



УДК: 579.811.2/3+577.12.+577.151

## ВПЛИВ СОЛЕЙ МЕТАЛІВ НА ВІДНОВЛЕННЯ НІТРАТІВ СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИМИ БАКТЕРІЯМИ

**О. М. Мороз**

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: moroz\_oksana@yahoo.com

Встановлено, що штами сульфатвідновлювальних бактерій *Desulfovibrio desulfuricans* IMB K-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-6 і *Desulfovibrio* sp. Yav-8, виділені з озера Яворівське, здатні здійснювати дисиміляційну нітратредукцію за відсутності сульфатів у середовищі. Внесення у середовище іонів нітрату негативно впливало на рівень редукції бактеріями іонів сульфату, оскільки за росту в середовищі з амоній хлоридом та еквімолярною кількістю (3,5 мМ) сульфатів і нітратів бактерії відновили тільки до 37,2% наявних у середовищі іонів сульфату. За 10 діб росту в середовищі без сульфатів і амоній хлориду з цистеїном та нітратами бактерії всіх штамів майже повністю використали наявні у середовищі іони нітрату з утворенням до 2,3 мМ  $\text{NH}_4^+$ . Значне зниження росту сульфатвідновлювальних бактерій спостерігали за впливу 2 мМ солей плумбуму, кобальту, кадмію та нікелю і 3 мМ солей феруму, цинку, магнію та купруму. Солі плумбуму, кобальту, кадмію, нікелю, магнію, феруму, купруму та цинку за концентрації 3 мМ, які додавали у середовище без сульфатів і амоній хлориду з цистеїном і нітратами, менш ніж у 3,8 рази інгібували ріст бактерій та у 4 рази – інтенсивність амоніфікації клітинами нітратів.

**Ключові слова:** сульфатвідновлювальні бактерії, нітрат, нітрит, амоній, соли металів.

### ВСТУП

Нітроген є одним із найбільш життєво важливих елементів на Землі, зокрема, він є складовою макромолекул білків, нуклеїнових кислот та інших компонентів клітин. У сполуках він перебуває з різними ступенями окиснення від  $\text{N}^{+3}$  до  $\text{N}^{+5}$ , взаємоперетворення яких у процесах нітрифікації (окиснювальної конверсії амонію до нітрату) і денітрифікації (відновлення нітрату до нітриту, нітроген оксидів:  $\text{NO}$  і  $\text{N}_2\text{O}$ ;  $\text{N}_2$  або  $\text{NH}_4^+$ ) входить до глобального біохімічного циклу нітрогену. Відновлення нітрату до нітритів у бактерій каталізують три різні ферменти, які містять у своєму складі молібден: цитоплазматична асиміляційна, мембранозв'язана респіраторна та периплазматична дисиміляційна нітратредуктази [18]. Відновлення нітрату виконує кілька фізіологічних функцій: 1) використання  $\text{NO}_3^-$  як джерела нітрогену (аси-

міляція нітрату); 2) утворення метаболічної енергії під час утилізації  $\text{NO}_3^-$  як кінцевого акцептора електронів (нітратне дихання); 3) дисипація чи розсіяння надлишку енергії відновлення для підтримання окисно-відновного балансу клітин (дисиміляція нітрату) [9].

Найбільш доступним джерелом нітрогену для сульфатвідновлювальних бактерій є іони амонію, який утворюється ними внаслідок азотфіксації або відновлення нітратів [4]. Ці бактерії, окиснюючи органічні сполуки або  $\text{H}_2$ , окрім сульфатів, можуть використовувати й інші акцептори електронів, такі як небезпечні для довкілля нітрат або нітрит, здійснюючи таким чином їх детоксикацію. Здатність до відновлення нітратів описано для бактерій родів *Desulfovibrio* [14, 16, 17, 20], *Desulfobacterium* [21] і *Desulfobulbus* [23]. Хоча нітрат виявляв інгібуючий вплив на метаболізм штаму *Desulfovibrio vulgaris* [10], він ріс анаеробно в атмосфері аргону з нітратом, якщо потреби у сульфурі для асиміляційних процесів задовольнялися додаванням цистеїну. З нього виділено периплазматичну нітритредуктазу, яка відновлювала нітрит до амонію і виявилася б-гемовим цитохромом класу с [19]. Відмінності у структурі нітратредуктази штамів бактерій одного виду можуть бути причиною різних механізмів регуляції її активності [10]. Описано дисиміляційну нітратредукцію у *Desulfovibrio desulfuricans*, яка супроводжувала сульфатредукцію, якщо вміст нітрату не перевищував 0,1% [20]. Одні штами цього виду здійснювали нітратредукцію і за відсутності сульфату, у інших синтез нітратредуктази індукувався у присутності нітрату і репресувався за наявності в середовищі сульфату або нітрату і сульфатредукція відбувалися одночасно [16, 17].

Однією з основних проблем стану навколишнього середовища є наявність сполук токсичних металів, радіонуклідів у ґрунтах, природних і техногенних водоймах, стоках промислових підприємств, вміст яких подекуди значно перевищує гранично допустимі концентрації. Найбільш небезпечними забруднювачами довкілля вважаються кадмій, хром, купрум, плумбум, нікель, цинк [15]. Іони цих металів за високих концентрацій негативно впливають на структуру поверхневих шарів і цілісність цитоплазматичної мембрани бактерій, змінюють значення трансмембранного потенціалу, пригнічують більшість процесів метаболізму [3, 8]. У техногенній водоймі, яка виникла на місці недіючого Яворівського державного гірничо-хімічного сірководобного підприємства, постійно виявляються у високих концентраціях не лише сполуки сульфуру (сульфати, гідроген сульфід) і нітрогену (нітрати, нітрити) з різним ступенем окиснення цих елементів, але і токсичні метали, зокрема, редокс-активні [6]. Тому метою роботи було дослідити вплив деяких солей металів на здатність штамів сульфатвідновлювальних бактерій роду *Desulfovibrio*, виділених із Яворівського озера, відновлювати нітрати.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом досліджень були сульфатвідновлювальні бактерії *Desulfovibrio desulfuricans* IMB K-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-6 і *Desulfovibrio* sp. Yav-8, виділені з водойми Яворівського сірководобного родовища. Штами ідентифіковані та зберігаються в колекції кафедри мікробіології Львівського національного університету імені Івана Франка [5, 7].

Бактерії вирощували у середовищі Кравцова-Сорокіна [2] за анаеробних умов у пробірках, об'ємом 25 мл, доверху заповнених середовищем і щільно закритих гумовими корками, при 30°C упродовж 10 діб.

Для дослідження здатності сульфатвідновлювальних бактерій використовувати сульфати і нітрати їх вирощували до середини експоненційної фази росту, осаджували центрифугуванням (центрифуга ОС-6М) при 6 тис. об./хв упродовж 20 хв і вносили в середовище з однаковим вмістом цих іонів – 3,5 мМ (стандартний вміст іонів сульфату в середовищі Кравцова-Сорокіна) з  $\text{NH}_4\text{Cl}$  в кількості 10% (об'ємна частка) до початкової концентрації клітин 0,05 г/л або близько  $10^8$  КУО/мл у середовищі культивування, вирощували впродовж 10 діб. До середовища лише з іонами нітрату (стерильним розчином  $\text{NaNO}_3$ ) вносили сульфурвмісну амінокислоту цистеїн (0,15 г/л) для задоволення асиміляційних потреб бактерій у сульфурі.

Щоб перевірити здатність клітин здійснювати дисиміляційне відновлення нітратів бактерії вирощували впродовж 10 діб у середовищі без сульфатів і без  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (густина засіву –  $10^8$  КУО/мл). До середовища вносили цистеїн (0,15 г/л), а також стерильний розчин  $\text{NaNO}_3$  у концентрації, еквімолярній концентрації сульфатів стандартного середовища (3,5 мМ).

Біомасу визначали за оптичною густиною суспензії клітин шляхом її фотометрування на фотоелектроколориметрі КФК-3 при 340 нм, у кюветі з оптичним шляхом 3 мм і розраховували за формулою:  $C, \text{ г/л} = (E_{340} \times n) / K$ , де  $E$  – екстинкція при 340 нм;  $n$  – фактор розведення;  $K$  – коефіцієнт перерахунку, отриманий за калібрувальною кривою залежності екстинкції від маси сухих клітин, визначеної ваговим методом, який дорівнює 0,19. Для виявлення молекулярного азоту в пробірці поміщали поплавки запаяним кінцем догори, у культуральній рідині визначали концентрації сульфатів турбідиметричним методом [1], нітратів, нітритів спектрофотометричним [12] і амонію колориметричним методом за утворенням індофенолу [13].

Для визначення впливу солей металів на нагромадження бактеріями біомаси клітини осаджували центрифугуванням упродовж 20 хв при 6 тис. об./хв, ресуспендували у стерильному 0,9% розчині  $\text{NaCl}$  та за стерильних умов інкубували впродовж 1 год із різними об'ємами стерильних 1 М водних розчинів  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{ZnCl}_2$ ,  $\text{NiCl}_2$ ,  $\text{CoCl}_2$ ,  $\text{FeCl}_2 \times 4 \text{ H}_2\text{O}$ ,  $\text{CdCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgCl}_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuCl}_2$  за концентрацій у інкубаційній суміші 0 (контроль); 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4 мМ, осаджували центрифугуванням упродовж 20 хв при 6 тис. об./хв, двічі відмивали фізіологічним розчином і висівали у середовище зі сульфатами (початкова концентрація клітин –  $10^8$  КУО/мл). Після 10 діб росту визначали біомасу.

Для визначення впливу солей металів на відновлення бактеріями нітратів клітини вирощували у середовищі без  $\text{SO}_4^{2-}$  та  $\text{NH}_4\text{Cl}$  з цистеїном (0,15 г/л),  $\text{NO}_3^-$  (3,5 мМ) та розчинами солей металів:  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{ZnCl}_2$ ,  $\text{NiCl}_2$ ,  $\text{CoCl}_2$ ,  $\text{FeCl}_2 \times 4 \text{ H}_2\text{O}$ ,  $\text{CdCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgCl}_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuCl}_2$ , концентрацією у середовищі 3 мМ. Контроль – середовище без додавання солей металів. Для засіву використовували суспензію добової культури мікроорганізмів, початкова концентрація клітин у середовищі – близько  $10^8$  КУО/мл. Після 10-ї доби росту визначали біомасу, концентрації нітратів і амонію.

Статистичну обробку результатів проводили загальноприйнятими методами з використанням програми "Microsoft Excel 2003". Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками альтернативних сукупностей даних обчислювали коефіцієнт Стьюдента, достовірною вважалася різниця при рівні значимості  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

У зв'язку з існуванням відмінностей у механізмах регулювання активності нітратредуктази залежно від її структури у різних штамів виду *Desulfovibrio desulfuricans*

вивчали рівень відновлення *D. desulfuricans* IMB K-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-6 та *Desulfovibrio* sp. Yav-8 сульфатів і нітратів за їх однакової вихідної концентрації у середовищі (див. таблицю). Після 10 діб культивування у середовищі зі сульфатами і амоній хлоридом сульфатвідновлювальні бактерії нагромаджували біомасу 3,2–3,4 г/л, використовуючи 96,8–98,6% іонів сульфату. Незважаючи на те, що за росту в середовищі з нітратами й амоній хлоридом клітини використали до 99,1% внесених у середовище іонів нітрату, біомаса виявилася в 1,7 разу нижчою, ніж у середовищі зі сульфатами. За росту в середовищі з 3,5 мМ сульфатів і нітратів бактерії використали до 37,2 і до 64,3% наявних у середовищі іонів сульфату й нітрату, відповідно. Очевидно, внесення у середовище нітрату негативно впливає на рівень редукції бактеріями іонів сульфату, крім цього, за умов культивування бактерій у присутності амоній хлориду та еквімолярної кількості сульфатів і нітратів, останні використовуються бактеріями більшою мірою. Вирішальною умовою, необхідною для активного синтезу білка в мікробних клітинах, є їх забезпечення амонієм. За наявності у середовищі іонів амонію та нітратів бактерії відновлювали нітрати, використовуючи їх як акцептор електронів дисиміляційної нітратредукції. Нітроген нітратів не використовувався бактеріями для асиміляційних потреб, оскільки вони забезпечувалися наявними у середовищі іонами амонію. Отже, шляхи регулювання нітратредукції у штамів *D. desulfuricans* IMB K-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-6 і *Desulfovibrio* sp. Yav-8 виявились однаковими. Досліджені штами сульфатвідновлювальних бактерій здійснювали нітратредукцію і за відсутності сульфатів у середовищі. Бактерії роду *Desulfovibrio* здійснювали нітратредукцію, яка супроводжувала сульфатредукцію, навіть якщо вміст нітрату дорівнював вмісту сульфатів стандартного середовища, хоча за такої концентрації  $\text{NaNO}_3$  дещо інгібував процес.

**Використання  $\text{SO}_4^{2-}$  і  $\text{NO}_3^-$  сульфатвідновлювальними бактеріями за 10 діб росту в середовищі з  $\text{NH}_4\text{Cl}$ \***

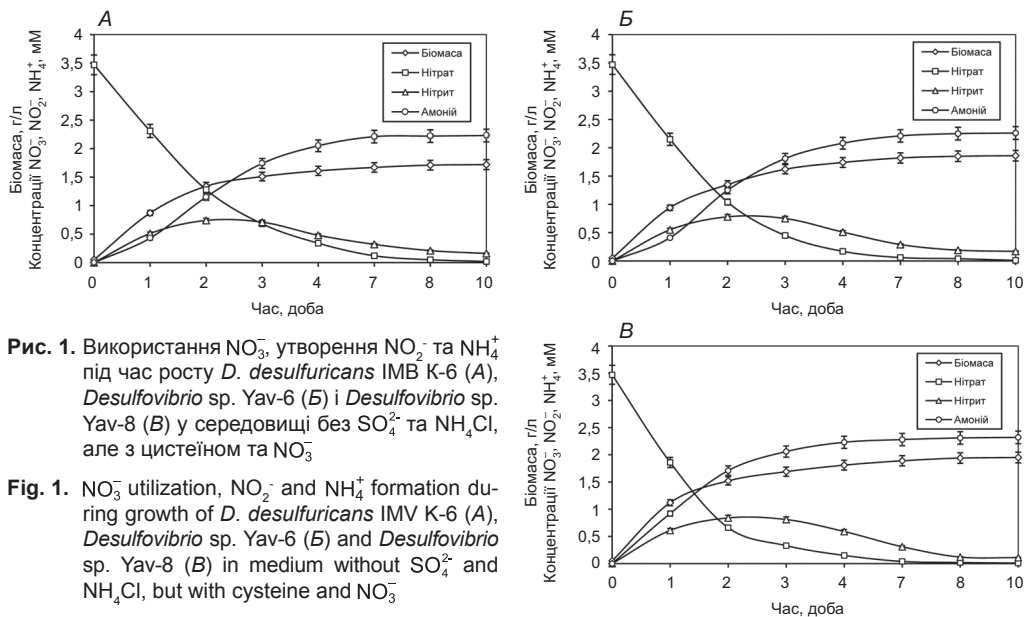
**$\text{SO}_4^{2-}$  and  $\text{NO}_3^-$  utilization by sulfate reducing bacteria after 10 days of growth in medium supplemented with  $\text{NH}_4\text{Cl}$**

Штам	Акцептор електронів анаеробного дихання	Залишковий вміст у культуральній рідині		Рівень відновлення		Біомаса, г/л
		$[\text{SO}_4^{2-}]$ , мМ	$[\text{NO}_3^-]$ , мМ	$[\text{SO}_4^{2-}]$ , %	$[\text{NO}_3^-]$ , %	
<i>D. desulfuricans</i> IMB K-6	$\text{SO}_4^{2-}$	0,11±0,02	0	96,8	0	3,17±0,02
	$\text{SO}_4^{2-}$ і $\text{NO}_3^-$	2,18±0,05	1,34±0,08	37,2	61,4	2,24±0,06
	$\text{NO}_3^{-**}$	0	0,05±0,01	0	98,6	1,84±0,08
<i>Desulfovibrio</i> sp. Yav-6	$\text{SO}_4^{2-}$	0,09±0,01	0	97,4	0	3,28±0,11
	$\text{SO}_4^{2-}$ і $\text{NO}_3^-$	2,21±0,09	1,29±0,05	36,3	62,8	2,35±0,06
	$\text{NO}_3^{-**}$	0	0,04±0,01	0	98,8	1,93±0,02
<i>Desulfovibrio</i> sp. Yav-8	$\text{SO}_4^{2-}$	0,05±0,01	0	98,6	0	3,41±0,04
	$\text{SO}_4^{2-}$ і $\text{NO}_3^-$	2,26±0,08	1,24±0,07	34,9	64,3	2,52±0,03
	$\text{NO}_3^{-**}$	0	0,03±0,01	0	99,1	2,02±0,02

**Примітки:** \* – вихідна концентрація  $\text{SO}_4^{2-}$  і  $\text{NO}_3^-$  у середовищі – 3,5 мМ; \*\* – до середовища з іонами нітрату вносили цистеїн (0,15 г/л)

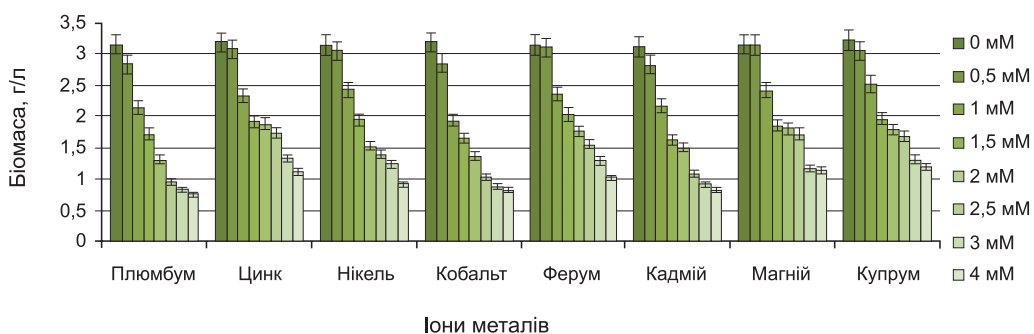
**Comments:** \* – initial concentration  $\text{SO}_4^{2-}$  and  $\text{NO}_3^-$  in medium – 3.5 mM; \*\* – cysteine (0.15 g/l) was added to medium with nitrate ions

За 10 діб росту *D. desulfuricans* IMB K-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-6 і *Desulfovibrio* sp. Yav-8 у середовищі без сульфатів і амоній хлориду з цистеїном та нітратами бактерії всіх штамів майже повністю використали наявні у середовищі іони нітрату з утворенням до 2,3 мМ  $\text{NH}_4^+$  (рис. 1). Упродовж перших двох діб росту бактерій спостерігали нагромадження у середовищі  $\text{NO}_2^-$ , який до кінця культивування практично повністю відновлювався до амонію. Під час росту *Desulfovibrio* sp. Yav-6 і *Desulfovibrio* sp. Yav-8, як і *D. desulfuricans* IMB K-6, виділення молекулярного азоту не спостерігали. Оскільки у середовище не вносили амоній хлориду, джерелом нітрогену для асиміляційних потреб клітин були тільки іони нітрату. Частина утворених у процесі амоніфікації нітратів іонів амонію, очевидно, включалася у конструктивний метаболізм, а частина нагромаджувалася в середовищі, оскільки молярна концентрація виявлених у культуральній рідині іонів амонію виявилася нижчою, ніж молярна концентрація нітратів, внесених у середовище на початку культивування.



Біотехнологічний потенціал сульфатвідновлювальних бактерій полягає у їхній здатності очищувати водні середовища від органічних сполук, гідроген сульфід, сульфатів, нітратів і металів, токсичність яких є вагомою перешкодою для практичного застосування цих бактерій. Вони можуть ферментативно відновлювати ряд металів із змінною валентністю (Fe (III), Mn (IV), Cr (VI), U (VI), Tc (VI), Pd (II) ) до менш токсичних малорозчинних форм. Гідроген сульфід, утворений бактеріями у процесі дисиміляційної сульфатредукції, осаджує важкі метали (Cu (II), Cd (II), Ni (II), Pb (II), Zn (II)) у формі нерозчинних сульфідів або є сильним відновлюючим агентом, який сприяє неферментативній редукції металів до більш відновлених форм. Утворення сульфідів металів – основний механізм, за рахунок якого сульфатвідновлювальні бактерії видаляють їх із розчину [11]. Час повного поглинання іонів металів бактеріями переважно становить до п'яти хвилин, проте він не перевищує години [22]. Тому для вивчення впливу іонів металів на ріст сульфатвідновлювальних бактерій клітини інкубували впродовж години зі солями металів і культивували у середовищі

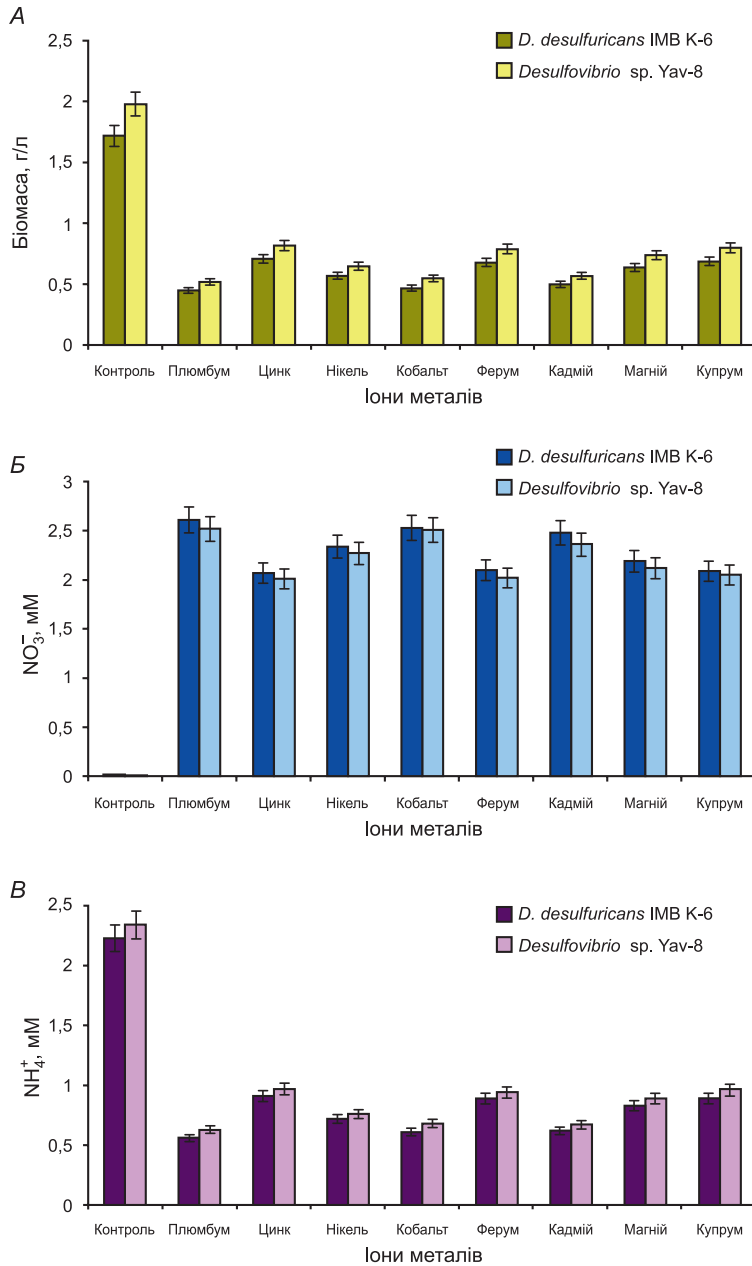
зі сульфатами без іонів металів, щоб уникнути утворення їхніх сульфідів у культуральній рідині (рис. 2). Найбільш негативний вплив на нагромадження біомаси *D. desulfuricans* IMB K-6 виявляли іони плумбуму, кобальту, кадмію та нікелю, за впливу 2 мМ солей яких спостерігали значне зниження росту бактерій. Солі інших досліджених металів (феруму, цинку, магнію та купруму) інгібували ріст бактерій за концентрації 3 мМ. Цю концентрацію солей металів було обрано для вивчення їхнього впливу на відновлення сульфатвідновлювальними бактеріями нітратів.



**Рис. 2.** Вплив солей металів на нагромадження біомаси *D. desulfuricans* IMB K-6 після 10 діб росту в середовищі зі сульфатами. \* –  $p \leq 0,05$

**Fig. 2.** Influence of metal salts on biomass accumulation by *D. desulfuricans* IMV K-6 after 10 days of growth in medium with sulfates. \* –  $p \leq 0.05$

Солі металів, які додавали у середовище без сульфатів і амоній хлориду з цистеїном та нітратами, значно пригнічували рівень нагромадження *D. desulfuricans* IMB K-6 і *Desulfovibrio* sp. Yav-8 біомаси, знижували інтенсивність відновлення клітинами нітратів і утворення іонів амонію (рис. 3). Найбільше інгібували ріст бактерій іони плумбуму (у 3,8 разу), найменше – цинку (у 2,4 разу). Якщо клітини бактерій, які виростили у середовищі без солей металів, за 10 діб практично повністю використали наявні у середовищі іони нітрату (3,5 мМ) з нагромадженням 2,23–2,34 мМ  $\text{NH}_4^+$ , то у присутності іонів металів їхня здатність до відновлення нітратів різко знижувалася, тому в культуральній рідині виявлено до 2,61 мМ іонів нітрату. За впливу солей металів бактерії нагромаджували значно менше іонів амонію – лише до 0,97 мМ. За токсичним впливом на процеси росту й дисиміляційного відновлення нітратів сульфатвідновлювальними бактеріями досліджені іони металів можна розмістити у такій послідовності: іони плумбуму, кобальту, кадмію, нікелю, магнію, феруму, купруму та цинку. Оскільки токсична дія металів на бактерійну клітину полягає у руйнуванні поверхневих структур клітинної стінки, зміні поверхневого заряду і електрофізіологічних властивостей плазматичної мембрани, блокуванні транспортних систем, витісненні або заміщенні необхідних іонів з активних центрів ферментів, зв'язуванні з функціональними групами важливих клітинних метаболітів [8], їхній негативний вплив на активність молібденвмісної мембранозв'язаної дисиміляційної нітратредуктази у бактерій роду *Desulfovibrio* [18] можна пояснити як модифікацією активної конформації та денатурацією білкової молекули, зокрема, в результаті можливого заміщення молібдену активного центру ферменту іншим металом, так і пошкодженням структури цитоплазматичної мембрани.



**Рис. 3.** Біомаса (А), використання NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Б), утворення NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (В) під час росту *D. desulfuricans* IMB K-6 і *Desulfovibrio* sp. Yav-8 у середовищі без SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> та NH<sub>4</sub>Cl, але з цистеїном, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> та солями металів (3 мМ)

**Fig. 3.** Biomass (A), NO<sub>3</sub><sup>-</sup> utilization (Б), NH<sub>4</sub><sup>+</sup> formation (B) during growth of *D. desulfuricans* IMV K-6 and *Desulfovibrio* sp. Yav-8 in medium without SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> and NH<sub>4</sub>Cl, but with cysteine, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and salts of metals (3 mM)

## ВИСНОВОК

Отже, встановлено, що нітроген нітрату використовується сульфатвідновлювальними бактеріями, виділеними з озера Яворівське, як акцептор електронів дисиміляційної нітратредукції, відновленим продуктом якої є амоній, що нагромаджується у середовищі та може використовуватися клітинами для конструктивних потреб. Шляхи регулювання активності нітратредуктази у штамів *D. desulfuricans* IMB K-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-6 і *Desulfovibrio* sp. Yav-8 виявились однаковими, оскільки бактерії відновлювали нітрати за відсутності сульфатів у середовищі, причому іони нітрату пригнічували здійснювану бактеріями дисиміляційну сульфатредукцію. Виявлено негативний вплив іонів плюмбуму, кобальту, кадмію, нікелю, магнію, феруму, купруму та цинку на ріст і дисиміляційне відновлення (або амоніфікацію) нітратів сульфатвідновлювальними бактеріями.

1. Бабко А.К., П'ятницький І.В. **Кількісний аналіз**. Київ: Вища школа, 1974. 243 с.
2. Каравайко Г.И., Кузнецов С.И., Голомзик А.И. **Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд**. Москва: Наука, 1972. 215 с.
3. Кушкевич І., Гнатуш С., Гудзь С. Вплив важких металів на клітини мікроорганізмів. **Вісник Львів. ун-ту. Сер. біол.** 2007; 45: 3–28.
4. Мальцева Н.Н. Вилесов Г.И., Давыдова О.Е. Интенсификация биологической азотфиксации при использовании аммонийно-карбонатных соединений и пути их воздействия на микроорганизмы и растения. **Мікробіол. журнал**, 2000; 62(3): 56–65.
5. Мороз О.М. Закономірності утворення сірководню сульфатвідновлювальними бактеріями водойми кар'єру Яворівського сіркового родовища. **Наук. вісник Ужгород. ун-ту. Сер. біол.** 2010; 27: 56–63.
6. Мороз О.М., Колісник Я.І., Подопрігора О.І. та ін. Мікрофлора води озера "Яворівське". **Наук. вісник Ужгород. ун-ту. Сер. біол.** 2008; 24: 131–138.
7. Перетятко Т.Б., Гнатуш С.О., Гудзь С.П. Сульфатвідновлювальні бактерії водойм Яворівського сіркового родовища. **Мікробіол. журнал**, 2006; 68(5): 87–93.
8. Перетятко Т., Гудзь С., Галушка А. Використання металів як кінцевих акцепторів електронів сульфатвідновлювальними бактеріями. **Біологічні студії**, 2009; 3(3): 141–158.
9. **Современная микробиология. Прокариоты** / ред. Й. Ленгелер, Г. Дреус, Г. Шлегель. Москва: Мир, 2005; 1: 654 с.
10. Тарасова Н.Б., Горшков О.В., Петрова О.Е. Нитратредуктазная активность *Desulfovibrio vulgaris* ВКМ 1388. **Мікробіологія**, 2009; 78(2): 192–196.
11. Франк Ю.А., Лушников С.В. Биотехнологический потенциал сульфатредуцирующих бактерий. **Экология и промышленность**, 2006; 1: 10–13.
12. Granger D.L., Taintor R.R., Boockvar K.S. et al. Measurement of nitrate and nitrite in biological samples using nitrate reductase and Griess reaction. **Methods Enzymol**, 1996; 268: 142–151.
13. Manabe T. New modification of Lubochinsky's indophenols method for direct microanalysis of ammonia-N in sea water. **Jap. Soc. Sci. Fish. Bull**, 1969; 35: 897–906.
14. McCreedy R.G.L., Gould W.D., Cook F.D. Respiratory nitrate reduction by *Desulfovibrio* sp. **Arch. Microbiol**, 1983; 135(3): 182–185.
15. McEldowney S. Microbial biosorption of radionuclides in liquid effluent treatment. **Appl. Biochem. and Biotechnol**, 1990; 5: 159–179.
16. Keith S.M., Herbert R.A. Dissimilatory nitrate reduction by a strain of *Desulfovibrio desulfuricans*. **FEMS Microbiol. Lett**, 1983; 18(1–2): 55–59.
17. Mitchell G.J., Jones J.G., Cole J.A. Distribution and regulation of nitrate and nitrite reduction by *Desulfovibrio* and *Desulfotomaculum* species. **Arch. Microbiol**, 1986; 144(1): 35–40.
18. Morozkina E.V., Zvyagil'skaya R.A. Nitrate reductases: structure, functions, and effect of stress factors. **Biochemistry (Moscow)**, 2007; 72 (10): 1151–1161.



19. Postgate J.R. **The sulfate-reducing bacteria**. 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1984. 199 p.
20. Seitz H.J., Cypionka H. Chemolithotrophic growth of *Desulfovibrio desulfuricans* with hydrogen coupled to ammonification of nitrate or nitrite. **Arch. Microbiol.**, 1986; 146(1): 63–67.
21. Szewzyk R., Pfennig N. Complete reduction of catechol by the strictly anaerobic sulfate-reducing *Desulfovibrio catecholicum* sp. nov. **Arch. Microbiol.**, 1987; 147(2): 163–168.
22. White C., Sayer J.A., Gadd G.M. Microbial solubilization and immobilization of toxic metals: key biogeochemical processes for treatment of contamination. **FEMS Microbiol. Ecol.** 2000; 33: 197–208.
23. Widdel F., Pfennig N. Studies on dissimilatory sulfate-reducing bacteria that decompose fatty acids. II. Incomplete oxidation of propionate by *Desulfobulbus propionicus* gen. nov., sp. nov. **Arch. Microbiol.**, 1982; 131(4): 360–365.

---

## INFLUENCE OF SALTS OF METALS ON NITRATE REDUCTION BY SULFATE REDUCING BACTERIA

**O. M. Moroz**

*Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: moroz\_oksana@yahoo.com*

It was established that strains of sulfate reducing bacteria *Desulfovibrio desulfuricans* IMV K-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-6 and *Desulfovibrio* sp. Yav-8 isolated from Yavorivske lake, were able to carry out dissimilatory nitrate reduction in medium without sulfates. Addition of nitrate ions to medium negatively influenced on level of sulfate ions reduction by bacteria, since during growth in medium with ammonium chloride and equimolar quantity (3.5 mM) of sulfates and nitrates, bacteria reduced only up to 37.2% sulfate ions present in medium. After 10 days of growth in medium without sulfates and ammonium chloride but with cysteine and nitrates, bacteria of all strains almost completely utilized nitrate ions present in medium with formation of up to 2.3 mM NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Significant decrease in sulfate reducing bacteria growth was observed upon the influence of 2 mM plumbum, cobalt, cadmium and nickel salts and 3 mM ferrum, zinc, magnesium and cuprum salts. Plumbum, cobalt, cadmium, nickel, magnesium, ferrum, cuprum and zinc salts in 3 mM concentration which were added to medium without sulfated and ammonium chloride with cysteine and nitrates, inhibited less than 3.8 times bacteria growth, and 4 times – the intensity of nitrates ammonification by cells.

**Keywords:** sulfate reducing bacteria, nitrate, nitrite, ammonium, metal salts.

## ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ МЕТАЛЛОВ НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ НИТРАТОВ СУЛЬФАТВОССТАНАВЛИВАЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ

**O. M. Мороз**

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина  
e-mail: moroz\_oksana@yahoo.com*

Установлено, что штаммы сульфатвосстанавливающих бактерий *Desulfovibrio desulfuricans* ИМВ К-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-6 и *Desulfovibrio* sp. Yav-8, выделенные

из озера Яворовское, способны осуществлять диссимиляционную нитратредукцию при отсутствии сульфатов в среде. Внесение в среду ионов нитрата негативно влияло на уровень редукции бактериями ионов сульфата, поскольку при росте в среде с аммоний хлоридом и эквимолярным количеством (3,5 мМ) сульфатов и нитратов бактерии восстановили всего до 37,2% наличных в среде ионов сульфата. После 10 суток роста в среде без сульфатов и аммоний хлорида с цистеином и нитратами бактерии всех штаммов почти полностью использовали наличные в среде ионы нитрата с образованием до 2,3 мМ  $\text{NH}_4^+$ . Значительное снижение роста сульфатвосстанавливающих бактерий наблюдали под влиянием 2 мМ солей плюмбума, кобальта, кадмия и никеля и 3 мМ солей феррума, цинка, магния и купрума. Соли плюмбума, кобальта, кадмия, никеля, магния, феррума, купрума и цинка при концентрации 3 мМ, которые добавляли в среду без сульфатов и аммоний хлорида с цистеином и нитратами, менее чем в 3,8 раза ингибировали рост бактерий и в 4 раза – интенсивность аммонификации клетками нитратов.

**Ключевые слова:** сульфатвосстанавливающие бактерии, нитрат, нитрит, аммоний, соли металлов.

Одержано: 22.04.2013