностей, хоча нагромадження біомаси культурою дещо знижувалося. У перші п'ять діб вирощування відмічено значний ріст культури. На сьому добу значення біомаси було таким: при концентрації 2,0 мМ – $2,459 \pm 0,001$ г/л, а при концентрації 2,5 мМ – $2,336 \pm 0,003$ г/л. На одинадцяті добу росту – $2,551 \pm 0,003$ г/л та $2,379 \pm 0,004$ г/л відповідно. Тобто, збільшення концентрації цинку до 2,0 та 2,5 мМ інгібувало ріст.

Таким чином, протягом п'яти перших діб культивування біомаса культури *D. desulfuricans* Ya-11 при всіх заданих концентраціях іонів Zn^{2+} зростає, порівняно із контролем. Очевидно, що цинк є необхідним мікроелементом для даної культури. Його присутність у середовищі інтенсифікує ріст. Дані мікроорганізми є строгими анаеробами, проте, проявляють стійкість до молекулярного кисню. Вони володіють каталазою та супероксиддисмутазною (СОД) активністю (дані ферменти здійснюють антиоксидантний захист). Відомо, що у представників роду *Desulfovibrio* в активному центрі СОД міститься цинк [4, 9]. Ми припускаємо, що іони цинку, надходячи із зовнішнього середовища, активно включаються в метаболізм клітини. Внаслідок цього

спостерігаємо збільшення біомаси. Очевидно, що високі концентрації іонів Zn^{2+} є токсичними для клітини через порушення систем транспорту та ін.

Вплив різних концентрацій іонів Cd^{2+} на ультраструктуру клітин *D. desulfuricans* Ya-11 у процесі росту. Дослідження ультраструктури клітин *D. desulfuricans* Ya-11 під електронним мікроскопом на восьму добу культивування показало, що при внесенні іонів кадмію у середовище спостерігають суттєві зміни. Мікроорганізми акумулюють метал, відкладаючи його на поверхні клітини за рахунок утворення комплексу з білками клітинної мембрани [12]. Крім того іони металу нагромаджуються всередині клітин. Очевидно, що таке нагромадження металу обумовлено функціонуванням транспортних систем. Після проникнення всередину клітини відбувається зв'язування з білками цитоплазми та внутрішньоклітинними структурами або утворення нерозчинних продуктів [15].

Як видно з рис. 3.1. клітини *D. desulfuricans* Ya-11 видовжені, округлі, спіральні, що характерно для представників цього роду.

Внесення кадмію у концентрації 0,5 мМ (рис. 4 а, б) призводить до порушень при поділі клітин, змінює їх форму. Збільшення концентрації іонів важкого металу до 1,0 мМ спричиняє збільшення розмірів клітини, зміну структури цитоплазми (рис. 3 в, г). За наявності в середовищі 1,5 та 2 мМ кадмію клітини набувають нехарактерних для цього роду форм.

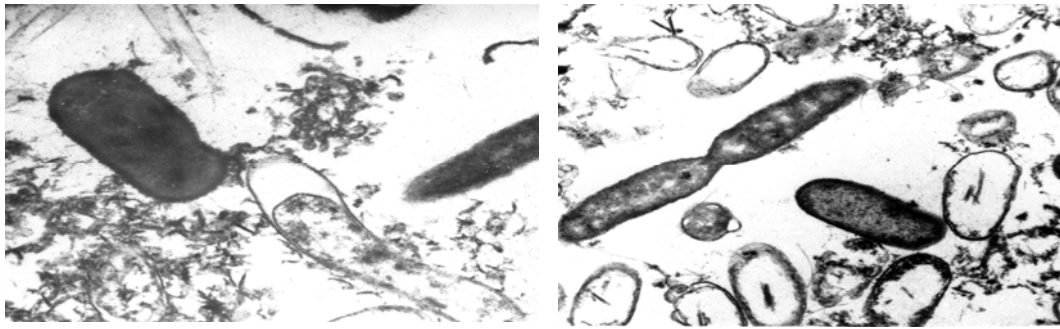


Рис. 3.1. Клітини *D. desulfuricans* при рості в середовищі без додаткового внесення металів (електронна мікроскопія $\times 10\ 000$)

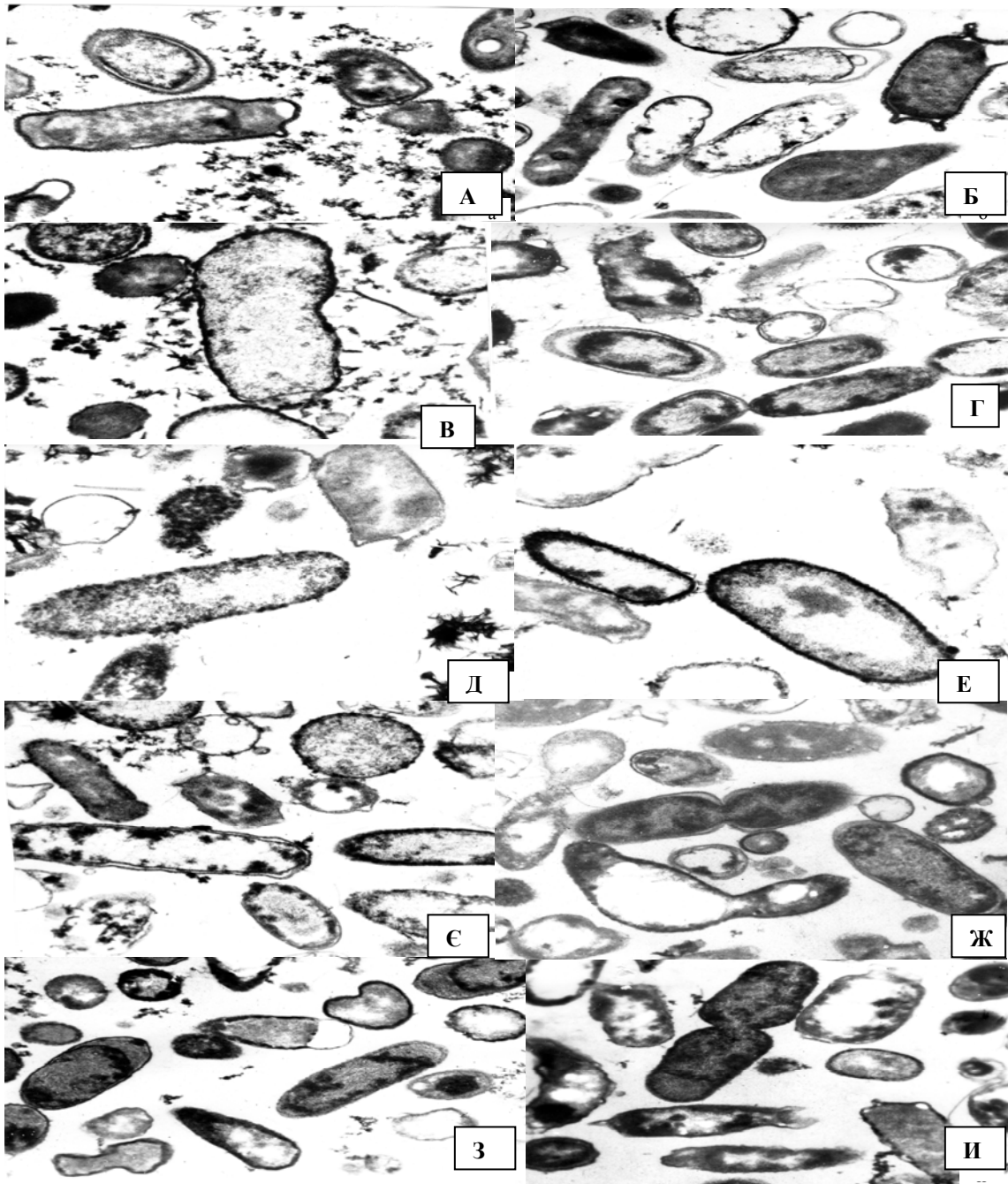


Рис. 3.2. Клітини *D. desulfuricans* при рості в середовищі з різними концентраціями Cd^{2+} : а, б – 0,5 мМ; в, г – 1,0 мМ; д, е – 1,5 мМ; є, ж – 2,0 мМ; з, и – 2,5 мМ (електронна мікроскопія $\times 10\ 000$)

Висновки

1. Досліджено вплив різних концентрацій іонів кадмію на нагромадження біомаси культурою *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 при рості в середовищі Постгейта С протягом 15 діб. Показано, що внесення кадмію у середовище у концентрації 1 мМ і більше, пригнічує ріст бактерій впродовж усього часу культивування. Внесення кадмію у середовище у концентрації 0,5 мМ пригнічує ріст культури лише до восьмої доби культивування.

2. Досліджено вплив різних концентрацій іонів цинку на нагромадження біомаси культурою при рості в середовищі Постгейта С протягом 11 діб. Показано, що внесення цинку у середовище стимулює нагромадження біомаси культурою *D. desulfuricans* Ya-11. Найбільша біомаса нагромаджується при додаванні 1,5 мМ цинку, зі збільшенням концентрації цинку до 2,5 мМ біомаса знижується. Нами не встановлено інгібуючих концентрацій цього йону.

3. Внесення кадмію у середовище культивування суттєво впливає на ультраструктуру клітин *D. desulfuricans*.

1. Авакян З. А. Жизнь микробов в экстремальных условиях // Микробиология. Т. XXXVI. – М.: ВИНТИ, 1967. – С. 440-449.
2. Авакян З. А. Токсичность тяжелых металлов для микроорганизмов // Микробиология. Т. 2. – М.: ВИНТИ, 1973. – С. 5-46.
3. Брюханов А.Л., Нетрусов А.И. Каталаза и супероксиддисмутаза: распространение, свойства и физиологическая роль в клетках строгих анаэробов // Биохимия. Т. 69, вып. 9, – М.: 2004. – С.1170-1186.
4. Брюханов А.Л., Тауэр Р.К., Нетрусов А.И. Каталаза и супероксиддисмутаза в клетках анаэробных микроорганизмов // Микробиология. Т. 71, №3, – М.: 2002. – С.330-335.
5. Буракаева А. Д., Русанова А. М., Лантух В. П. Роль микроорганизмов в очистке сточных вод от тяжелых металлов: Методическое пособие. – Оренбург, 1999. – С. 53.
6. Заварзин Г. А. Литотрофные микроорганизмы. – М.: Наука, 1972. – С.138-157.
7. Зилов Е. А. Химия окружающей среды: Учебное пособие. – Иркутск: Иркут. ин-тут, 2006. – С. 93 – 106.
8. Левшунова С. П. О необходимости внешних источников водорода для образования углеводов в осадочных породах // Геология нефти и газа. – 1995. – № 2. – С. 67-71.
9. Сабирова Р. В., Степанова М. Н., Давидова М. Н. Антиоксидантные ферменты *Desulfovibrio desulfuricans* B-1388 // Совет молодых ученых Пушинского науч. центра Рос. акад. – 2002.
10. Таширев А. Б. Взаимодействие микроорганизмов с металлами // Микробиологичний журнал. – 1995. – № 2. – С. 95-101.
11. Таширев А. Б. Теоретические аспекты взаимодействия микроорганизмов с металлами. Восстановительная трансформация металлов // Микробиологичний журнал. – 1994. – № 6. – С. 76-87.
12. Таширев А. Б. Теоретические аспекты взаимодействия микроорганизмов с металлами. Микробная аккумуляция металлов, обусловленная их стереохимической аналогией с макроэлементами // Микробиологичний журнал. – 1994. – № 6. – С. 89-97.
13. Таширев О. Б. Біотехнології очищення промислових стічних вод на основі термодинамічного прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами та радіонуклідами: Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня доктора технічних наук. – Київ, 2005. – 42 с.
14. Чеботарев Е. Н. Биохимия сульфатовосстанавливающих бактерий // Микробиология. Т. 7. – М.: ВИНТИ, 1978. – С. 5-49.
15. Dopson M., Baker-Austin C., Koppineedi P., Bond P. L. Growth in sulfidic mineral environments: metal resistance mechanisms in acidophilic microorganisms // Microbiology. – 2003. – № 149. – P. 1959-1970.
16. Endo G, Silver S. CadC, the transcriptional regulatory protein of the cadmium resistance system of *Staphylococcus aureus* plasmid pI258 // J. Bacteriol. – 1995. – № 177. – P. 4437-4441.
17. Leigh-Emma Burnley. Heavy Metal Resistance in the Genus *Gluconobacter*: Thesis submitted to the Faculty of Virginia Tech in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of science in biology. – Blacksburg, 2000. – P. 2-9.
18. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy // J. Cell Biol. – 1963. – V17. – P. 208-212.

Отримано: 07 січня 2007 р.

Прийнято до друку: 16 листопада 2007 р.