



УДК 579.[222:846.2:26:695]:546.3

ВИКОРИСТАННЯ МЕТАЛІВ ЯК КІНЦЕВИХ АКЦЕПТОРІВ ЕЛЕКТРОНІВ СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИМИ БАКТЕРІЯМИ

Т. Б. Перетятко, А. А. Галушка, С. П. Гудзь

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

В огляді коротко охарактеризовані механізми токсичної дії важких металів на мікроорганізми та стійкість різних мікроорганізмів до них. Описано процеси ферментативного і неферментативного відновлення окиснених форм металів сульфатвідновлювальними бактеріями та фактори, які впливають на цей процес. Описано деякі сульфатвідновлювальні бактерії, що використовують метали як кінцевий акцептор електронів. Наведено дані про перспективи використання цих мікроорганізмів для очищення довкілля від важких металів. Акцентовано увагу на пошуках і застосуванні психрофільних штамів сульфатвідновлювальних бактерій у цих процесах.

Ключові слова: важкі метали, дисиміляційна сульфатредукція, сульфатвідновлювальні бактерії, відновлення металів, біоремедіація.

ВСТУП

Протягом останніх двох десятиліть інтенсивно досліджується група анаеробних мікроорганізмів – дисиміляційні металовідновлювальні бактерії [51, 53, 60]. Ці філогенетично різноманітні бактерії займають схожі екологічні ніші з сульфатвідновлювальними бактеріями, а також беруть участь у деструкції органічної речовини в природі. Окрім металів, ці бактерії для росту можуть використовувати також і сірковмісні оксоаніони (крім сульфатів) як акцептори електронів. Сульфатвідновлювальні та металовідновлювальні бактерії широко розповсюджені в природі і впливають на геохімічні цикли карбону, сульфору та металів у водному і ґрунтовому середовищах.

Продукт життєдіяльності сульфатвідновлювальних бактерій – гідроген сульфід – може взаємодіяти з іонами важких металів, утворюючи нерозчинні сульфідні метали, або відновлювати розчинні токсичні метали з утворенням менш токсичних чи менш розчинних форм [90]. Крім того, деякі сульфатвідновлювальні бактерії можуть відновлювати нітрат, кисень [19], арсенат [66], диспропорціонувати тіосульфат або елементну сірку до сульфату і сульфідну [40], окиснювати тіосульфат і сірку до сульфату в присутності Mn(IV) як акцептора електронів [54]. Встановлено також, що деякі сульфатвідновлювальні бактерії можуть ферментативно відновлювати Fe(III), U(IV) і Cr(VI) [55, 58].

1. Механізми токсичної дії важких металів на мікроорганізми

За участю бактерій відбувається осадження і міграція важких металів у водоймах та їх залучення в глобальні біогеохімічні цикли [7, 29]. Виділяють такі види взаємодії мікроорганізмів з металами [81]: мобілізацію, іммобілізацію, акумуляцію й утворення летких сполук. При мобілізації відбувається перетворення нерозчинних форм металів у розчинні, що призводить до підвищення їх біодоступності й потенційної токсичності [96]. Утворення хелатних комплексів при виділенні бактеріями органічних кислот, які зв'язують метали, сприяє збільшенню їх розчинності на чотири порядки [13]. При іммобілізації відбувається осадження сполук металів, наприклад, кадмію і свинцю при взаємодії з пероксидом водню, CO_2 , янтарною кислотою і H_2S , що утворюється при сульфатредукції. Акумуляція – це фізико-хімічний процес поглинання і відкладання металу на поверхні або в середині бактерій у більш високих концентраціях. Для кількісного вираження акумуляції використовують коефіцієнт відношення концентрації речовини в організмі до його концентрації в навколишньому середовищі [7]. Ефективність нагромадження важких металів мікроорганізмами залежить від виду і фізіологічного стану клітини, вмісту металу в середовищі та фізико-хімічної характеристики середовища [92]. Для мікробних клітин характерне нагромадження металів до певного рівня, після якого подальше збільшення їхньої концентрації в середовищі не призводить до більшого поглинання. Час піку поглинання металів бактеріями може коливатися від кількох секунд до однієї години після контакту з токсикантом, проте найчастіше достатньо п'яти хвилин [13]. Мертві клітини краще акумулюють метали, ніж живі, за рахунок пошкодження клітинної стінки. Нагромадження токсикантів усередині клітини залежить від функціонування транспортних систем, сполучення з капсулою, структури клітинної стінки, білків клітинної мембрани і цитоплазми, а також від утворення нерозчинних продуктів, наприклад PbHPO_4 , $\text{Pd}(\text{OH})_2$, CdHPO_4 , Au^0 [27]. *Pseudomonas cepaciae* акумулює 77 і 53 мг/г сухої біомаси кадмію і плюмбуму, а представники бактерій групи кишкової палички – до 90 мг/г кадмію [5]. Рекомбінантні клітини *Escherichia coli* можуть адсорбувати до 32 ммоль/г кадмію за рахунок білка С [100]. Клітини *Azotobacter* sp. і *Micrococcus luteus* нагромаджують до 300 мг/г кадмію і 490 мг/г плюмбуму [4]. За низьких концентрацій ртуті бактерії роду *Vibrio* акумулюють значно більше ^{203}Hg , ніж предствники роду *Pseudomonas* [7].

Нагромадження важких металів у бактеріальні клітини може здійснюватися системами транспорту іонів (Ca^{2+} , Na^+ , K^+ та ін.), що необхідні для нормальної життєдіяльності клітини [13]. Цинк, нікель, кобальт, стронцій, купрум, плюмбум, кадмій та уран переважно транспортуються у клітину, але при цьому частина іонів зв'язується з її поверхнею. Активне надходження цих металів, як правило, здійснюється системою транспорту Mg^{2+} , значно рідше – Mn^{2+} і Ca^{2+} за рахунок стереохімічної аналогії [93]. У результаті адаптації мікробних клітин до важких металів збільшується акумуляція останніх в 1,2–2,2 рази. Вважають, що бактерії, які населяють екологічні ніші з підвищеним вмістом токсиканта, поглинають його у більших концентраціях, ніж виділені із зон з низькою концентрацією металу [7].

Утворення летких сполук за рахунок життєдіяльності бактерій, зокрема монометилртуті і диметилртуті [65, 66], диметилселену [69], триметиларсену [88], триметилплюмбуму, монометилкадмію [72], відбувається за рахунок транспорту метильної групи за участю S-аденозилметіонінової системи [31], що сприяє детоксикації середовища [96] і є важливим природним джерелом важких металів, наприклад, в атмосфері полярних районів [72]. *Pseudomonas putida* PpY101/pSR134 за 24 год експозиції видаляє 92–98% ртуті із розчину, що містить 40 мг/л HgCl_2 [80].

Виділяють три групи значень концентрації важких металів, що діють на мікробні клітини [2]. Невисокі концентрації стимулюють розвиток бактерій у зв'язку з проявом ефекту Арндт–Шульца [4]. Порушення бар'єрної функції мембрани сприяє надходженню поживних речовин у клітину і посиленню метаболізму. Плюмбум у концентрації до 0,5 мМ може підвищувати інтенсивність росту ґрунтових бактерій [68]. Надлишок міді призводить до пригнічення метаболізму клітини [12]. Як токсичні концентрації ртуті, кадмію і плюмбуму в літературі наводяться такі значення: для *E. coli* – 3 мкг/мл HgCl_2 , доданої до поживного середовища [4], а для *Pseudomonas* sp. і *E. coli* – 7,4 мкг/мл CdCl_2 [4]; для *Pseudomonas* sp. – 0,1 мкг/мл $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ [1]. Наведені величини є умовними, для лабораторних досліджень характерний відрив від природних умов, оскільки немає можливості для адсорбції і хелатування металів, а також у зв'язку з роботою з чистими культурами або клітинним екстрактом [7]. Додавання сублетальних концентрацій важких металів, наприклад, кадмію, у поживне середовище при довготривалому зберіганні бактерій сприяє підтриманню певного рівня стійкості до цього токсиканта [39].

Ступінь впливу важких металів на бактерії визначається фізико-хімічними факторами середовища, наприклад, значенням рН, характеристикою солей токсиканта, метаболізмом бактерій [69]. Недисоційовані солі токсичних металів, що входять до складу органічних або неорганічних комплексів, менш токсичні, ніж вільні іони в тих самих молярних концентраціях. Негативному впливові сприяє також наявність конкуруючих катіонів або аніонів незалежно від їхньої токсичності [85].

Виділяють три механізми токсичної дії важких металів на біологічні системи [30]: 1) блокування таких функціональних груп макромолекул, як ферменти і транспортні системи; 2) витіснення і/або заміщення необхідних іонів, наприклад, у металоферментах; 3) модифікація активної конформації біомолекул.

Іони металів утворюють комплекси з гідроксильними, карбоксильними, фосфатними і аміногрупами, а також ковалентні зв'язки з сульфгідрильними групами, за рахунок чого вони з'єднуються з білками, нуклеотидами, коферментами, фосфоліпідами, порфіринами й іншими важливими метаболітами [23]. Токсичні метали порушують транспортні функції, викликають мутагенну дію за рахунок індукції генних мутацій і аберацій хромосом [8], а також призводять до інгібування реплікації ДНК, синтезу РНК, білка, рибофлавіну, вітаміну B_{12} , пригнічення дихання, порушення функції цитоплазми, процесів фотосинтезу і азотфіксації [26].

Найбільш токсичними для мікроорганізмів є іони Hg^{2+} і As^{2+} . Вони змінюють поверхневий заряд і електрофізіологічні властивості цитоплазматичної мембрани та цитоплазми [15], інгібують фотосинтез і дихання, інактивують ферменти, блокують транспорт аніонів через клітинні мембрани. Арсен взаємодіє з сульфгідрильними групами білків [47, 52]. Іони аргентуму порушують функцію цитоплазматичної мембрани [83]. Іони купруму інгібують фотосинтез, руйнують поверхневі шари клітинної стінки, сприяючи, таким чином, виходу аніонів [84]. Вважають, що в основі механізму токсичної дії іонів плюмбуму лежать зміни біохімічних параметрів плазматичної мембрани (активності АТФ-ази, значення $\Delta\mu$) і порушення їхньої бар'єрної функції з подальшим виходом аніонів [5]. До плюмбуму стійкі гриби і неспорові бактерії, чутливі – бактерії, що асимілюють органічні форми азоту [7]. Іони кадмію порушують процес поділу клітин, їхню ультраструктуру, блокують синтез білків, інгібують азотфіксацію, фотосинтез, міцно зв'язуються з низькомолекулярними білками [67]. Іони хрому дуже токсичні для грамнегативних бактерій, які гинуть при концентрації цього металу вище 1 мг/л. Грампозитивні бактерії гинуть при більш високих концентраціях [23].

У відповідь на вплив важких металів у бактерій в процесі еволюції виробилися механізми стійкості, більшість із яких кодується їхнім власним геномом [52, 77, 82].

- 1) Блокування металу за рахунок запобігання його транспортові в клітину, наприклад Cu^{2+} [59] або Cd^{2+} . Виділення H_2S приводить до зв'язування Cd^{2+} на поверхні клітини у вигляді сульфиду у *Klebsiella aerogenes* [4].
- 2) Активне видалення іонів металу, наприклад, Cd^{2+} з клітини за допомогою високоспецифічних систем, кодованих генами стійкості [67]. У *Alcaligenes eutrophus* резистентність до кобальту, цинку і кадмію забезпечується системою антипорту з протонами, який детермінується геном *czc-NICBARDS*, розташованим у плазміді *pMOL30* [35]. Видалення Cd^{2+} з клітин *S. aureus* відбувається також за рахунок антипорту з протонами [99]. Катіонтранслокаційна АТ-Фаза, кодована геном *ZntA*, експортує з клітин *E. coli* іони Cd^{2+} , Pb^{2+} і Zn^{2+} [21].
- 3) Внутрішньоклітинна ізоляція за допомогою металзв'язуючих протеїнів. Синтез адаптаційних металопротеїнів, багатих на сульфгідрильні групи, індукується, наприклад, Cd^{2+} . У складі білків клітин коків, виділених з морського середовища, виявлений низькомолекулярний поліпептид, що зв'язує ртуть [86].
- 4) Позаклітинна ізоляція, наприклад Pb^{2+} [32] і Cu^{2+} [25] за допомогою полісахаридів, та Ni^{2+} , Cu^{2+} [6] і Co^{2+} - індукцибельних поверхневих білків у бактерій роду *Pseudomonas*. Капсула у штамів *Klebsiella aerogenes* забезпечує високу резистентність до Cd^{2+} [4].
- 5) Ферментативне перетворення металів у менш токсичні форми, наприклад CH_3Hg і Hg^{2+} [62]. У *Alcaligenes faecalis* стійкість до арсену визначається генами *arsA*, *arsB* і *ars C*. Третій ген кодує фермент, який перетворює внутрішньоклітинний As(V) у As(III) [82].

Описано п'ять механізмів стійкості до ртуті.

- 1) Зменшення поглинання іонів Hg^{2+} , наприклад, у *Enterobacter aerogenes*, пов'язане з експресією двох плазмід, що кодуєть білки, які знижують клітинну проникність [71].
- 2) Деметилізація органортутних сполук, наприклад у *Clostridium cochlearium* T2, відбувається за рахунок факторів, кодованих двома плазмідами, з подальшим утворенням нерозчинних сульфідних сполук ртуті при взаємодії з гідроген сульфідом [70].
- 3) Ізоляція метилртуті у *Desulfovibrio desulfuricans* API відбувається при постійному утворенні сірководню зі сульфату у процесі дисиміляційної сульфатредукції, який реагує з метилртуттю з утворенням нерозчинного сульфиду метилртуті [17]. Процес метилювання детермінується плазмідами і хромосомами [92]. Для бактерій, що населяють ґрунти, води, травну систему, спостерігається ізоляція або випаровування ртуті. Наприклад, у *Desulfovibrio desulfuricans* LS цей процес є двостадійним за рахунок переносу метильних груп від метилтетрагідрофолату до метилкобаламіну, а потім – до Hg^{2+} .
- 5) Ферментативне відновлення Hg^{2+} до Hg^0 відбувається у клітинах грамнегативних і грампозитивних бактерій, виділених із різних джерел [42].

Таким чином, за наявності в середовищі важких металів спостерігається відповідь бактерій на екосистемному, популяційно-біоценозному, клітинному та молекулярному рівнях.

2. Використання сульфатвідновлювальними бактеріями металів як кінцевих акцепторів електронів

Із забрудненого металами середовища виділені спороутворюючі сульфатвідновлювальні бактерії *Desulfotomaculum reducens* sp. nov. MI-1, які, окрім різних сполук сірки, можуть використовувати Cr(VI) , Mn(IV) , Fe(III) і U(VI) як акцептори електронів [91]. Клітини *D. reducens* рухомі, паличкоподібної форми, розмірами 0,8–1,0×5–10 мкм. Оптимальна температура для росту – 37°C, рН – 7,0–7,2, концентрація NaCl 0–2%. Бактерії штаму MI-1 як донори електронів використовують широкий спектр органічних

сполук, у тому числі жирні кислоти з коротким ланцюгом (C₃-C₅; пропіонат, бутират і валеріат); спирти (C₁-C₄; метанол, етанол, н-пропанол і н-бутанол); лактат, піруват і глюкозу. Ацетат, фумарат і H₂/CO₂ (80:20) не утилізують [91]. Наведені субстрати є характерними і для інших спороутворюючих сульфатвідновлювальних бактерій [9, 97, 98]. Крім того, 28 мМ сульфат, 10 мМ тіосульфат, 10 мМ дитіоніт і елементна сірка (~1%) слугують акцепторами електронів.

Характерною ознакою штаму MI-1 є те, що він використовує метали як акцептори електронів для росту за відсутності сульфату. З бутиратом як джерелом карбону штам MI-1 може рости з Mn(IV), Fe(III), U(VI) або Cr(VI) за відсутності сульфату (рис. 1, 2). Інші донори електронів, такі як лактат або валеріат, також підтримують

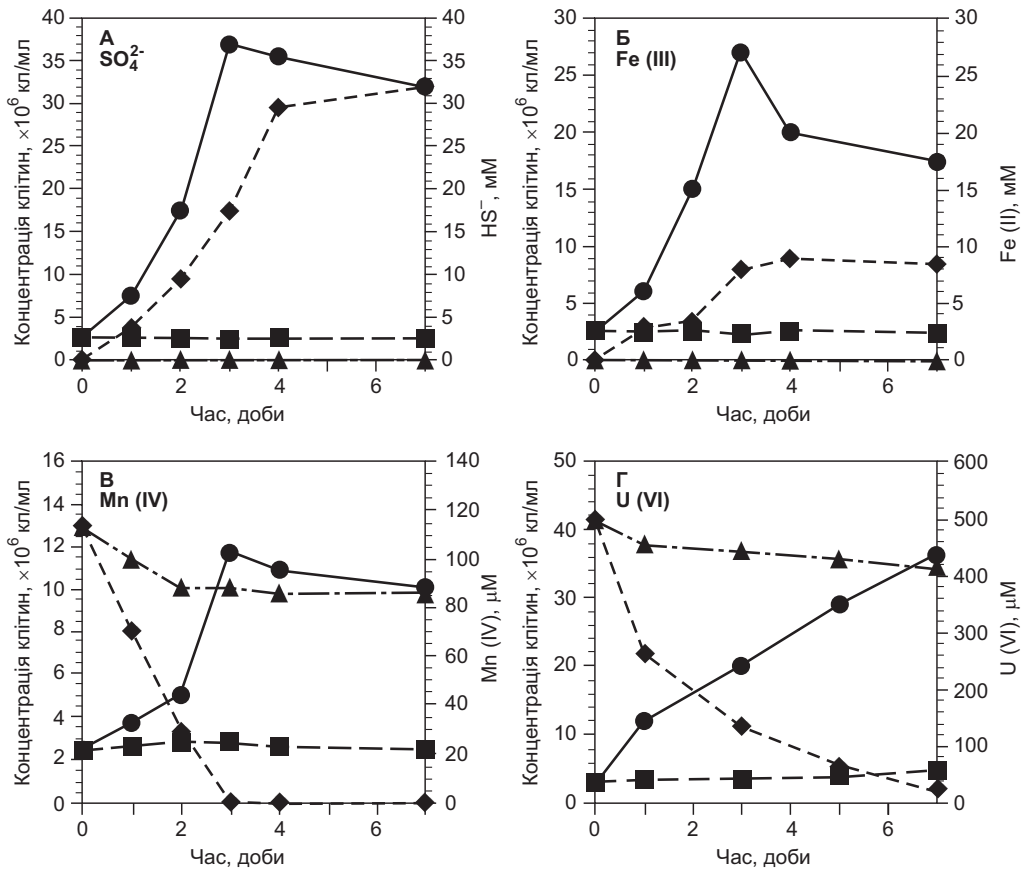


Рис. 1. Кінетика росту і відновлення SO₄²⁻ (А), Fe(III) (Б), Mn(IV) (В) і U(VI) (Г) *D. reducens* MI-1 у середовищі з бутиратом.

Позначення: -■- – концентрація клітин без акцептора електронів; -●- – концентрація клітин за наявності акцептора електронів; -▲- – концентрація HS⁻, Fe(II), Mn(IV) і U(VI) без клітин; -◆- – концентрація HS⁻, Fe(II), Mn(IV) і U(VI) з клітинами [91]

Fig. 1. Kinetics of growth and SO₄²⁻ (A), Fe(III) (B), Mn(IV) (C) and U(VI) (D) reduction by *D. reducens* MI-1 in the medium with butyrate.

-■- – concentration of cells without the electrons acceptor; -●- – concentration of cells with the electrons acceptor; -▲- – HS⁻, Fe(II), Mn(IV) and U(VI) concentration without the cells; -◆- – HS⁻, Fe(II), Mn(IV) and U(VI) concentration with the cells [91]

ріст з цими акцепторами електронів. У всіх випадках джерела карбону окиснювалися неповністю, до ацетату; за відсутності акцептора електронів ріст бактерій був відсутній. Ріст штаму MI-1 спостерігався протягом 20 год з цими металами, як і зі сульфатом. Оскільки Fe(III), Mn(IV), U(VI) і Cr(VI) високотоксичні для мікроорганізмів, для підтримання росту бактерій з Cr(VI) як акцептором електронів його вносили у середовище в малих кількостях (рис. 2).

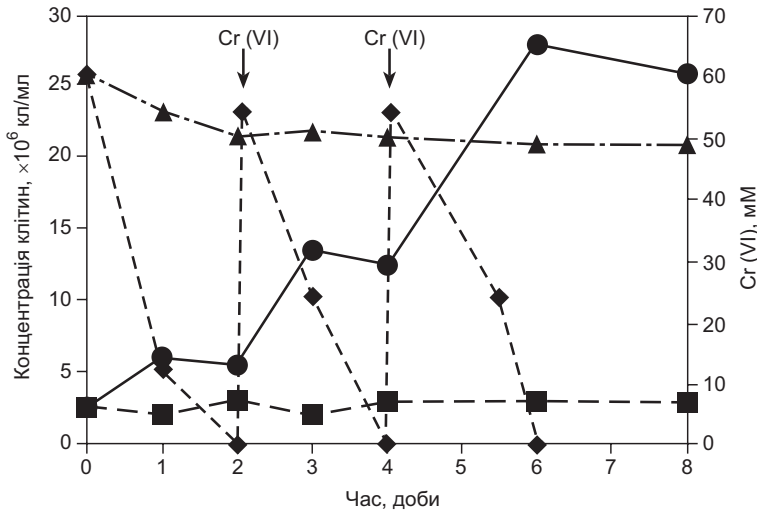


Рис. 2. Кінетика росту *D. reducens* MI-1 у середовищі з бутиратом і Cr(VI) як акцептором електронів. Позначення: -■- – концентрація клітин без Cr(VI); -●- – концентрація клітин за наявності Cr(VI); -▲- – концентрація Cr(VI) без клітин; -◆- – концентрація Cr(VI) з клітинами [91]

Fig. 2. Kinetics of *D. reducens* MI-1 growth in the medium with butyrate and Cr(VI) as the electrons acceptor. -■- – concentration of cells without Cr(VI); -●- – concentration of cells with Cr(VI); -▲- – concentration of Cr(VI) without the cells; -◆- – concentration of Cr(VI) with the cells [91]

Після кожного додавання Cr(VI) до культури він повністю вичерпувався і нагромаджувалася біомаса, вказуючи на те, що ріст бактерій залежить від наявності у середовищі хрому. За відсутності у середовищі сульфатів Cr(VI) відновлювався до Cr(III), про що можна зробити висновок на основі появи сірого осаду Cr(OH)₃, який утворюється на дні пробірки. Концентрація Cr(VI) більше 200 мкМ інгібувала ріст цих бактерій.

Механізм відновлення Cr(VI) і Mn(IV) за участю штаму *D. reducens* MI-1 невідомий. Важливо зазначити, що Fe(II) у концентрації близько 27 мкМ у середовищі діє як відновник завдяки рециркуванню феруму в культурі. Cr(VI) і Mn(IV) можуть відновлюватися непрямо через утворення Fe(II) штамом MI-1 [74, 75, 91]. У контрольних експериментах без клітин початкова швидкість відновлення Fe(III), Mn(IV), U(VI) і Cr(VI) значно нижча, ніж за наявності клітин (рис. 1, 2). Ці результати вказують на те, що відновлення Cr(VI), U(VI), Mn(IV), як і відновлення Fe(III), здійснюється штамом MI-1.

Яким чином штам *D. reducens* MI-1 може відновлювати ці метали? Різниця спектрів карбон монооксиду цитоплазматичних фракцій показала різні піки поглинання в ділянці 400–595 нм. Максимуми поглинання при 520, 483 і 419 нм підтверджують наявність цитохромів *b* і *c* [43]. Тому механізм дисиміляційного відновлення металів може включати цитохроми, схожі до тих, які виявлені при відновленні

Cr(VI) і U(VI) іншими сульфатвідновлювальними бактеріями [55, 58]. Залишається незрозумілим, чи штам *D. reducens* MI-1 конкуруватиме з іншими металовідновлювальними організмами за акцептори електронів, чи утилізуватиме ці метали як акцептори електронів, адаптуючись до виживання за несприятливих умов.

Встановлено, що сульфатвідновлювальні бактерії можуть відновлювати метали ферментативно або через утворення гідроген сульфідів, і тому низькі концентрації таких важких металів, як Cr(VI), Hg(II) і Zn(II), підсилюють ріст і сульфатвідновлювальну активність цих бактерій [20, 44]. Tebo і Obratsova вперше показали, що сульфатвідновлювальні бактерії можуть рости, окиснюючи органічні речовини і відновлюючи Cr(VI) до Cr(III), Mn(IV) до Mn(II), Fe(III) до Fe(II) і U(VI) до U(IV), і вперше продемонстрували, що відновлення Cr(VI) підтримує анаеробний ріст багатьох організмів [91].

Дослідження механізмів, залучених до відновлення металів, є необхідним для розуміння того, як важкі метали відновлюються клітинами, чи існує ієрархічна перевага акцептора електронів і як клітини стають толерантними до таких токсичних металів, як Cr(VI).

3. Ферментативне і неферментативне відновлення U(VI) мікроорганізмами

Мікробне відновлення розчинного U(VI) до нерозчинного U(IV) відіграє важливу роль у геохімічному циклі урану і може слугувати механізмом для біоремедіації уранвмісних вод [57]. Утворення U(IV) в результаті відновлення U(VI) в анаеробних морських осадах є важливим глобальним процесом [16, 48, 94]. Відновлення U(VI) приводить до утворення значних економічно важливих покладів урану [37, 41, 50, 89]. Біореактори, що містять U(VI)-відновлювальні мікроорганізми, можуть мобілізувати розчинений уран із води [34].

Лише два організми – *Geobacter metallireducens* і *Shewanella* (відомий перед тим як *Alteromonas putrefaciens* – використовують U(VI) як кінцевий акцептор електронів [57]. Обидва види мікроорганізмів є аеробними Fe(III)-відновлювальними мікроорганізмами.

Крім того, U(VI) може відновлюватись у середовищі, в якому відсутні Fe(III)-відновлювальні мікроорганізми. Наприклад, утворення мінералів сульфідів та U(IV) у ґрунтових водах підтвердили, що в деяких випадках U(VI) відновлюється в середовищі, у якому відновлення сульфату є переважаючим термінальним електрон-акцептуючим процесом. Дослідження ролі Fe(III)-відновлювальних мікроорганізмів у глибоких шарах Атлантичного узбережжя показало, що вони відсутні у деяких сульфідогенних середовищах [48].

Неферментативне відновлення U(VI) сульфідом пояснює відновлення U(VI) у сульфідогенних середовищах [37, 41, 50, 61, 63, 76, 95]. Встановлено, що сульфід є слабким відновником U(VI) [57]. Альтернативним до цього є те, що мікроорганізми, які живуть у сульфідогенному середовищі, ферментативно відновлюють U(VI). U(VI) відновлюють сульфатвідновлювальні бактерії *Desulfovibrio desulfuricans*. Крім неферментативного відновлення U(VI) сульфідом, можливим є також і пряме ферментативне відновлення U(VI) до U(IV).

Можливість ферментативного відновлення U(VI) *D. desulfuricans* підтверджена експериментально. Показано, що клітинні екстракти *D. desulfuricans* можуть відновлювати U(VI) [56]. Проте фізіологічна роль відновлення урану у клітинних екстрактах для метаболізму клітин вивчена недостатньо.

4. Конкурентне відновлення U(VI) і сульфату

Сульфат наявний у багатьох водних екосистемах, в яких відновлюється U(VI). Тому важливим є дослідження впливу сульфату на відновлення U(VI). Додавання цистеїну до води призводило до зростання рівня відновлення сульфату *D. desulfuricans*, але при цьому не спостерігалось відновлення U(VI) (рис. 3, А, Б) [56]. Тому вивчення відновлення U(VI) за наявності сульфату проводиться з використанням бікарбонатного буферу з додаванням цистеїну. Сульфат суттєво не впливає на відновлення U(VI). Останній, у свою чергу, також не здійснював позитивного впливу на процес відновлення сульфату; вони обидва відновлювались одночасно (рис. 3, В) [56].

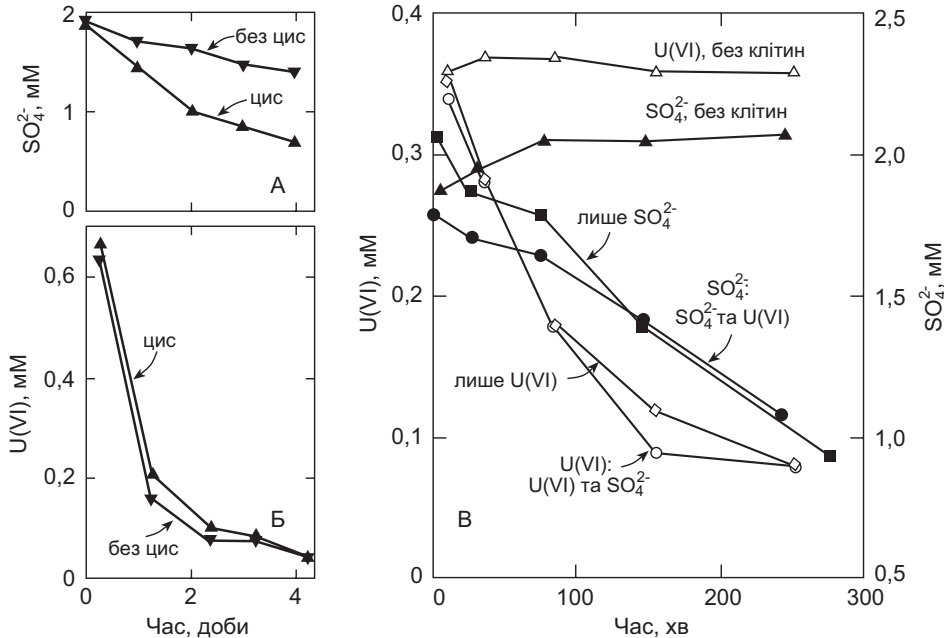


Рис. 3. Відновлення сульфату (А) і U(VI) (Б) за наявності або відсутності цистеїну (цис); за наявності лише сульфату, лише U(VI) або сульфату і U(VI) як потенційних акцепторів електронів (В) [56]

Fig. 3. Reduction of sulfate (A) and U(VI) (B) at the presence and absence of cysteine (cys); at the presence of sulfate only, U(VI) only or sulfate and U(VI) as the potential electron acceptors (B) [56]

Встановлено, що відновлення U(VI) під час відновлення сульфатів *D. desulfuricans* є результатом неферментативного відновлення U(VI) сульфідом, утвореним у результаті сульфатредукції [56, 63, 95].

Осадження урану з вод відбувається у результаті його відновлення до U(IV) мікроорганізмами та є потенційним механізмом для трансформації урану в забруднених водах і має переваги над іншими методами трансформації урану [34, 57]. Використання *D. desulfuricans* для відновлення U(VI) може бути більш практичним порівняно з Fe(III)-відновлювальними мікроорганізмами. Наприклад, біореактор для трансформації урану з розчинів може містити бактерії *D. desulfuricans*, якщо також міститиме низькі концентрації сульфату. Тоді відновлення сульфатів буде забезпечувати енергією для підтримання росту U(VI)-відновлювальних мікроорганізмів. U(IV) стабільний за наявності сульфату. Тому для трансформації урану необхідною

є лімітація росту Fe(III)-відновників в біореакторах, оскільки розчинні форми Fe(III) можуть окиснювати U(IV) до U(VI) і Fe(III) оксиди можуть адсорбувати U(VI), утворюючи великі об'єми уранвмісних твердих відходів. Загалом для трансформації U(VI) із забруднених вод необхідно враховувати розповсюдження у них Fe(III)-відновлювальних мікроорганізмів і *D. desulfuricans*.

Показано, що *D. desulfuricans* можуть відновлювати U(VI). Це підтверджує те, що при додаванні Fe(III)-відновників сульфатвідновлювальні бактерії можуть відповідати за відновне осадження урану в навколишньому середовищі [16].

Ферментативні механізми дисиміляційної металредукції анаеробними мікроорганізмами досліджені недостатньо. У літературі є мало відомостей про виділення й очищення бактеріальних ферментів, субстратом для яких слугують метали. Встановлено, що за детоксикацію навколишнього середовища від іонів ртуті відповідає меркурійредуктаза [78]; описана також Cr(VI)-редуктаза [87], фізіологічна роль якої ще не до кінця з'ясована, і Fe(III)-редуктаза, яка відновлює хелатовані Fe(III) форми при асиміляції заліза [33, 38, 64]. Однак наявність і функції усіх цих металредуктаз встановлені лише при аеробному метаболізмі. Невідомо, чи вони наявні та функціональні в анаеробних мікроорганізмів. Подальші дослідження дали підстави припустити, що цитохром c_3 є U(VI)-редуктазою у *Desulfovibrio vulgaris* [58].

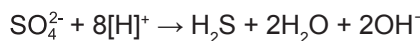
5. Використання сульфатвідновлювальних бактерій для очищення середовища від металів

Анаеробні процеси використовуються для очищення стоків уже більше 100 років. Перевагами використання анаеробних процесів є мала потреба у поживних речовинах внаслідок нагромадження анаеробами невеликої біомаси; зниження витрат електроенергії та, на відміну від аеробних систем, анаеробні не дуже вибагливі до обмеження акцептора електронів, тому завантаження систем може бути вищим, ніж для аеробних систем [79]. Основними недоліками застосування очисних систем на основі анаеробних мікроорганізмів є низька швидкість їх росту і невелика біомаса.

Для ремедіації застосовують біореактори, в яких відбувається осадження іонів металів сульфатвідновлювальними бактеріями. При цьому можна використати два підходи:

- 1) біологічна і хімічна системи процесу працюють незалежно, щоб захистити сульфатвідновлювальні бактерії від високої кислотності і підвищених концентрацій важких металів;
- 2) спочатку використовують сульфатвідновлювальні бактерії для відновлення сульфату в сульфід (1 стадія), що підвищує вилуговування і сприяє осадженню важких металів у стоках. Потім (2 стадія) залишок сульфїду окиснюється в спеціальному реакторі з утворенням елементної сірки, яка може бути використана в хімічній промисловості, наприклад, для виготовлення сульфатної кислоти.

У процесі дисиміляційної сульфатредукції сульфат-іон діє як окиснюючий агент для дисиміляції органічної речовини, подібно до кисню при аеробному диханні. Найбільша кількість відновленого сульфур у асимілюється мікроорганізмами, але, в основному, він звільняється в навколишнє середовище у вигляді сульфїд-іону, звичайно гідролізованого до гідроген сульфїду, який є найбільш відновленою сполукою сірки [10, 73]. Загалом процес сульфатредукції можна представити так:



Сульфатвідновлювальні бактерії можуть використовувати Cr(VI), U(VI), Tc(VI), Pd(II) та інші метали як акцептори електронів, переводячи їх при цьому у менш токсичні малорозчинні форми [53, 98]. Утворений у процесі сульфатного дихання гідроген сульфід осаджує багато металів (наприклад, Cu(II), Cd(II), Ni(II), Pl(II), Zn(II)) у нерозчинні сульфіди або є сильним відновлювальним агентом, який сприяє редукції металів до відновлених форм [91].

Утворення сульфідів металів – основний механізм, за допомогою якого сульфатвідновлювальні бактерії видаляють важкі метали з розчину. Крім цього, показана можливість сульфатвідновлювальних бактерій до екстрацелюлярного зв'язування іонів міді та їхньої акумуляції біоплівками [96].

Недоліком біореакторних установок в умовах *in situ* ремедіаційних систем є токсичність іонів металів для сульфатвідновлювальних бактерій. Тому для ефективного керування бактерійними процесами в *ex situ* інженерних споруд потрібне виділення чистих культур мікроорганізмів, які стійкі до високих концентрацій іонів металів [18, 19].

Альтернативним до активної ремедіації підходом є пасивне очищення забруднених вод із використанням субстратів перезвожених біогеоценозів, які в сучасній літературі називаються ветландами (рис. 4). Тобто, ветланди – це біогеоценози, які формуються на межі води і суші, в природі вони виконують функцію водних фільтрів. Природні ветланди займають низовини рельєфу, місця виходу на поверхню ґрунтових вод.



Рис. 4. Приклади ветландів, які використовують для пасивної біоремедіації вод [27]

Fig.4. Examples of wetlandes, used for the passive bioremediation of water [27]

Зазвичай ветланди характеризуються низьким вмістом кисню, змінним значенням рН, негативним значенням окисно-відновного потенціалу, що сприяє розвитку сульфатвідновлювальних бактерій. У ролі очисних споруд для видалення біогенних елементів і металів часто використовуються штучні ветланди. Розрізняють три типи штучних ветландів:

- 1) стічні води очищуються в анаеробних умовах при проходженні через гравій;
- 2) горизонтальний потік стічних вод надходить у ветланди, де міститься органічний субстрат для стимулювання росту ендогенної мікрофлори;
- 3) вертикальний потік стічних вод надходить у ветланди, збагачені органічним субстратом. При вертикальній подачі стоків забезпечується послідовна участь аеробних і анаеробних мікроорганізмів у процесі очищення.

Активність сульфатвідновлювальних бактерій в осадах водних екосистем важлива не лише для міграції в них металів. Сульфатредукція має також місце при

анаеробному розкладі органічних речовин за наявності сульфату, і видалення металів сульфатвідновлювальними бактеріями є ефективним при знешкодженні стоків, які містять органічну речовину разом із сульфатами [24]. Показано, що у процесі мікробної сульфатредукції в шахтних водах знижується концентрація сульфатів, у них підвищується рН і, таким чином, створюються сприятливі умови для осадження металів у формі сульфідів [28].

Розроблений інтегрований процес із застосуванням автотрофного вилугування металів сіркоокиснювальними бактеріями з подальшим осадженням металів у формі сульфідів для видалення металів-полутантів із ґрунту [96].

Вибір типу ветландів залежить від складу води, яка підлягає очищенню. В наш час у світі функціонує більше 1000 штучних і природних ветландів. Такий підхід до біоремедіації найбільш популярний у США, де тільки в Аппалачах зроблено сотні ветландів для знешкодження стоків із місць видобутку кам'яного вугілля. Штучні ветланди функціонують у Колорадо для очищення кислих шахтних вод від важких металів, а також у Нью Мехіко та Міссурі на підприємствах із видобутку уранових руд і свинцю [22]. Більше ста подібних споруд до 2000 року діяли в Данії, 71 – у Швеції та Норвегії, 67 – у Канаді, 28 – у Чехії і 30 – у СНД [11].

Існує перспектива використання сульфатвідновлювальних бактерій, стійких до низьких температур, в умовах бореального клімату. Здатність мікроорганізмів до росту, використана для очищення навколишнього середовища, знижується в період з осені до весни через низьку температуру. Використання для ремедіації психротолерантних мікроорганізмів може нівелювати дану перешкоду, оскільки вони здатні не просто виживати при низьких температурах, але й активно рости. Більше того, використання психрофільних і психротолерантних бактерій для ремедіації є цінним ще тому, що ферменти, які продукуються цими мікроорганізмами, мають вищу каталітичну активність порівняно з ферментами мезофільних бактерій.

З морських осадів виділені психрофільні штами сульфатвідновлювальних бактерій [14, 49]. Запропоновано використати сульфатвідновлювальні бактерії, які живуть у холодних морських водах, для підвищення рівня рН в біоремедіаційних системах, оскільки це сприяє осадженню важких металів. З цією метою рекомендується використовувати нагромаджувальні культури СББ, виділені з осадів ветландів. З осаду ветландів виділена нагромаджувальна культура психрофільних сульфатвідновлювальних бактерій [3].

ВИСНОВКИ

С. Вайт та ін. [96] запропонували схему інтегрованого процесу біоремедіації забруднених металами ґрунтів (рис. 5).

Загальна схема очищення вод від сульфатів і важких металів, яка ґрунтується на застосуванні мікробіологічних процесів, може бути представлена так:

1. *Бактеріальна сульфатредукція* (рис. 6). При очищенні водою від сульфатів найчастіше використовують змішані культури (консорціуми) сульфатвідновлювальних бактерій. Можна також використовувати чисті культури СББ, які мають біотехнологічно важливі властивості: стійкість до високих концентрацій металів, психротолерантність, стійкість до підвищеної кислотності та ін.

При проведенні очищення природних водою, багатих органічними речовинами, не потрібне додаткове внесення одонорів карбону та енергії для сульфатвідновлювальних бактерій. У випадку спорудження штучних очисних споруд, наприклад,

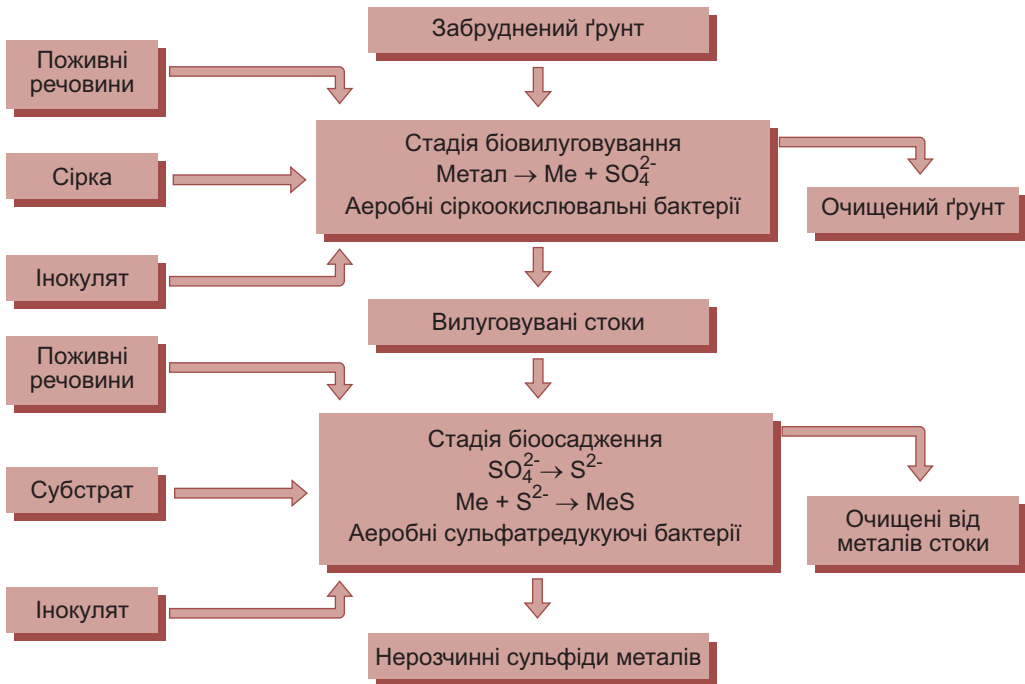


Рис. 5. Схема інтегрованого процесу біореMediaції забруднених металами ґрунтів [96]

Fig. 5. Diagram of the integrated process of the soils bioremediation spoiled by the metals [96]

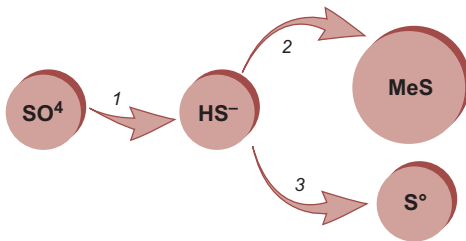
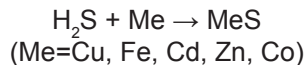


Рис. 6. Схема очищення води від сульфатів та важких металів. Пояснення в тексті [14]

Fig. 6. The scheme of water cleanup from sulfates and heavy metals. Explanations in the text [14]

біореакторів, треба вносити органічний субстрат у певній концентрації залежно від виду бактерій [98]. Оптимальними для подібних цілей є етанол і цукри. Найчастіше на цукрах, а саме на фруктозі, глюкозі та сахарозі, ростуть представники роду *Desulfovibrio*. Вони характеризуються відносною стійкістю до купруму [45, 46].

2. *Осадження важких металів у нерозчинні сульфідні* (рис. 6). За наявності металів у розчині та гідроген сульфід, який утворюється у процесі дисиміляційної сульфатредукції, утворюються нерозчинні сульфідні.



У ході цього процесу з розчину видаляються розчинні метали, а також більша частина гідроген сульфід, який має неприємний запах і токсичну дію. Сульфідні металів не мають токсичних властивостей і можуть бути легко видалені з розчину. Існує досвід промислового використання подібних осадів для „переотримання” ме-

талів [36]. Процес видалення великої кількості сульфатів і важких металів із розчину в ході сульфатредукції займає 2–3 тижні.

3. *Мікробіологічне окиснення надлишку гідроген сульфідів з утворенням елементної сірки* (рис. 6). У ході зв'язування металів у сульфіді відбувається видалення великої кількості гідроген сульфідів з розчину. Кінцевий, або, у разі відсутності металів у воді, що очищується, весь утворений гідроген сульфід, може бути ефективно видалений у ході бактерійного окиснення з використанням сіркоокислювальних або фотолітотрофних бактерій. Застосування останніх ефективніше, оскільки в цьому випадку гідроген сульфід слугує донором електронів, а джерелом енергії є сонячне світло.

Продуктом окиснення сірководню є елементарна сірка, яка може бути використана в хімічній промисловості.

Таким чином, сульфатвідновлювальні бактерії є перспективними для використання в технологічних процесах очищення навколишнього середовища від сульфатів і важких металів на основі природних та у створенні штучних ветландів.

1. Авакян З.А. Сравнительная токсичность тяжелых металлов для некоторых микроорганизмов. **Микробиология**, 1967; 36(3): 445–450.
2. Бухтіяров А.Є. **Резистентність гетеротрофних морських бактерій Одеського прибережжя до важких металів**: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. Севастополь, 2006. 19 с.
3. Герасимчук А.Л., Франк Ю.А. Выделение и изучение чистой культуры сульфатредуцирующих бактерий, устойчивых к тяжелым металлам и пониженным температурам, из осадков ветландов Норильской промышленной зоны. **Экология Южной Сибири и сопредельных территорий**: Материалы международной научной конференции студентов и молодых ученых, Абакан, 2004: 9.
4. Громов Б.В., Павленко Г.В. **Экология бактерий**. Ленинград: ЛГУ, 1989. 246 с.
5. Грузина Т.Г., Чеховская Т.П., Баланина М.Н., Ульберг З.Р. Изучение ингибирующего влияния ионов свинца на клетки некоторых штаммов бактерий рода *Pseudomonas*. **Украинский биохимический журнал**, 2002; 74(2): 115–119.
6. Иванов А.Ю., Гаврюшин А.В., Сиунова Т.В. Устойчивость некоторых бактерий рода *Pseudomonas* к повреждающему действию тяжелых металлов. **Микробиология**, 1999; 68(3): 366–374.
7. Илялетдинов А.Н. **Микробиологическое превращение металлов**. Алма-Ата: Наука, 1984. 268.
8. Калинина Л.М., Полухина Г.Н., Лукашева Л.Н. *Salmonella typhimurium* – тест-система для выявления мутагенной активности загрязнителей окружающей среды. Сообщение I. Мутагенное действие солей тяжелых металлов в системах *in vitro* и *in vivo* без метаболической активации. **Генетика**, 1977; 60(8): 1089–1092.
9. *Определитель бактерий Берджи* / Под ред. Дж. Хоулта, Р. Крига, П.Снита, Дж. Стейли и С.Уильямса. Москва: Мир, 1997. – 432 с.
10. Розанова Е.П., Назина Т.Н. Сульфатвосстанавливающие бактерии (систематика и метаболизм). **Успехи микробиологии**, 1989; 23: 191–226.
11. Савельева Л.С., Эпов А.Н. Очистка сточных вод на биоплато. **Экология и промышленность России**, 2000; 8: 26–28.
12. Смирнова Л.Л., Воронова О.К. Адаптация морских перифитонных микроорганизмов к различным концентрациям меди в модельных системах. **Микробиологический журнал**, 1999; 61(6): 51–57.
13. Таширев А.Б. Взаимодействие микроорганизмов с металлами. **Микробиологический журнал**, 1995; 57(2): 95–104.

14. Франк Ю.А., Лушников С.В. Биотехнологический потенциал сульфатредуцирующих бактерий. **Экология и промышленность**, 2006; 1: 10–13.
15. Яппарова Э.Н. Сравнительный анализ токсического действия ионов ртути на фототрофные организмы: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.: 04.00.10 / Башкир. гос. ун-т, Уфа, 1999. 24 с.
16. Anderson R.F., LeHuray A.P., Fleisher M.Q., Murray J.W. Uranium deposition in Saanich Inlet Sediments, Vancouver Island. **Geochim. Cosmochim. Acta**, 1989; 53(9): 2205–2213.
17. Baldi F., Pepi M., Filippelli M. Methylmercury resistance in *Desulfovibrio desulfuricans* strains in relation to methylmercury degradation. **Appl. Environ. Microbiol.**, 1993; 59(8): 2479–2485.
18. Barkay T., Miller S.M., Summers A.O. Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. **FEMS Microbiology Reviews**, 2003; 27(2–3): 355–384.
19. Barton L.L., Tomei F.A. Characteristics and activities of sulfate-reducing bacteria / **Sulfate-reducing Bacteria**. Ed. L.L. Barton. New York: Plenum Press, 1995: 1–32.
20. Bharathi P.A.L., Sathe V., Chandramohan D. Effect of lead, mercury and cadmium on a sulphate-reducing bacterium. **Environ. Pollut.**, 1990; 67(4): 361–374.
21. Binet M.R., Poole R.K. Cd (II), Pb (II) and Zn (II) ions regulate expression of the metal-transporting P-type ATPase ZntA in *Escherichia coli*. **FEBS Lett.**, 2000; 473(1): 67–70.
22. Brierley C.L., Brierley J.A., Davidson M.S. Applied microbial processes for metals recovery and removal from wastewater. **Metal Ions and Bacteria** (Eds. T.J. Beveridge, R.J. Doyle). New York: John Wiley&Sons, 1989; 359–381.
23. Cervantes C., Silver S. Plasmid chromate resistance and chromate reduction. **Plasmid**, 1992; 27(1): 65–71.
24. Cowling S.J., Gardner M.J., Hunt D.T.E. Removal of heavy metals from sewage by sulphide precipitation: thermodynamic calculations and test on a pilot-scale anaerobic reactor. **Environ. Technol.**, 1992; 13(3): 281–291.
25. Cooksey D.A. Molecular mechanisms of copper resistance and accumulation in bacteria. **FEMS Microbiol. Rev.**, 1994; 14 (4): 381–386.
26. De Flora S., Bennicelli C., Bagnasco M. Genotoxicity of mercury compounds. **Mut. Res.**, 1994; 317(1): 57–79.
27. Eger P. Wetland treatment for trace metal removal from mine drainage: The importance of aerobic and anaerobic processes. **Water Sci. Tech.**, 1994; 29(1): 249–256.
28. Fortin D., Roy M., Rioux Ph., Thibault P.J. Occurrence of sulfate-reducing bacteria under a wide range of physico-chemical conditions in Au and Cu-Zn mine tailings. **FEMS Microbiol. Ecol.**, 2000; 33(3): 197–208.
29. Gadd G.M. Bioremediation potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization. **Current Opin. In Biotechnol.**, 2000; 11(3): 241–249.
30. Gadd G.M. Metals and microorganisms: a problem of definition. **FEMS Microbiol. Letts.**, 1992; 79(1–3): 197–203.
31. Gadd G.M. Microbial formation and transformation of organometallic and organometalloid compounds. **FEMS Microbiol. Rev.**, 1993; 11: 297–316.
32. Gadd G.M., Griffiths A.J. Microorganisms and heavy metal toxicity. **Microbiol. Ecol.**, 1978; 4: 303–317.
33. Gaines C.G., Lodge J.S., Arceneaux J.E.L., Byers B.R. Ferrisiderophore reductase activity associated with an aromatic biosynthetic enzyme complex in *Bacillus subtilis*. **J. Bacteriol.**, 1981; 148(2): 527–533.
34. Gorby Y.A., Lovley D.R. Enzymatic uranium precipitation. **Environ. Sci. Technol.**, 1992; 26(1): 205–207.
35. Groze C., Grass G., Anton A. et al. Transcriptional organization of the *czc* heavy metal homeostasis determinant from *Alcaligenes eutrophus*. **J. Bacteriol.**, 1999; 181(8): 2385–2393.
36. Hao O.J. Metal effects on sulfur cycle bacteria and metal removal by sulfate-reducing bacteria. **Environmental technologies to treat sulfur pollution. Principles and engineering / P.N.L. Lens, P.L. Hulshoff (ed.).** London: IWA-publishing, 2000; 393–414.

37. *Hostetler P.B., Garrels R.M.* Transportation and precipitation of uranium and vanadium at low temperatures with special reference to sandstone-type uranium. **Econ. Geol.**, 1962; 57(2): 137–167.
38. *Huyer M., Page W.* Ferric reductase activity in *Azotobacter vinelandii* and its inhibition by Zn^{2+} . **J. Bacteriol.**, 1989; 171(7): 4031–4037.
39. *Inbar O., Ron E.Z.* Induction of cadmium tolerance in *Escherichia coli* K12. **FEMS Microbiol Lett.**, 1993; 113(2): 197–200.
40. *Janssen P.H., Schuhmann A., Bak F., Liesack W.* Disproportionation of inorganic sulfur compounds by the sulfate-reducing bacterium *Desulfocapsa thiozymogenes* gen. nov., sp. nov. **Arch. Microbiol.**, 1996; 166: 184–192.
41. *Jensen M.L.* Sulfur isotopes and the origin of sandstone-type uranium deposits. **Econ. Geol.**, 1958; 53(5): 598–616.
42. *Jobling M.G., Peters S.E., Ritchie D.A.* Plasmid borne mercury resistance in aquatic bacteria. **FEMS Microbiol. Lett.**, 1988; 49(1): 31–37.
43. *Jones H.E.* Cytochromes and other pigments of dissimilatory sulfate-reducing bacteria. **Arch. Microbiol.**, 1972; 84(3): 207–222.
44. *Karnachuk O.V.* Influence of hexavalent chromium on hydrogen sulfide formation by sulfate-reducing bacteria. **Microbiology**, 1995; 64: 262–265.
45. *Karnachuk O.V., Frank Y.A., Kaksonen A.H.* et al. Isolation and characterization of new copper-resistant sulfate-reducing bacteria. **BioMicroWorld-2005**. Fostering Cross-disciplinary Applied Research in Microbiology and Microbial Biotechnology. Book of Abstracts. 1st International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology, Badajoz (Spain), March 15–18th, 2005: 699.
46. *Karnachuk O.V., Kurochkina S.Y., Nicomrat D.* et al. Copper resistance in *Desulfovibrio* strain R2. **Antonie Van Leeuwenhoek. Journal of Microbiology (Holland)**, 2003; 83(1): 99–106.
47. *Kaur P., Rosen B.P.* Plasmid encoded resistance to arsenic and antimony. **Plasmid**, 1992; 27(1): 29–40.
48. *Klinkhammer G.P., Palmer M.R.* Uranium in the oceans: where it goes and why // **Geochim. Cosmochim. Acta**, 1991; 55: 1799–1806.
49. *Knoblauch C., Sahm K., Jorgensen B.B.* Psychrophilic sulfate-reducing bacteria isolated from permanently cold Arctic marine sediments: description of *Desulfofrigus oceanense* gen. nov., sp. nov., *Desulfofrigus fragile* sp. nov., *Desulfocapsa gelida* gen. nov. and *Desulfotalea arctica* sp. nov. **J. Syst. Bacteriol.**, 1999; 49(4): 1631–1643;
50. *Langmuir D.* Uranium solution-mineral equilibria at low temperatures with applications to sedimentary ore deposits. **Geochim. Cosmochim. Acta**, 1978; 42: 547–569.
51. *Laverman A.M., Blum J.S., Schaefer J.K.* et al. Growth of strain SES-3 with arsenate and other diverse electron acceptors. **Appl. Environ. Microbiol.**, 1995; 61(10): 3556–3561.
52. *Lloyd J.R.* Microbial reduction of metals and radionuclids. **FEMS Microbiology Reviews**, 2003; 27(2–3): 411–425.
53. *Lovley D.R.* Dissimilatory metal reduction. **Annu. Rev. Microbiol.**, 1993; 47: 263–290.
54. *Lovley D.R., Phillips E.J.P.* Novel processes for anaerobic sulfate production from elemental sulfur by sulfate-reducing bacteria. **Appl. Environ. Microbiol.**, 1994; 60(7): 2394–2399.
55. *Lovley D.R., Phillips E.J.P.* Reduction of chromate by *Desulfovibrio vulgaris* and its c3 cytochrome. **Appl. Environ. Microbiol.**, 1994; 60(2): 726–728.
56. *Lovley D.R., Phillips E.J.P.* Reduction of uranium by *Desulfovibrio desulfuricans*. **Appl. Environ. Microbiol.**, 1992; 58(3): 850–856.
57. *Lovley D.R., Phillips E.J.P., Gorby Y.A., Landa E.R.* Microbial reduction of uranium. **Nature**, 1991; 350: 413–416.
58. *Lovley D.R., Roden E.E., Phillips E.J.P., Woodward J.C.* Enzymatic iron and uranium reduction by sulfate-reducing bacteria. **Marine Geol.**, 1993; 113(1–2): 41–53.
59. *Lutkenhaus J.F.* Role of a major outer membrane protein in *Escherichia coli*. **J. Bacteriol.**, 1977; 131(2): 63–637.

60. Macy J.M. *Chrysiogenes arsenatis* gen. nov., sp. nov., a new arsenate-respiring bacterium isolated from gold mine wastewater. **Int. J. Syst. Bacteriol**, 1996; 46(4): 1153–1157.
61. Maynard J.B. **Geochemistry of sedimentary ore deposits**. New York: Springer-Verlag, 1983; 305.
62. Misra T.K. Bacterial resistance to inorganic mercury salts and organomercurials. **Plasmid**, 1992; 27(1): 4–16.
63. Mohagheghi A., Updegraff D.M., Goldhaber M.B. The role of sulfate-reducing bacteria in the deposition of sedimentary uranium ores. **J. Geomicrobiol**, 1985; 4(2): 153–173.
64. Moody M.D., Dailey H.A. Ferric iron reductase of *Rhodopseudomonas sphaeroides*. **J. Bacteriol**, 1985; 163(3): 1120–1125.
65. Nakamura K., Sakamoto M., Uchiyama H., Yagi O. Organomercurial-volatilising bacteria in the mercury polluted sediment of Minimata bay. **Jpn. Appl. and Environ. Microbiol**, 1990; 56(1): 304–305.
66. Newmann D.K., Kennedy E.K., Coates J.D. et al. Dissimilatory arsenate and sulfate reduction in *Desulfotomaculum auripigmentum* sp. nov. **Arch. Microbiol**, 1997; 168: 380–388.
67. Nies D.H. Resistance to cadmium, cobalt, zinc and nickel in microbes. **Plasmid**, 1992; 27(1): 17–28.
68. Nowak A., Przebulewska K., Szopa E., Stacewicz A. Influence of the heavy metals (Hg, Cd, Cu, Pb) on the growth and ferment activity of soil bacteria. **Folia Univ. Agr. Ctetin. Agr**, 2001; 88: 165–173.
69. Oremland R.S., Steinberg N.A., Maest A.S. et al. Measurement of in situ rates of selenate removal by dissimilatory bacterial reduction in sediments. **Environ. Sci. Technol**, 1990; 24(8): 1157–1164.
70. Pan-Hou H.S.K., Imura N. Role of hydrogen sulphide in mercury resistance determined by plasmid of *Clostridium cochlearium* T2. **Arch. Microbiol**, 1981; 129(1): 49–52.
71. Pan-Hou H.S.K., Nishimoto M., Imura N. Possible role of membrane proteins in mercury resistance of *Enterobacter aerogenes*. **Arch. Microbiol**, 1981; 130(2): 93–95.
72. Pongratz R., Heumann K. Production of methylated mercury, lead and cadmium by marine bacteria as a significant source for atmospheric heavy metals in polar regions. **Chemosphere**, 1999; 39(1): 89–102.
73. Postgate J.R. **The sulfate-reducing bacteria**. 2nd ed. Cambridge: Cambridge Univ. press, 1984; 199.
74. Postma D. Concentration of Mn and separation from Fe in Sediments. I. Kinetics and stoichiometry of the reaction between birnessite and dissolved Fe (II) at 10°C. **Geochim. Cosmochim. Acta**, 1985; 49(4): 1023–1033.
75. Rendorf S.E., Li G. Kinetics of chromate reduction by ferrous iron. **Environ. Sci. Technol**, 1996; 30: 1614–1617.
76. Reynolds R.L., Goldhaber M.B. Iron disulfide minerals and the genesis of roll-type uranium deposits. **Econ. Geol**, 1983; 78(1): 105–120.
77. Rouch D.A., Lee B.T.O., Morby A.P. Understanding cellular responses to toxic agents: a mechanism-choice in bacterial metal resistance. **J. Ind. Microbiol**, 1995; 14(2): 132–141.
78. Schiering N., Kabsch W., Moore M.J. et al. Structure of the detoxification catalyst mercuric ion reductase from *Bacillus* sp. strain RC607. **Nature**, 1991; 352(6331): 168–172.
79. Seghezzi L., Zeeman G., van Lier J.B. et al. A review: the anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. **Bioresour. Technol**, 1998; 65: 175–190.
80. Shohei O., Kazuhiro I., Osami Y., Hideo T. Development of a biological mercury removal-recovery system. **Biotechnol. Lett**, 2000; 22(9): 783–788.
81. Silver S., Endo G., Nakamura K. Mercury in the environment and the laboratory. **J. Jap. Soc. Water Environ**, 1994; 17: 235–243.
82. Silver S., Phung L.T. Bacterial heavy metal resistance: new surprises. **Annu. Rev. Microbiol**, 1996; 50: 753–789.

83. *Slawson R.M., Van Dyke M.I., Lee H., Trevors J.T.* Germanium and silver resistance, accumulation and toxicity in microorganisms. **Plasmid**, 1992; 27(1): 72–79.
84. *Solioz M., Stoyanov J.* Copper homeostasis in *Enterococcus hirae*. **FEMS Microbiology Reviews**, 2003; 27(2-3): 183–195.
85. *Sterritt R.M., Lester J.N.* Interactions of heavy metals with bacteria. **Sci. Total Environ**, 1980; 14(2): 5–17.
86. *Suarez P., Garcia E.* Mercury-induced polypeptide in a marine isolate coccus. **Abstr. 99th Gen. Meet. Amer. Soc. Microbiol.** Chicago (USA), 1999; P. 593.
87. *Suzuki T., Miyata N., Horitsu H. et al.* NAD(P)H-dependent chromium (VI) reductase of *Pseudomonas ambigua* G-1: a Cr (V) intermediate is formed during the reduction of Cr (VI) to Cr (III). **J. Bacteriol**, 1992; 174(16): 5340–5345.
88. *Tamaki S., Frankenberger W.T.* Environmental biochemistry of arsenic. **Rev. Environ. Contam. Toxicol**, 1992; 124: 79–110.
89. *Taylor G.H.* Biogeochemistry of uranium minerals. **Biochemical Cycling of Mineral-forming Elements** / P.A. Trudinger, D.J. Swaine. Elsevier science publishing, 1979: 485–514.
90. *Tebo B.M.* Metal precipitation by marine bacteria: potential for biotechnological applications. **Genetic Engineering – Principles and Methods**. Ed. J.K. Setlow. New York: Plenum Press, 1995: 231–263.
91. *Tebo B.M., Obratsova A.Y.* Sulfate-reducing bacterium grows with Cr (VI), U (VI), Mn (IV), and Fe (III) as electron acceptors. **FEMS Microbiology Letters**, 1998; 162: 193–198.
92. *Trevors J.T.* Mercury methylation by bacteria. **J. Basic. Microbiol**, 1986; 26(8): 499–504.
93. *Trevors J.T., Stratton G.W., Gadd G.M.* Cadmium transport, resistance, and toxicity in bacteria, algae, and fungi. **Can. J. Microbiol**, 1986; 32(6): 447–464.
94. *Veeh H.H.* Deposition of uranium from the ocean. **Earth Planet. Sci. Lett**, 1967; 3: 145–150.
95. *Viragh K., Szolnoki J.* Bakteriumok szerepe a mecseki uranere keletkezeseben es kesobbi athalmozasaban. **Foldt. Kozl**, 1970; 100: 43–54.
96. *White C., Sayer J.A., Gadd G.M.* Microbial solubilization and immobilization of toxic metals: key biogeochemical processes for treatment of contamination. **FEMS Microbiol. Rev**, 1997; 20(3-4): 503–516.
97. *Widdel F.* The genus *Desulfotomaculum* / **The Prokaryotes** / A. Balows, H.G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, K.-H. Schleifer (ed.). Berlin: Springer, 1992: 1792–1799.
98. *Widdel F., Bak F.* Gram-negative mesophilic sulfate-reducing bacteria // **The Prokaryotes** / A. Balows, H.G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, K.-H. Schleifer (ed.). Berlin: Springer-Verlag, 1992; 3352–3378.
99. *Xiong A., Jayaswal R.K.* Molecular characterization of a chromosomal determinant conferring resistance to zinc and cobalt ions in *Staphylococcus aureus*. **J. Bacteriol**, 1988; 180(16): 4024–4029.
100. *Xu Z., Lee S.Y.* Display of polyhistidine peptides on the *Escherichia coli* cell surface by using outer membrane protein C as an anchoring motif. **Appl. and Environ. Microbiol**, 1999; 65(11): 5142–5147.

USAGE OF METALLS AS THE TERMINAL ELECTRON ACCEPTORS BY THE SULFATE-REDUCING BACTERIA

T. B. Peretyatko, A. A. Halushka, S. P. Gudz

Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine

The review briefly describes the toxic effects of heavy metals towards microorganisms and the resistance mechanisms to heavy metals. The processes of fermentative and non-fermentative reduction of oxidized metals forms by the sulfate-reducing bacteria

and factors that have influence these processes are described. Some sulfate-reducing bacteria using metals as terminal electrons acceptors are described. Data about the usage of these microorganisms in the bioremediation are presented. The attention is paid to the usage of psychrophilic sulfate-reducing bacteria in these processes.

Key words: heavy metals, dissimilatory sulfate reduction, sulfate-reducing bacteria, metals reduction, bioremediation.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТАЛЛОВ КАК КОНЕЧНЫХ АКЦЕПТОРОВ ЭЛЕКТРОНОВ СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ

Т. Б. Перетятко, А. А. Галушка, С. П. Гудзь

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина*

В обзоре кратко охарактеризовано токсическое действие тяжелых металлов на микроорганизмы и устойчивость различных микроорганизмов к ним. Описаны механизмы ферментативного и неферментативного восстановления окисленных форм металлов сульфатредуцирующими бактериями и факторы, влияющие на эти процессы. Описаны сульфатредуцирующие бактерии, использующие металлы в качестве конечных акцепторов электронов и возможные пути их использования для очистки окружающей среды от тяжелых металлов. Акцентируется внимание на поиске и использовании психрофильных сульфатредуцирующих бактерий.

Ключевые слова: тяжелые металлы, диссимиляционная сульфатредукция, сульфатредуцирующие бактерии, восстановление металлов, биоремедиация.

Одержано: 14.09.2009