

УДК 579.811.2/3:546.81

**ВПЛИВ РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ Pb^{2+} НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ
ВЛАСТИВОСТІ ФОТОТРОФНИХ СІРКОБАКТЕРІЙ
*CHROMATIUM OKENII***

І. Кушкевич, С. Гнатуш, С. Гудзь, О. Кулачковський, А. Федорович

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, 79005 Львів, Україна
e-mail: Ivan_Kushkevych@ukr.net*

Вивчено ріст культури *Chromatium okenii* у середовищі Ван Ніля за впливу різних концентрацій іонів плюмбуму. Показано, що внесення Pb^{2+} у середовище пригнічує ріст фототрофних сіркових бактерій. Визначено швидкість поглинання кисню культурою сіркових бактерій *C. okenii* при рості у середовищі з додаванням іонів плюмбуму. Проведено аналіз спектрів поглинання пігментів пурпурових сіркобактерій за різних концентрацій Pb^{2+} . Визначено якісний і кількісний склад основних фотосинтезувальних пігментів у клітинах за цих умов. З'ясовано, що ультраструктура клітин *C. okenii* зазнає змін під впливом іонів плюмбуму.

Ключові слова: пурпурові сіркобактерії, плюмбум, токсичність, поглинання кисню, бактеріохлорофіли, каротиноїди.

Антропогенне забруднення біосфери важкими металами впливає на всі живі компоненти біоценозів. Під впливом цих сполук змінюється не тільки склад мікробних угруповань, але й фізіолого-біохімічні властивості їх представників [1]. Плюмбум займає особливе місце серед поллютантів унаслідок широкого діапазону впливу його сполук на всі системи та функції організму, різноманітності захворювань у людини, зумовлених свинцевою інтоксикацією [11, 12].

Не описано участі плюмбуму у жодному з процесів, які відбуваються в живих організмах. Він не входить до складу ферментів, що відрізняє його від купруму, цинку, молібдену, кобальту та інших важких металів. Однак навіть невеликі його концентрації негативно впливають на метаболізм клітини [1].

Механізм токсичної дії плюмбуму на клітини бактерій недостатньо вивчений. Відомо, що біоенергетичні параметри (мембранна АТФ-аза і трансмембранний потенціал) бактеріальних клітин є індикаторами впливу компонентів навколишнього середовища, в тому числі важких металів. Плюмбум виявляє інгібуючу дію на АТФ-азну активність плазматичної мембрани. Необхідною умовою фізіологічного рівня трансмембранного потенціалу бактерій є цілісність плазматичної мембрани [21]. Відомо, що двовалентні катіони металів, зокрема Pb^{2+} , можуть взаємодіяти із фосфоліпідами мембрани, утворювати з ними специфічні комплекси, які обумовлюють виникнення механічного напруження, яка в свою чергу викликає появу дефектів та порушення функції мембрани [20, 21].

Іони плюмбуму мають здатність взаємодіяти із електрон-донорними групами органічних сполук, утворюючи комплекси із гідроксильними, карбоксильними, фосфатними й аміногрупами, а також ковалентні зв'язки із сульфідгидридними групами, що призводить до пригнічення росту мікроорганізмів у результаті порушення структури поверхневих шарів клітини, цитоплазматичної мембрани, органел, а також інгібування окремих процесів метаболізму [19, 21].

Метою нашої роботи було дослідження впливу Pb^{2+} на ріст, швидкість поглинання кисню культурою *Chromatium okenii*, синтез і спектральні характеристики пігментів, їх якісний та кількісний склад.

У роботі використовували культуру пурпурових сіркобактерій *Chromatium okenii*, виділену із водойм Яворівського сіркового родовища [3].

Бактерії вирощували у рідкому середовищі Ван Ніля протягом 10 діб за анаеробних умов при температурі 20–23°C і постійному освітленні лампою розжарювання із використанням червоного світлофільтра [29]. Анаеробні умови досягали, заповнюючи пробірки на 20 мл середовищем так, щоби під гумовим корком не залишалось міхурців повітря.

Для дослідження впливу різних концентрацій Pb^{2+} на ріст фототрофних сіркобактерій його вносили в середовище у вигляді плюмбум нітрату у концентраціях 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 та 2,5 мМ (у перерахунку на концентрацію іонів плюмбуму). Бактерії *C. okenii* вирощували протягом 10 діб у середовищі Ван Ніля. У контрольні варіанти не вносили солі плюмбуму. Біомасу культури визначали за мутністю суспензії клітин фотоелектроколориметрично, використовуючи КФК-3 ($\lambda=660$ нм, оптичний шлях 3 мм).

Полярграфічне вимірювання швидкості поглинання кисню сіркобактеріями базується на реєстрації електрохімічного відновлення фізично розчиненого кисню на катоді при накладанні потенціалу 0,6–0,7 В. Величину дифузного струму реєстрували за допомогою полярграфічної установки, зібраної на базі закритого електрода Кларка, самописця КСП-4, магнітної мішалки для розмішування суспензії та скляної термостатованої закритої комірки об'ємом 1 мл.

Температура інкубації клітин підтримувалась на рівні +26°C термостатуючою водяною банею. Напруження кисню у розчині визначали за допомогою електрополярграфа у нг атом О. Зміни напруження кисню під час досліду реєстрували за допомогою самописця КСП-4 на паперовій стрічці, швидкість руху якої 1800 мм/год.

Поглинання кисню визначали за кутом нахилу кривої. Швидкість поглинання кисню виражали у нг атом О /хв·мг клітин. У комірку почергово вносили 1 мл суспензії культури *C. okenii*, яка вирощена при різних концентраціях Pb^{2+} (0,5, 1,0, 1,5, 2,0 та 2,5 мМ) [16].

Для визначення якісного та кількісного складу фотосинтезувальних пігментів клітини *C. okenii* центрифугували протягом 30 хв при 8000 об/хв. Надосадову рідину зливали, а одержану біомасу наносили на поверхню скла і висушували при температурі 40°C. Висушені клітини руйнували розтиранням із кварцовим піском [13].

Пігменти екстрагували сумішшю етанолу та ацетону в об'ємному співвідношенні 1:1 до повного знебарвлення осаду. Одержані екстракти використовували для реєстрації електронних спектрів поглинання [13, 14, 26].

Хроматографічне розділення пігментів на окремі компоненти проводили на силуфолових пластинках ("Sorbfil", Росія) у висхідному потоці системи розчинника бензин:ацетон:петролейний ефір:гексан в об'ємному співвідношенні 10:10:3:10 [13]. Стандартними зразками (свідками) були атаксантин із панцира креветок та β -каротин із клітин гриба *Blakeslea trispora*.

Ідентифікацію пігментів проводили за забарвленням на хроматограмах, величинами R_f та максимумами поглинання при різних довжинах хвиль [24, 25, 27].

Спектри поглинання інтактних клітин пурпурових сіркобактерій і екстрагованих пігментів записували у видимій та ультрафіолетовій ділянках спектра на

реєструвальному двопробному спектрофотометрі “Specord M-40”. Вміст основних пігментів клітин *C. okenii* розраховували на 1 г сухої маси [13]. Концентрації основних пігментів пурпурових сіркобактерій розраховували за формулою:

$$C = \frac{D}{E \cdot l}$$

де C – концентрація пігменту, г/л; D – оптична густина розчину, E – питомий коефіцієнт екстинкції відповідного пігменту ($E_{\text{кар}}$ – 271,8 при 474 нм, $E_{\text{охл}}$ – 930,0 при 770 нм), л · г⁻¹ см⁻¹; l – товщина поглинаючого шару, см.

Вміст пігментів з розрахунку на 1 г сухої ваги клітин обчислювали за формулою:

$$A = \frac{C \cdot V \cdot K}{H}$$

де A – кількість пігменту на 1 г сухої ваги клітин (мг/г); C – концентрація пігменту, г/л; V – об’єм екстракту, мл; H – наважка клітин, г; K – відношення об’єму елюату до об’єму розчину, нанесеного на хроматограму.

Для електронномікроскопічних досліджень клітини двічі відмивали дистильованою водою та осаджували центрифугуванням при 10000 об/хв протягом 15 хв. Клітини фіксували в 1,5% водному розчині КМnO₄ упродовж 20 хв при кімнатній температурі. Постфіксацію проводили з використанням 1% OsO₄ у какодилатному буфері протягом 90 хв при 0°C. Фіксовані клітини промивали, обезводнювали в розчинах зі зростаючими концентраціями етанолу і окису пропілену. Зразки переносили в епоксидну смолу Ерп 812. Ультратонкі зрізи отримували на ультрамікротомі УМТП–6 і контрастували цитратом плюмбуму за Рейнольдсом [30].

Перегляд і фотографування зразків проводили на електронних трансмісійних мікроскопах УЕМВ–100 Б і ПЕМ–100 при прискорюючій напрузі 75 кВ. Кінцеве збільшення на мікрофотографіях – 6000–8000 разів.

Вираховували основні статистичні показники за експериментальними даними (середнє арифметичне – M ; стандартна похибка середнього арифметичного – m). Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками альтернативних сукупностей даних обчислювали коефіцієнт Стьюдента [10]. Достовірною вважалася різниця при $P > 0,95$. Статистичне опрацювання результатів проводили, використовуючи програми *Excel* та *Origin*.

Початкова біомаса культури становила 0,78±0,01 г/л. Проби для визначення біомаси відбирали на першу, другу, третю, четверту, шосту, восьму та десятю доби. Результати досліджень представлені на рис. 1.

Як видно з рис. 1, при вирощуванні культури *C. okenii* у середовищі Ван Ніля без плюмбуму (контроль) на восьму добу росту біомаса є максимальною і становить 3,95±0,01 г/л. На десятю добу культивування біомаса не змінювалася, тобто культура перейшла у стаціонарну фазу росту. У присутності 0,5 мМ Pb²⁺ від другої до третьої діб спостерігали уповільнення росту, після чого біомаса зростала до восьмої доби, її максимальне значення було 3,79±0,01 г/л.

При додаванні у середовище Pb²⁺ в концентрації 1,0 мМ значний ріст культури спостерігали на першу та другу доби вирощування, на третю-четверту доби ростові процеси уповільнювалися. Значне збільшення біомаси відмічено на шосту (3,44±0,01 г/л) добу росту, після чого культура переходила у стаціонарну фазу росту.

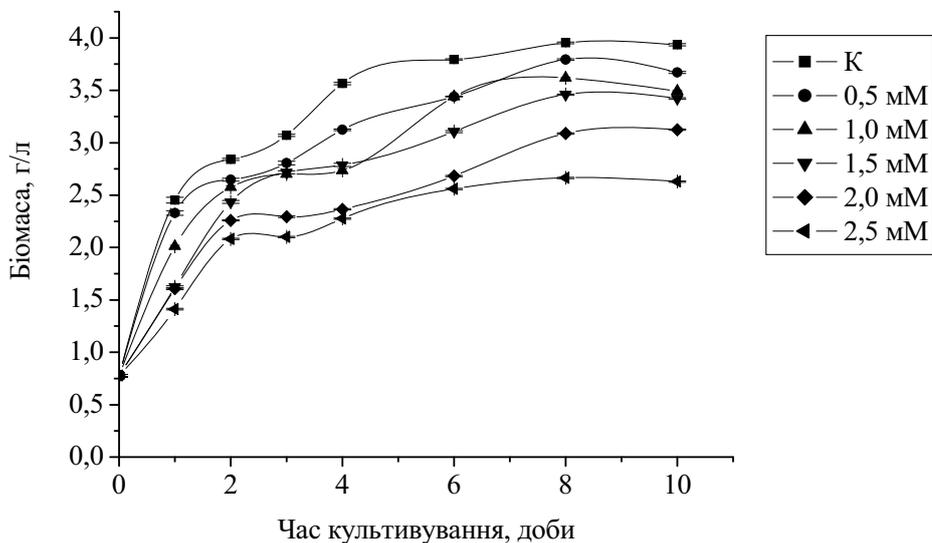


Рис. 1. Ріст культури *C. okenii* за різних концентрацій Pb^{2+} .

Незначним (порівняно з контролем) був ріст культури *C. okenii* у присутності 1,5 мМ Pb^{2+} та 2,0 мМ (рис. 1). Спостерігали уповільнення росту на 2–4 доби культивування, після чого біомаса зростала до восьмої доби ($3,46 \pm 0,01$ г/л) при 1,5 мМ та $3,09 \pm 0,01$ г/л при – 2,0 мМ Pb^{2+} .

Найслабший ріст культури *C. okenii* відмічено в присутності 2,5 мМ Pb^{2+} . Він інгібувався на 66,75%.

Таким чином, протягом перших двох діб вирощування біомаса культури *C. okenii* при всіх досліджуваних концентраціях іонів плумбуму значно зростає, порівняно з вихідною. Можливо, клітини поглинають Pb^{2+} протягом цього часу. Ймовірно, після проникнення в клітину метал зв'язується з білками цитоплазми і внутрішніми мембранними структурами [18]. Присутність плумбуму у клітині викликає уповільнення процесів клітинного поділу, транспорту цукрів, порушення проникності клітинної мембрани [20]. Але в подальшому біомаса зростає, можливо, через здатність популяції клітин адаптуватися до підвищеного вмісту катіонів плумбуму та долати інгібуючу дію його сполук [18].

Більшість пурпурових сіркобактерій є облігатними анаеробами [4, 5, 23, 29], але є дані про види родини *Chromatiaceae*, ріст яких можливий за мікроаерофільних умов, що має важливе значення для розвитку та виживання цих мікроорганізмів у середовищах, де часто змінюється кисневий режим [16]. Стійкість різних представників аеробних та анаеробних бактерій до продуктів відновлення кисню обумовлена розвитком у цих мікроорганізмів специфічної системи антиоксидантного захисту. Механізми стійкості аноксигенних фототрофних сіркобактерій до молекулярного кисню та система антиоксидантного захисту цих бактерій досліджені недостатньо [7, 9].

Бактерії *C. okenii* характеризуються каталазною та супероксиддисмутазною активністю [2, 9, 27, 28]. Тому цікаво було дослідити швидкість поглинання кисню даними бактеріями під час росту в середовищі з різними концентраціями Pb^{2+} у темряві за наявності органічних сполук. Проби для визначення швидкості поглинання кисню відбирали на шосту добу росту. Результати досліджень представлені на рис. 2.

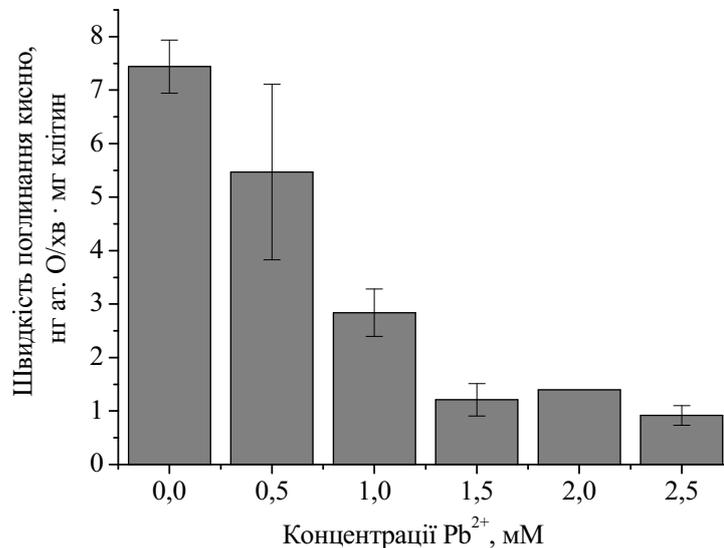


Рис. 2. Швидкість поглинання кисню клітинами бактерій *Chromatium okenii* за різних концентрацій Pb²⁺.

При культивуванні бактерій без іонів свинцю (контроль) швидкість поглинання кисню клітинами є найбільшою та становить $7,44 \pm 0,50$ нг ат.О/хв·мг клітин. Внесення 1,0 мМ іонів свинцю призводить до зменшення швидкості поглинання кисню клітинами *C. okenii* – $2,84 \pm 0,44$ нг ат.О/хв·мг клітин. Підвищення концентрації Pb²⁺ до 1,5 мМ уповільнює процес поглинання кисню сіркобактеріями на 83,71%. Подальше збільшення концентрації цього металу у середовищі до 2,5 мМ підтримує швидкість поглинання кисню на рівні $0,92 \pm 0,18$ нг ат. О/хв·мг клітин.

Проведено аналіз спектрів поглинання екстрактів клітин пурпурових сіркобактерій, вирощених у середовищі Ван Ніля з різними концентраціями іонів свинцю. У розчині екстрагованих пігментів основні максимуми поглинання пігментів припадають на 363, 435–465, 474, 502–518, 590–600, 670–689, 771 нм (рис. 3). Відомо, що максимуми поглинання, які простежуються в довгохвильовій ділянці спектра, зумовлені наявністю в клітинах фототрофних сіркових бактерій бактеріохлорофілу *a* [6, 28], що є фотосинтетично активним пігментом більшості пурпурових сіркобактерій та існує в кількох формах. Різні форми бактеріохлорофілу *a* перебувають у контакті з білками та ліпідами мембран хроматофорів [8, 25, 27]. Каротиноїди поглинають світло у видимій та інфрачервоній ділянках спектра [14, 15, 17], максимум їх поглинання перебуває у межах 400–600 нм [9, 22]. Склад цих пігментів у клітинах фототрофних бактерій може значно змінюватися залежно від умов культивування [6, 8].

Як видно з рис. 3, під час росту в середовищі з важкими металами відбувається незначний зсув спектрів поглинання. Ймовірно, важкі метали, зокрема Pb²⁺, викликають зміни конформації молекул пігментів з подальшою їх модифікацією. Отже, збільшення концентрації іонів свинцю змінює абсорбційні спектри пігментів *C. okenii*.

Хроматографічне розділення екстрактів клітин дало змогу виявити пігменти, різ-

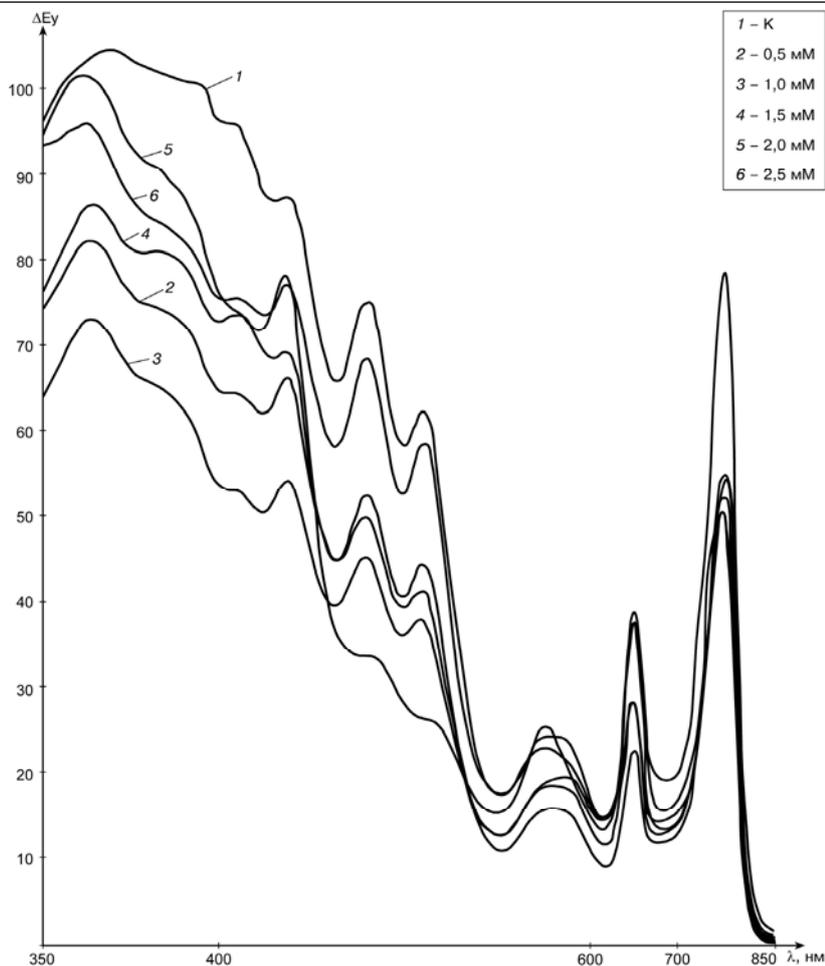


Рис. 3. Спектри поглинання пігментів *C. okenii*, вирощених за різних концентрацій Pb^{2+} .

ні за забарвленням та величиною R_f [24, 25, 27]. Зазначимо, що на хроматограмах переважають яскраво-зелені, рожево-пурпурові зони.

Дослідження спектрів поглинання та хроматографічне розділення дозволили ідентифікувати пігменти і визначити їх вміст у клітинах бактерій *C. okenii*, вирощених при різних концентраціях іонів плумбуму. Екстракти клітин містили бактеріохлорофіл *a* та каротиноїд окенон.

Під час росту без внесення у середовище Ван Ніля солей плумбуму бактерії *C. okenii* містили бактеріохлорофіл *a* в кількості $0,41 \pm 0,01$ мг/г сухої маси клітин (рис. 4 А).

Таблиця 1

Хроматографічна характеристика пігментного складу бактерій *C. okenii*

Назва пігменту	Колір пігменту	Спектри поглинання, λ , нм	Значення R_f
Бактеріохлорофіл α	Яскраво-зелений	363, 590–600, 670–689, 771	0,17
Окенон	Рожево-пурпуровий	435–465, 474, 502–518	0,70

Внесення іонів плюмбуму в концентрації 0,5 мМ у середовище призводило до зменшення вмісту цього пігменту в клітинах до $0,35 \pm 0,02$ мг/г сухої маси клітин. При концентрації 1,0 мМ вміст бактеріохлорофілу *a* в клітинах був майже вдвічі меншим, порівняно з контролем (рис. 4 А). При подальшому зростанні концентрації Pb²⁺ у середовищі спостерігалось зменшення вмісту пігменту у клітинах. При вирощуванні культури *C. okenii* у середовищі з найвищою концентрацією плюмбуму (2,5 мМ) кількість бактеріохлорофілу *a* була найменшою та дорівнювала $0,09 \pm 0,02$ мг/г сухої маси клітин (рис. 4 А).

Вміст окенону в клітинах, вирощених у середовищі без Pb²⁺, становив $0,91 \pm 0,02$ мг/г сухої маси клітин. При додаванні 0,5 мМ плюмбуму в середовище спостерігали зменшення кількості даного пігменту в клітинах (рис. 4 Б). З підвищенням концентрації плюмбуму вміст окенону значно зменшувався. При концентрації Pb²⁺ 2,5 мМ відмічено найменшу кількість окенону ($0,71 \pm 0,01$ мг/г сухої маси клітин).

Очевидно, що процес синтезу пігментів пурпурових сіркових бактерій *C. okenii* є чутливим до впливу іонів плюмбуму, які виявляють інгібуючу дію.

Як видно з рис. 5.1, клітини *C. okenii* є паличкоподібними (прямими або злегка зігнутими), овальними із заокругленими кінцями. Діаметр становить 1–6 мкм при довжині 1,5–1,6 мкм. У присутності сульфиду на світлі в клітинах з'являються глобули сірки (С). Суспензії клітин мають коричневе або пурпурово-червоне забарвлення. На електронномікроскопічних фотографіях спостерігали внутрішньоцитоплазматичні мембранні системи везикулярного типу.

Внесення солей плюмбуму в концентраціях 0,5-2,5 мМ (рис. 5.2) призводить до порушень при поділі клітин, змінює їх форму, спричиняє появу клітин великих розмірів, зміну внутрішньоцитоплазматичних структур, клітини набувають не характерних форм.

Імовірно, бактерії *C. okenii* акумулюють метал, відкладаючи його на поверхні клітини за рахунок утворення комплексу з білками клітинної мембрани. Крім того, іони металу нагромаджуються всередині клітин [21]. Очевидно, плюмбум нагромаджується у результаті надходження через транспортні системи. Після проникнення всередину клі-

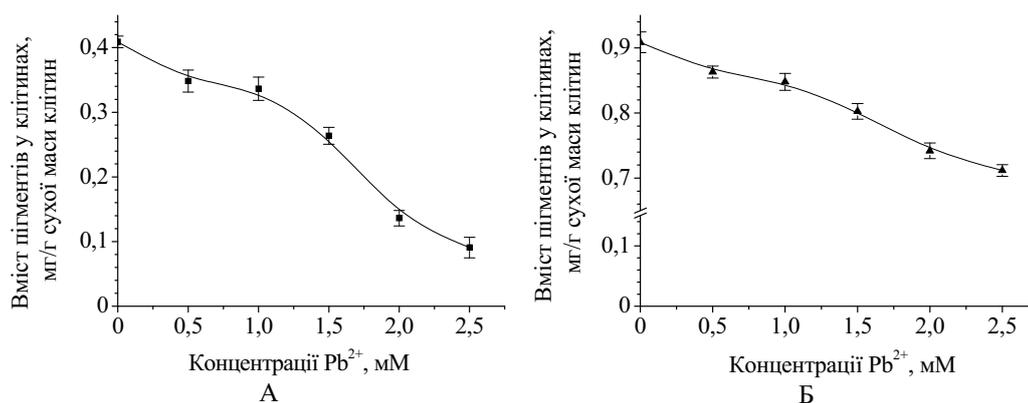


Рис. 4. Вміст пігментів у клітинах бактерій *C. okenii* під час росту з різними концентраціями Pb²⁺: А – бактеріохлорофіл *a*; Б – окенон.

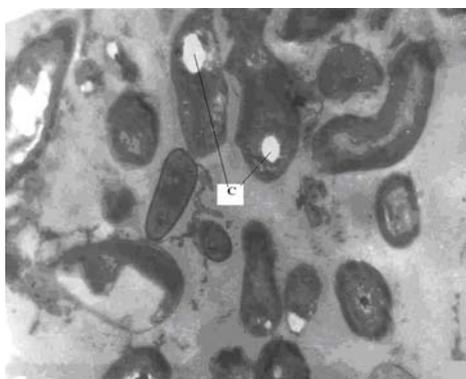


Рис. 5.1. Клітини бактерій *C. okenii* під час росту в середовищі без додаткового внесення Pb^{2+} ($\times 8\ 000$).

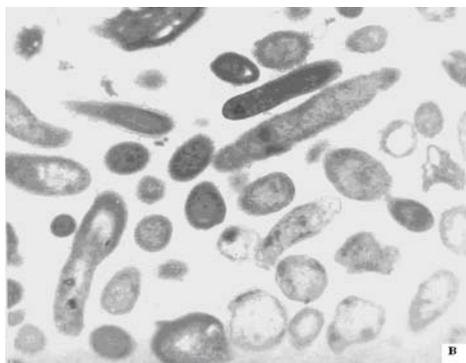
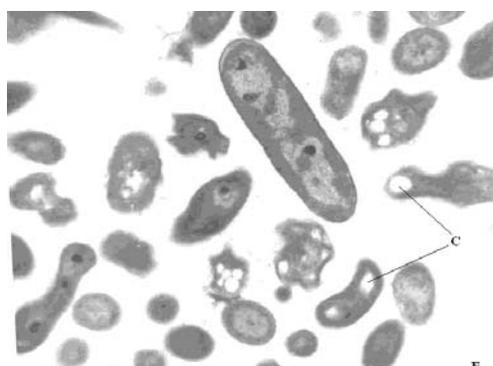
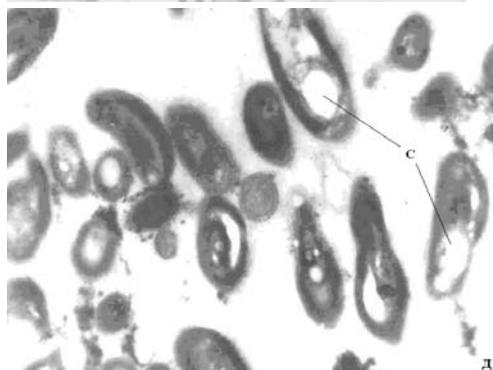


Рис. 5.2. Клітини *C. okenii* при рості в середовищі з різними концентраціями Pb^{2+} : А – 0,5 мМ; Б – 1,0 мМ; В – 1,5 мМ; Г – 2,0 мМ; Д – 2,5 мМ ($\times 6000$).



тини відбувається його зв'язування з білками цитоплазми та внутрішньоклітинними структурами або утворення нерозчинних продуктів [20].

1. *Авакян З. А.* Токсичность тяжелых металлов для микроорганизмов // Микробиология. 1973. Т. 2. С. 5–46.
2. *Брюханов А. Л., Нетрусов А. И.* Каталаза и супероксиддисмутаза: распространение, свойства и физиологическая роль в клетках строгих анаэробов // Биохимия. 2004. Т. 69. № 9. С. 1170–1186.
3. *Гудзь С. П., Коструба М. Ф., Гнатуш С. О.* та ін. Сіркові бактерії Яворівського сіркового родовища та проблеми рекультивації земель // Вісн. Одес. ун-ту. Сер. біол. 2002. Вип. 10. № 4. С. 72–75.
4. *Гудзь С. П., Баран І. М., Кім Л. Я.* та ін. Стан водоймищ недіючого Яворівського сіркового родовища; мікробіологічний та хімічний аспекти // Наука і молодь: Матеріали Міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених. К., 2002. С. 182.
5. *Гудзь С. П., Баран І. М., Гнатуш С. О.* та ін. Зелені сіркобактерії водойм Яворівського сіркового родовища // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2002. Вип. 28. С. 246–251.
6. *Кім Л. Я., Гудзь С. П., Гнатуш С. О.* та ін. Пігментний склад фототрофних пурпурових сіркобактерій // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2003. № 34. С. 32–35.
7. *Кондратьева Е. Н., Максимова И. В., Самуилов В. Д.* Фототрофные микроорганизмы. М.: Изд-во МГУ, 1989. С. 97–112.
8. *Кондратьева Е. Н.* Фотосинтезирующие бактерии. М.: Изд-во МГУ, 1989. С. 82–103.
9. *Кушкевич І. В.* Вплив атмосферного кисню на аноксигенні фототрофні пурпурові сіркобактерії // Матеріали наук. конф. студентів біол. ф-ту Львів. нац. ун-ту імені Івана Франка. Львів, 2004. С. 47–51.
10. *Лакін Г. Ф.* Биометрия. М.: Высшая шк., 1990. 352 с.
11. *Лукін В. А.* Забруднення навколишнього середовища свинцем та його вплив на перебіг та лікування інфекційних кишкових захворювань людини // Екологія довкілля та безпека життєдіяльності. 2004. № 2. С. 47–54.
12. *Монин А. С., Шишков Ю. А.* Глобальные экологические проблемы. М.: Знание, 1990. С. 28–35.
13. *Мусієнко М. М., Паршикова Т. В., Славний П. С.* Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. К.: Фітоцентр, 2001. 200 с.
14. *Паперно Т. Я., Позняков В. П., Смирнова А. А.* та ін. Физико-химические методы исследования в органической и биологической химии. М.: Просвещение, 1977. 176 с.
15. *Паронян А. Х.* Рост фототрофной бактерии *Rhodobacter sphaeroides* и образование ею каротиноидов на минеральной воде “Джермук” // Микробиол. журн. 2002. Т. 64. № 2. С. 28–34.
16. *Петушкова Ю. П., Ивановский Р. Н.* Дыхание клеток *Thiocapsa roseopersicina* // Микробиол. 1976. Вып. 1. С. 389–395.
17. *Подопригора О. І., Полулях О. В., Дацюк М. М.* та ін. Одержання високопродуктивних штамів дріжджів *Phaffia rodoyuta* – продуцентів каротиноїдів // Микробиол. журн. 1996. Т. 58. № 4. С. 19–24.
18. *Таширєв О. Б.* Біотехнології очищення промислових стічних вод на основі термодинамічного прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами та радіонуклідами: Автореф. дис. ... д-ра тех. наук. К., 2005. 42 с.
19. *Таширєв А. Б.* Взаимодействие микроорганизмов с металлами // Микробиол. журн. 1995. № 2. С. 95–101.
20. *Таширєв А. Б.* Теоретические аспекты взаимодействия микроорганизмов с металлами. Восстановительная трансформация металлов // Микробиол. журн. 1994. № 6. С. 76–87.

21. Таширеві А. Б. Теоретическі аспекти взаємодії мікроорганізмів з металлами. Мікробна акумуляція металів, обумовлена їх стереохімічною аналогією з макроелементами // Мікробіол. журн. 1994. № 6. С. 89–97.
22. Хоулт Дж., Круг Р., Снит П. і др. Определитель бактерий Берджи. М.: Мир. 1997. Т. 1. 426 с.
23. Blankenship R. E., Madigan M. T., Bauer C. E. Anoxygenic Photosynthetic Bacteria. Advances in Photosynthesis. USA. 1995. 1368 P.
24. Britton G. General carotenoid methods // Methods in enzymology. London: Academic press. 1985. Vol. 3. Part B. P. 113–145.
25. Frigard et al. Spectrochromatography of photosynthetic pigments as fingerprinting technique for microbial phototrophs // FEMS Microbiol. Ecol. 1996. N 20. P. 69–77.
26. Hirschler-Rea A., Matheron R., Riffaud C. Isolation and characterization of spirilloid purple phototrophic bacteria forming red layers in microbial mats of Mediterranean salterns in description of Halorhodospira neutrophila sp. nov. and emendation of the genus Halorhodospira // Inter. J. of Systematic and Evolutionary Microbiol. 2003. N 53. P. 153–165.
27. Oelze J. Analysis of Bacteriochlorophylls // Method Microbiol. 1985. N 18. P. 257–284.
28. Overmann Jörg. Diversity and ecology of phototrophic sulfur bacteria // Microbiology Today. 2005. Vol. 28. P. 116–118.
29. Overmann J. & Garcia-Pichel F. The Phototrophic Way of Life. The Prokaryotes // New York: Springer. 2000. P. 134–141.
30. Reynolds E. S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy // J. Cell Biol. 1963. Vol. 17. P. 208–212.

INFLUENCE OF DIFFERENT Pb^{2+} CONCENTRATIONS ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF PHOTOTROPHIC SULFUR BACTERIA *CHROMATIUM OKENII*

I. Kushkevych, S. Hnatysh, S. Gudzy, O. Kulachkovskiy, A. Fedorovych

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: Ivan_Kushkevych@ukr.net*

The growth of *Chromatium okenii* in Van-Niel medium under the influence of different plumbum ions concentrations is investigated. It is shown that the addition of Pb^{2+} to the medium inhibits the growth of phototrophic sulfur bacteria. The velocity of oxygen uptake by *C. okenii* during the growth in the medium with plumbum ions is determined. The analysis of absorption spectra of purple sulfur bacteria pigments at different Pb^{2+} concentrations is carried out. The qualitative and quantitative composition of main photosynthetic pigments of cells at these conditions is determined. It is established that the ultrastructure of *C. okenii* cells changes under the influence of hydrogen sulfide.

Key words: purple sulfur bacteria, plumbum, toxicity, oxygen uptake, bacteriochlorophylls, carotenoides.

Стаття надійшла до редколегії 11.01.08

Прийнята до друку 18.01.08