



Biosystems Diversity

ISSN 2519-8513 (Print)
ISSN 2520-2529 (Online)
Biosyst. Divers., 26(1), 3–10
doi: 10.15421/011801

Sulfidogenic activity of sulfate and sulfur reducing bacteria under the influence of metal compounds

O. M. Moroz, S. O. Hnatush, O. V. Tarabas, C. I. Bohoslavets, G. V. Yavorska, B. M. Borsukevych

Ivan Franko National University of Lviv, Lviv, Ukraine

Article info

Received 11.01.2018

Received in revised form

05.02.2018

Accepted 07.02.2018

Ivan Franko National
University of Lviv,
Hrushevsky st., 4,
Lviv, 79005, Ukraine.
Tel.: +38-067-811-86-44.
E-mail:
moroz_oksana@yahoo.com

Moroz, O. M., Hnatush, S. O., Tarabas, O. V., Bohoslavets, C. I., Yavorska, G. V., & Borsukevych, B. M. (2018). Sulfidogenic activity of sulfate and sulfur reducing bacteria under the influence of metal compounds. Biosystems Diversity, 26(1), 3–10. doi: 10.15421/011801

Due to their high content in natural environments, heavy metals exhibit toxic effects on living organisms, which leads to a decrease in the biological diversity and productivity of ecosystems. In niches with low oxidation reducing potential, sulfate and sulfur reducing bacteria carry out the reducing transformation of oxidized sulfur compounds with the formation of significant amounts of hydrogen sulfide. H₂S produced by bacteria interacts with metal ions, precipitating them in the form of sulfides. The aim of this work was to investigate the influence of lead, cuprum (II), iron (II) and manganese (II) salts on the production of hydrogen sulfide by bacteria of the *Desulfovibrio* and *Desulfuromonas* genera, isolated from Yavorivske Lake, and to evaluate the efficiency of their use for purifying media, enriched with organic compounds, from hydrogen sulfide and heavy metals. The content of heavy metal ions in the water of Yavorivske Lake was determined by the spectrophotometric method. The bacteria were grown for 10 days at 30 °C in the Kravtsov-Sorokin medium under anaerobic conditions. To study the influence of metal ions on bacteria growth and their H₂S production, cells were incubated with metal salts (0.5–4.0 mM), washed and grown in media with SO₄²⁻ or S⁰. To determine the level of metal ions binding by H₂S, produced by bacteria, cells were grown in media with metal compounds (0.5–4.0 mM), SO₄²⁻ or S⁰. Biomass was determined by turbidimetric method. In the cultural liquid the content of H₂S was determined quantitatively by spectrophotometric method, and qualitatively by the presence of metal cations. The content of metal sulfides in the growth medium was determined by weight method. Sulfate and sulfur-reducing bacteria were resistant to 2.0 mM Pb(NO₃)₂, 2.5 mM CuCl₂, 2.5 mM FeCl₂ × 4H₂O and 2.0 mM MnCl₂ × 4H₂O, therefore they are promising for the development of biotechnologies for the purification of water resources contaminated by sulfur and metal compounds. When present in a medium with sulfates or sulfur of 1.0–1.5 mM lead, cuprum (II), iron (II) or manganese (II) ions, they almost completely bind with the H₂S produced by bacteria in the form of insoluble sulfides, which confirms the negative results of qualitative reactions to their presence in the cultural liquid.

Keywords: *Desulfovibrio*; *Desulfuromonas*; heavy metals; hydrogen sulfide

Сульфідогенна активність сульфатвідновних та сірководновних бактерій за впливу сполук металів

O. M. Мороз, С. О. Гнатуш, О. В. Тарабас, Х. І. Богославець, Г. В. Яворська, Б. М. Борсукевич

Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, Україна

За високого вмісту у природних середовищах важкі метали виявляють токсичну дію на живі організми, що спричиняє зниження біологічного різноманіття та продуктивності екосистем. Сульфат- і сірководновні бактерії в нішах із низьким окисно-відновним потенціалом здійснюють відновну трансформацію окиснених сполук сульфуру з утворенням значних кількостей гідроген сульфід. Утворення бактеріями H₂S взаємодіє з іонами металів, осаджуючи їх у формі сульфідів. Мета статті – виявити вплив солей свинцю, купруму (II), феруму (II) та мангану (II) на утворення гідроген сульфід бактеріями родів *Desulfovibrio* і *Desulfuromonas*, виділеними з озера Яворівське, і оцінити ефективність їх використання для очищення середовищ, збагачених органічними сполуками, від гідроген сульфід та важких металів. Вміст іонів важких металів у воді озера Яворівське визначали спектрофотометричним методом. Бактерії вирощували впродовж 10 діб за 30 °C у середовищі Кравцова-Сорокіна в анаеробних умовах. Для вивчення впливу іонів металів на ріст бактерій та утворення ними H₂S клітини інкубували з їх солями (0,5–4,0 мМ), відмивали та вирощували у середовищах з SO₄²⁻ або S⁰. Для визначення рівня зв'язування іонів металів продуктованими бактеріями H₂S їх вирощували у середовищах із сполуками металів (0,5–4,0 мМ), SO₄²⁻ або S⁰. Біомасу визначали турбідиметричним методом. У культуральній рідині кількісно визначали вміст H₂S спектрофотометричним методом, якісно – наявність катіонів металів. Вміст сульфідів металів у середовищі росту бактерій визначали ваговим методом. Сульфат- і сірководновні бактерії виявилися стійкими до 2,0 мМ Pb(NO₃)₂, 2,5 мМ CuCl₂, 2,5 мМ FeCl₂ × 4H₂O і 2,0 мМ MnCl₂ × 4H₂O, тому вони перспективні для розроблення біотехнології очищення забруднених сполуками сульфуру та металів водних ресурсів. За наявності у середовищі із сульфатами чи сіркою 1,0–1,5 мМ іонів свинцю, купруму (II), феруму (II) чи мангану (II) вони практично повністю зв'язуються з утвореним бактеріями H₂S у вигляді нерозчинних сульфідів, що підтверджують негативні результати якісних реакцій на їх наявність у культуральній рідині.

Ключові слова: *Desulfovibrio*; *Desulfuromonas*; важкі метали; гідроген сульфід

Вступ

Заоплені кар'єри сіркових родовищ, стоки багатьох промислових підприємств, породні відвали вугільних шахт, полігони побутових і промислових відходів містять, крім сполук сульфур, карбону та нітрогену, важкі метали та радіонукліди (Baran et al., 2003; Gudz et al., 2004; Frank & Lushnikov, 2006; Moroz et al., 2008; Kuzmishyna-Diakiv & Hnatysh, 2015; Kuzmishyna et al., 2015; Tarabas et al., 2017), вміст яких перевищує гранично допустимі концентрації (ГДК). небезпека важких металів зумовлена їх біоаккумуляцією та концентруванням під час руху трофічними ланцюгами. За високого вмісту у природних середовищах важкі метали виявляють токсичну дію на живі організми, що спричиняє зниження біологічного різноманіття та продуктивності екосистем (Kushkevych et al., 2007; Kuznetsov et al., 2015).

Для видалення металів із води існують різні методи. Біологічні методи придатніші для очищення середовища з низькими концентраціями металів (Frank & Lushnikov, 2006; Yavorska et al., 2008; Kuznetsov et al., 2015; Kiran et al., 2017). Біоаккумуляція залежить від метаболічної активності клітин, вмісту металу в середовищі та його фізико-хімічної характеристики. Сорбція, іонний обмін, комплексоутворення, хелатування або осадження відбуваються в основному на рівні клітинної стінки та мембрани клітин (McEldowney, 1990). Мертві клітини ефективніше акумулюють метали, ніж живі. Нагромадження токсикантів усередині клітини залежить від функціонування транспортних систем, утворення нерозчинних продуктів унаслідок взаємодії з активними радикалами капсули, клітинної стінки, мембран, цитоплазматичних метаболітів, поглинання металів способом, подібним до піноцитозу, мікропреципітації під час гідролізу сорбованих форм металів (Eger, 1994). Мікроорганізми акумулюють важкі метали та радіонукліди в кількостях, які перевищують їх фізіологічні потреби (понад 10–20% на одиницю сухої маси) (Kuznetsov et al., 2015). Окрім акумуляції та сорбції, існують інші види взаємодії мікроорганізмів із металами: мобілізація (перетворення нерозчинних сполук металів на розчинні), утворення легких сполук (приєднання метильних груп до іонів металів за участю S-аденозилметіонінової системи мікроорганізмів (Si et al., 2015)) та іммобілізація або осадження (Kozlova et al., 2008). Мікробіологічне осадження металів може бути у вигляді карбонатів, гідроксидів і оксидів, зокрема, феруму та мангану, сульфідів (White et al., 2000; Kushkevych et al., 2007; Kozlova et al., 2008; Peretiatio et al., 2009a; Gudz et al., 2011; Moroz, 2013). Сульфідні метали не токсичні, можуть бути легко видалені з розчину. Існує досвід промислового використання подібних осадів для виділення металів (Hao, 2000; Frank & Lushnikov, 2006; Yavorska et al., 2008; Peretiatio et al., 2009a).

Бактерії, які відновлюють сульфати до сульфідів, можуть трансформувати низку металоїдів, перехідних металів, актинідів із використанням специфічних або неспецифічних щодо металів ферментів, системи ферментів метилювання або внаслідок утворення комплексів із гідроксильними, карбоксильними, фосфатними, аміногрупами; ковалентних зв'язків із сульфгідрильними групами білків, нуклеотидів, коферментів, фосфоліпідів, порфіринів, полісахаридів та інших важливих метаболітів клітини (Saffarini, 2015).

Металовідновні бактерії, до яких належать сульфідогенні (сульфат- і сірковідновні) бактерії, дією металоредуктаз (мультигемових цитохромів типу *c* (Lovley, 2006; Richter et al., 2012; Fitzgerald et al., 2013)) можуть ферментативно відновлювати Fe (III), Cr (VI), Mn (IV), U (VI) Tc (VII), Pd (II), V (V), Mo (VI), Cu (II) тощо, використовуючи їх як акцептори електронів анаеробного дихання (Frank & Lushnikov, 2006; Lovley, 2006; Cologgi et al., 2011; Wilkins et al., 2011; Smirnova and Podgorsky, 2013; Vasylyv & Hnatysh, 2013; Viti et al., 2014; Bilyy et al., 2014; Wang et al., 2015; Maslovska & Hnatysh, 2015; Moroz et al., 2016, 2017). Сульфідогенні бактерії у нішах із низьким окисно-відновним потенціалом, збагачених органічними сполуками, здійснюють відновну трансформацію окиснених сполук сульфур у утворенням значних кількостей гідроген сульфід (Richter et al., 2012). Гідроген сульфід, утворений бактеріями, взаємодіє з іонами важких металів (Fe (II), Cu

(II), Cd (II), Ni (II), Pb (II), Zn (II)), осаджуючи їх у формі сульфідів, або є сильним відновлюючим агентом, який сприяє редукції металів до більш відновлених форм (White et al., 2000; Frank & Lushnikov, 2006; Wang et al., 2008; Kozlova et al., 2008; Gudz et al., 2011; Vasylyv et al., 2011; Moroz, 2013; Kiran et al., 2017). Осадження сульфідів може здійснюватися сульфідогенною мікробіотою у відстійниках, лагунах, ставках, анаеробних реакторах і відбуватися поза клітинами мікроорганізмів, у клітинах або на поверхні клітин за pH 3–9 (Kuznetsov et al., 2015).

Утворення сульфідів металів – основний спосіб, за допомогою якого бактерії усувають важкі метали з природного кругообігу (White et al., 2000). Тому вивчення біогенезу H₂S бактеріями важливе для розроблення ефективних і рентабельних біологічних способів регулювання рівня сполук сульфур та металів у забруднених середовищах. Відбирання виділених із техногенно змінених екотопів, адаптованих до несприятливих умов штамів мікроорганізмів, – особливо актуальне завдання для створення нових способів очищення довкілля (Wang et al., 2008; Zhuang et al., 2012; Iwahori et al., 2014; Limcharoensuk et al., 2015; Mustapha & Halimoon, 2015; Rabus et al., 2015; Si et al., 2015; Dey et al., 2016; Kiran et al., 2017). Мета статті – вивчити вплив солей плумбуму, купрум (II), феруму (II) та мангану (II) на утворення гідроген сульфід сульфат- і сірковідновними бактеріями, виділеними з води озера Яворівське, оцінити ефективність їх використання для очищення середовищ, збагачених органічними сполуками, від гідроген сульфід та важких металів.

Матеріал і методи досліджень

Сульфатвідновні бактерії *Desulfovibrio desulfuricans* IMB K-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-8 та сірковідновні бактерії *Desulfuromonas acetoxidans* IMB B-7384, *Desulfuromonas* sp. Yavor-5, *Desulfuromonas* sp. Yavor-7, виділені нами раніше з озера Яворівське, ідентифіковані у Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України або в колекції кафедри мікробіології ЛНУ імені Івана Франка (Peretiatio et al., 2009b; Moroz, 2010; Moroz et al., 2013; Gudz et al., 2013).

Відбирання проб води з різних глибин озера (0, 30, 40, 50, 70 м) проводили за допомогою батометра спільно з працівниками відділення гірничо-хімічної сировини Інституту «Гірхімпром» Академії гірничих наук України в осінній період 2016 року. Концентрації Sr²⁺, Mn²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺, Pb²⁺, Cu²⁺, Fe²⁺, Fe³⁺ та Cr³⁺ визначали як описано (Harris, 2003).

Сірковідновні бактерії вирощували у середовищі Кравцова-Сорокіна (Gudz et al., 2014) без солі Мора та без сульфат-іонів із сіркою. Сульфатвідновні бактерії вирощували у середовищі Кравцова-Сорокіна (Gudz et al., 2014) без солі Мора. Перед посівом у середовище вносили 0,05 мл стерильного розчину Na₂S × 9H₂O (1%). Для доведення pH середовища до 7,2 використовували стерильний 10 М розчин NaOH. Клітини вносили в середовище у кількості 10% (об.) до початкової концентрації 10⁸ КУО/мл (0,05 г/л). Сірку стерилізували окремо (0,5 атм) та вносили у середовище культивування *Desulfuromonas* sp. за концентрації не меншої ніж 0,1 г/л (3,47 мМ – концентрація SO₄²⁻ у середовищі стандартного складу). Бактерії вирощували упродовж 10 діб у пробірках об'ємом 25 мл в анаеробних умовах і за температури 30 °С.

Біомасу визначали за мутністю суспензії клітин на фотоелектроколориметрі КФК-3 (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 за 340 нм, n – розведення (разів), K – коефіцієнт перерахунку, отриманий за калібрувальною кривою залежності екстинкції від маси сухих клітин, визначеної ваговим методом, рівний 0,72 для сірко- та 0,19 для сульфатвідновних бактерій (Gudz et al., 2014). Концентрацію гідроген сульфід у культуральній рідині, відокремленій від клітин центрифугуванням (4025 г, 20 хв), визначали спектрофотометрично за утворенням метиленової сині внаслідок реакції взаємодії N,N-диметил-п-фенілдіамін дигідрохлориду та гідроген сульфід (Gudz et al., 2014). Для визначення впливу солей металів на ріст і утворення гідроген сульфід

сульфат- і сірководневими бактеріями клітини осаджували центрифугуванням (4025 g, 20 хв), ресуспендували у стерильному розчині NaCl (0,9%), в стерильних умовах інкубували упродовж години зі стерильними розчинами Pb(NO₃)₂, CuCl₂, FeCl₂ × 4H₂O та MnCl₂ × 4H₂O за концентрацій: 0 (контроль), 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 4,0 мМ, осаджували центрифугуванням, двічі відмивали фізіологічним розчином і висівали у середовища з SO₄²⁻ або S⁰ відповідно. Після 10 діб росту визначали біомасу та вміст гідроген сульфід у культуральній рідині.

Визначали рівень зв'язування Pb²⁺, Cu²⁺, Fe²⁺ та Mn²⁺ продукованим бактеріями H₂S. Для цього їх вирощували упродовж 10 діб у середовищах із солями важких металів: Pb(NO₃)₂, CuCl₂, FeCl₂ × 4H₂O та MnCl₂ × 4H₂O, за концентрацій: 0 (контроль), 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 4,0 мМ. Після 10 діб росту визначали біомасу. Суміш клітин і сульфідів металів осаджували центрифугуванням, у культуральній рідині визначали якісно наявність катіонів п्लомбуму, купруму (II), феруму (II) або мангану (II) (Harris, 2003) та кількісно вміст гідроген сульфід, сумарну концентрацію якого розраховували як суму концентрацій вільного H₂S і зв'язаного у формі сульфідів металів (MeS). Вміст металосульфідів визначали ваговим методом. Для цього суміш клітин і MeS зважували, масу сульфідів металів вираховували як різницю між масою суміші та сухих клітин (вирощених після інкубації із солями металів) і компонентів середовища. Відносну концентрацію (%) зв'язаного гідроген сульфідом катіона металу розраховували, виходячи із співвідношення молярних концентрацій утвореного сульфід металу та іона металу, внесеного до середовища на початку культивування бактерій, приймаючи концентрацію солі металу за 100%. Досліди повторювали тричі з трьома паралельними постановками для кожного ва-

ріанта експериментальних і контрольних умов. Для оцінювання достовірності різниці після перевірки нормальності розподілу між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обраховували коефіцієнт Стьюдента. Достовірною вважали різницю за рівня значимості P < 0,05.

Результати

У техногенній водоймі, яка виникла на місці кар'єру Яворівського сіркового родовища, виявлено високі концентрації токсичних для живих організмів сполук сульфур та важких металів (Baran et al., 2003; Gudž et al., 2004; Moroz et al., 2008; Gaidin & Zozulia, 2009; Tarabas et al., 2017).

За останні роки на всіх глибинах озера Яворівське концентрація SO₄²⁻ перевищувала ГДК і була в межах від 784–913 мг/л на поверхні до 1 530–1 725 мг/л на дні. На глибинах 30 м і нижче концентрація H₂S у сотні разів перевищувала ГДК, у придонних шарах його вміст становив від 34 до 121 мг/л (Moroz et al., 2008; Gaidin & Zozulia, 2009; Tarabas et al., 2017). У воді озера вміст іонів стронцію збільшувався з глибиною, на глибині 40 м помітно перевищував ГДК (табл. 1).

Вміст іонів мангану (II) та кадмію на усіх глибинах значно перевищував ГДК. Концентрації іонів п्लомбуму та феруму (III) виявилися суттєво вищими за ГДК на глибинах 50–70 м. Вміст іонів цинку, купруму (II), феруму (II) та хрому (III) на жодній глибині не був вищим від ГДК. Вивчали вплив сполук п्लомбуму, купруму (II), феруму (II) та мангану (II) за значно вищих, ніж у водоймі, концентрацій на сульфидогенну активність сульфат- і сірководневих бактерій, виділених з озера Яворівське.

Таблиця 1

Вміст важких металів у воді озера Яворівське

Іони металів, мг/л	Глибина, м					ГДК (Grushko, 1979; Kuznetsov et al., 2015)
	0	30	40	50	70	
Sr ²⁺	1,841 ± 0,032	3,756 ± 0,071	4,183 ± 0,142*	4,982 ± 0,193*	5,075 ± 0,092*	2,0
Mn ²⁺	0,214 ± 0,011*	0,226 ± 0,009*	0,228 ± 0,012*	0,231 ± 0,007*	0,243 ± 0,014*	0,01–0,25
Zn ²⁺	0,006 ± 0,001	0,010 ± 0,002	0,018 ± 0,001	0,016 ± 0,002	0,015 ± 0,003	0,01–1,00
Cd ²⁺	0,023 ± 0,005*	0,031 ± 0,006*	0,029 ± 0,004*	0,025 ± 0,002*	0,018 ± 0,001*	0,001
Pb ²⁺	0,022 ± 0,004	0,005 ± 0,002	0,009 ± 0,001	0,020 ± 0,003	0,041 ± 0,006*	0,02–0,10
Cu ²⁺	0,021 ± 0,003	0,020 ± 0,004	0,019 ± 0,003	0,018 ± 0,001	0,017 ± 0,002	0,02–1,00
Fe ³⁺	0,126 ± 0,011	0,134 ± 0,014	0,181 ± 0,010	0,342 ± 0,014*	0,282 ± 0,009*	0,1–0,3
Fe ²⁺	0,129 ± 0,015	0,144 ± 0,012	0,112 ± 0,009	0,108 ± 0,011	0,107 ± 0,005	0,1–0,3
Cr ³⁺	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,005–0,50

Примітка: * – P < 0,05.

Один із найтоксичніших важких металів – п्लомбум, який інгібує АТФ-азну активність плазматичної мембрани, порушує її цілісність і проникність, взаємодіючи з фосфоліпідами, та дисипацію величину трансмембранного потенціалу. Пригнічення росту мікроорганізмів за впливу Pb²⁺ відбувається внаслідок пошкодження ультраструктури клітин та інгібування окремих процесів метаболізму. Токсична дія Pb²⁺ полягає у порушенні поверхневих структур клітини, цитоплазматичної мембрани, органел, а також у появі включень різноманітної природи (Roane, 1999; Kushkevych et al., 2007; Peretiatio et al., 2009a).

Штами сульфатвідновних бактерій виявилися чутливішими до впливу Pb(NO₃)₂ за концентрацій 0,5–4,0 мМ як в інкубаційній суміші, так і у середовищі культивування, ніж штами сірководневих бактерій (табл. 2). За впливу 2,5 і 3,0 мМ Pb(NO₃)₂ нагромадження біомаси штамами бактерій родів *Desulfovibrio* та *Desulfuromonas* знижувалося у 2,2 і 2,3 раза, відповідно. Якщо рівень утворення гідроген сульфід штамами *Desulfovibrio* sp. знижувався у 2,0–2,5 раза за впливу 2,0–2,5 мМ Pb(NO₃)₂, то рівень його утворення штамами *Desulfuromonas* sp. знижувався у 1,8–2,3 раза за впливу значно вищої концентрації – 4 мМ п्लомбум нітрату. Незважаючи на це, ефективність зв'язування іонів п्लомбуму у формі PbS гідроген сульфідом, утвореним клітинами сульфатвідновних бактерій, сягала 96,0–100,0% за наявності у середовищі з іонами сульфату 0,5–1,5 мМ Pb(NO₃)₂, тоді як ефективність зв'язування Pb²⁺ гідроген сульфідом, утвореним клітинами сірководневих

бактерій, становила 90,5–100,0% за наявності у середовищі із сіркою лише до 1,0 мМ Pb(NO₃)₂. Можливо, це зумовлено утворенням штамами бактерій роду *Desulfovibrio* майже удвічі більшої кількості гідроген сульфід, ніж штамами бактерій роду *Desulfuromonas* за цей самий час.

На відміну від добре розчинних сульфатів, елементна сірка малорозчинна у воді, тонкодисперсна елементна сірка з водою утворює колоїдний розчин (Hedderich et al., 1999; Lengeler et al., 2005). У водному середовищі сірка також може перебувати у гідрофільній формі, наприклад, у формі політіонатів (O₃S–Sn–SO₃) або у вигляді полісульфідів, які утворюються у разі розчинення сірки у водному розчині сульфід. Елементна та полісульфідна форми сірки – субстрати для локалізованих у цитоплазматичній мембрані сульфурредуктази або полісульфідредуктази, зв'язаних із гідрогеназою цитохромами або хінонами (Hedderich et al., 1999). На відміну від сіркового, у сульфатному диханні бактерій задіяні цитоплазматичні ферменти: АТФ-сульфурилаза, пірофосфатаза, АФС-редуктаза, сульфідредуктаза (Lengeler et al., 2005).

Метаболізм органічних сполук, зокрема, натрій лактату, у досліджуваних бактерій теж відмінний: неповне окиснення лактату з утворенням ацетату і CO₂ у бактерій роду *Desulfovibrio* та повне його окиснення з утворенням CO₂ у бактерій роду *Desulfuromonas*, що є причиною утворення різної кількості відновних еквівалентів (Lengeler et al., 2005). Різний рівень утворення гідроген сульфід під час росту бактерій у середовищі з однаковою

Купрум впливає на мембранні Na^+/K^+ АТФ-ази, структуру та функції нуклеїнових кислот, синтез фосфоліпідів. Він – у складі низки ферментів і ферментних комплексів (Cu, Zn-супероксиддисмутази, лізилоксидази, дорамін- β -гідроксилази, аскорбатоксидази, галактозидази, цитохром с-оксидази, глутамілтрансферази, гіпонітритредуктази, редуктази оксиду нітрогену) (Lengeler et al., 2005). Взаємодіючи з тіоловими групами ліпоевої кислоти (кофактора дегідрогеназ кетокислот) купрум інгібує нітратредуктазу та пригнічує α -кетоглутаратдегідрогеназу, синтез вітаміну B_{12} , процеси фотосинтезу, бродиння та дихання у мікроорганізмів за рахунок зниження вмісту цитохромів *b* і *c* (Kushkevych et al., 2007; Peretiatko et al., 2009a; Segin et al., 2016). Описано *Cop*-систему транспорту купруму (хромосомний *cop*-оперон) та його регулювання у *Enterococcus hirae* (Winkelmann, 2002; Solioz & Stoyanov, 2003). Стійкість до купруму, детермінована локалізованими у плазмідах генами, описана у бактерій родів *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Escherichia* (Silver & Walderhaug, 1995).

За впливу 3,0 мМ CuCl_2 нагромадження біомаси штамами бактерій родів *Desulfovibrio* та *Desulfuromonas* знижувалося удвічі (табл. 2). Утворення гідроген сульфідів штамами сульфатвідновних бактерій у середовищі із сульфатами знижувалося у 2,4 раза за впливу 2,0–3,0 мМ CuCl_2 в інкубаційній суміші або у середовищі культивування. Рівень утворення гідроген сульфідів штамами сірководновних бактерій у середовищі з елементною сіркою знижувався у 2,2 раза за впливу 4,0 мМ CuCl_2 . Оскільки штами досліджених бактерій за 10 діб утворювали приблизно однакову кількість H_2S (2,6 та 2,1 мМ, відповідно), ефективність зв'язування гідроген сульфідом, утвореним їх клітинами, наявних у середовищі 0,5–1,5 мМ іонів купруму (II) у формі CuS сягала 90,0–100,0%. За внесення під час засіву у середовище до 1,5 мМ катіонів купруму (II) на 10-ту добу вони повністю зв'язувалися з утвореним сульфат- і сірководновними бактеріями гідроген сульфідом, тому результати якісних реакцій на їх наявність у культуральній рідині виявилися негативними. Зв'язування іонів купруму (II), внесених на початку культивування за концентрації 2 мМ, утвореним бактеріями H_2S виявилось в 1,2–1,9 раза меншим, ніж за нижчих концентрацій CuCl_2 у середовищі, і не перевищував 81,5%, оскільки його кількості виявилось недостатньо для повної взаємодії з іонами металу. За внесення понад 2 мМ Cu^{2+} у середовище позитивні результати якісних реакцій вказали на наявність іонів металу у культуральній рідині після 10 діб культивування бактерій (табл. 2).

Токсичність для мікроорганізмів сполук феруму пов'язана з тим, що після потрапляння в клітину ферум утворює комплекси з гідроксильними, карбоксильними, фосфатними та аміногрупами, а також ковалентні зв'язки із сульфгідрильними групами, за рахунок чого вони з'єднуються з білками, нуклеотидами, коферментами, фосфоліпідами, порфіринами та іншими важливими метаболітами. Ферум порушує транспортні функції клітини, спричиняє мутагенну дію унаслідок індукції генних мутацій і аберацій хромосом, інгібує реплікацію ДНК, синтез РНК, білків, рибофлавіну, вітаміну B_{12} , пригнічує дихання, порушує структуру та властивості цитоплазми, процеси фотосинтезу, азотофіксації тощо (Lovley, 2006; Kushkevych et al., 2007; Peretiatko et al., 2009a; Vasylyv & Hnatysh, 2013; Maslovska & Hnatysh, 2015; Moroz et al., 2016).

За впливу 3,0–4,0 мМ $\text{FeCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ нагромадження біомаси усіма дослідженими штамами сульфат- і сірководновних бактерій знижувалося у 2,0–2,4 раза (табл. 3). За впливу 2,5 мМ $\text{FeCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ в інкубаційній суміші або у середовищі культивування утворення гідроген сульфідів штамами бактерій роду *Desulfovibrio* у середовищі із сульфатами знижувалося у 2,2–2,6 раза. У стільки ж разів знижувалося утворення H_2S у середовищі із сіркою штамами бактерій роду *Desulfuromonas* за впливу вищої концентрації (3,0 мМ) $\text{FeCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$. Незважаючи на меншу чутливість сірководновних бактерій до токсичної дії іонів феруму (II), ефективність їх зв'язування гідроген сульфідом, утвореним цими бактеріями, у формі FeS сягала 89,0–100,0% за внесення у середовище до 1,0 мМ $\text{FeCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$, а гідроген сульфідом, утвореним сульфатвідновними бактеріями, становила 96,0–100,0% за внесення у середовище до 1,5 мМ $\text{FeCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$. Можливо, це зумовлено утво-

ренням сульфатвідновними бактеріями у середовищі із сульфатами за 10 діб до 3,1 мМ H_2S , а сірководновними бактеріями у середовищі із сіркою за цей самий час – лише до 2,1 мМ H_2S . Рівень зв'язування іонів феруму (II), внесених у середовище на початку культивування сульфат- і сірководновних бактерій за концентрацій 2,0 і 1,5 мМ, утвореним бактеріями H_2S виявився в 1,3–1,7 та 1,1–1,6 раза меншим, ніж за нижчих концентрацій $\text{FeCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ у середовищі, і не перевищував 75,5% та 88,7% відповідно, оскільки його кількості було недостатньо для повної взаємодії з іонами металу. Негативні результати якісних реакцій на наявність катіонів феруму (II) у середовищі культивування бактерій свідчать, що за внесення під час засіву у середовище відповідно 0,5–1,5 та 0,5–1,0 мМ іонів феруму (II) вони повністю зв'язуються з утвореним сульфат- і сірководновними бактеріями H_2S і тому у культуральній рідині не виявляються. За наявності на початку культивування *Desulfovibrio* sp. і *Desulfuromonas* sp. у середовищі понад 2,0 та понад 1,5 мМ $\text{FeCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ відповідно позитивні результати якісних реакцій свідчать про присутність після 10 діб росту бактерій іонів феруму (II) у культуральній рідині (табл. 3).

Манган бере участь у процесах відновлення нітратів і асиміляції нітрогену, входить до складу ферментних систем, які каталізують окисно-відновні реакції внутрішньоклітинного обміну (аргінази, супероксиддисмутази, піруваткарбоксилази, глутамінсинтезази). Mn^{2+} потрапляє у клітини *Bacillus subtilis* за участю метал-цитрат-котранспортної системи *CitM* разом із цитратом (Winkelmann, 2002). Всередині клітин Mn^{2+} утворює комплексні сполуки з органічними речовинами (амінами, органічними кислотами, амінокислотами тощо). За високих концентрацій манган спричиняє нейродегенеративні порушення у вищих організмів (Lovley, 2006).

Нагромадження біомаси штамами бактерій родів *Desulfovibrio* та *Desulfuromonas* знижувалося приблизно удвічі за впливу 2,5 та 4,0 мМ $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ відповідно (табл. 3). Утворення гідроген сульфідів штамами сульфат- і сірководновних бактерій знижувалося у 2,0–3,4 та 1,5–2,1 раза за впливу 2,5 та 2,5–3,0 мМ $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ відповідно в інкубаційній суміші або у середовищі культивування, що демонструє більшу чутливість сульфатвідновних бактерій до Mn^{2+} , порівняно з сірководновними. Незважаючи на це, ефективність зв'язування іонів мангану (II) у формі MnS гідроген сульфідом, утвореним клітинами сульфатвідновних бактерій, становила 92,6–99,0% за наявності у середовищі з іонами сульфату 0,5–1,5 мМ $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$, тоді як ефективність зв'язування Mn^{2+} гідроген сульфідом, утвореним клітинами сірководновних бактерій, сягала 95,0–98,0% за наявності у середовищі із сіркою лише до 1,0 мМ $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$. Це можна пояснити тим, що штами бактерій роду *Desulfovibrio* у середовищі із сульфатами за 10 діб утворили майже у півтора раза більшу кількість гідроген сульфідів (до 2,7 мМ), ніж штами бактерій роду *Desulfuromonas* у цьому ж середовищі із сіркою за цей самий час (до 1,6 мМ). Зв'язування іонів мангану (II), внесених у середовище на початку культивування сульфат- і сірководновних бактерій за концентрацій 2,0 і 1,5 мМ, утвореним бактеріями H_2S виявилось в 1,5 та 1,2–1,5 раза меншим, ніж за нижчих концентрацій $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ у середовищі, і не перевищував 67,0% та 78,7% відповідно, оскільки його кількості було недостатньо для повної взаємодії з іонами металу. Негативні результати якісних реакцій на наявність катіонів мангану (II) у середовищі культивування бактерій показали, що за внесення під час засіву в середовище відповідно 0,5–1,5 та 0,5–1,0 мМ іонів мангану (II) вони повністю зв'язуються з утвореним сульфат- і сірководновними бактеріями гідроген сульфідом і в культуральній рідині не виявляються. За внесення понад 2,0 та понад 1,5 мМ $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ у середовище позитивні результати якісних реакцій вказали на наявність іонів металу в культуральній рідині після 10 діб культивування досліджених бактерій (табл. 3).

Обговорення

Дослідження біогенезу H_2S бактеріями особливо важливе, адже утворення сульфідів металів – основний спосіб, за допомогою яко-

сульфатів чи сірки зумовлений відмінними механізмами метаболізму сполук сульфуру та карбону в бактерій родів *Desulfovibrio* та *Desulfuromonas* (Lengeler et al., 2005; Kozlova et al., 2008; Richter et al., 2012; Rabus et al., 2015). Тому іони плумбуму, купруму (II), феруму (II) та мангану (II) майже повністю зв'язувалися з утвореним сульфатвідновними бактеріями гідроген сульфідом за концентрацій до 1,5 мМ сполук металів у середовищі, а ефективність зв'язування іонів металів гідроген сульфідом, утвореним сірководновими бактеріями, сягала 100,0% за внесення у середовище до 1,0 мМ $Pb(NO_3)_2$, $FeCl_2 \times 4H_2O$ або $MnCl_2 \times 4H_2O$ і лише $CuCl_2$ за концентрації 1,5 мМ. Дослідження механізмів взаємодії представників сульфідогенної мікробіоти озера Яворівське за важкими металами важливі для якомога ширшого розкриття їх потенціалу у трансформуванні сполук сульфуру, карбону та металів і оптимізації або створення на їх основі нових методів захисту довкілля від небезпечних забруднювачів, таких як сульфати, гідроген сульфід, сполуки важких металів.

Висновки

Виділені з озера Яворівське штами сульфідогенних (сульфат- і сірководнових) бактерій стійкі до 2,0 мМ $Pb(NO_3)_2$, 2,5 мМ $CuCl_2$, 2,5 мМ $FeCl_2 \times 4H_2O$ і 2,0 мМ $MnCl_2 \times 4H_2O$, тому вони перспективні для розроблення біотехнологій ремедіації збагачених органічними сполуками середовищ, забруднених гідроген сульфідом і сполуками плумбуму, купруму (II), феруму (II) та мангану (II). За внесення до середовищ із сульфатами чи сіркою 1,0–1,5 мМ іонів цих металів, вони практично повністю зв'язуються з утвореним бактеріями H_2S у вигляді нерозчинних сульфідів. Наявність в озері Яворівське штамів бактерій, стійких до токсичних металів, свідчить не лише про широке розповсюдження металорезистентних мікроорганізмів у цій техногенній водоймі, а і про високий рівень їх адаптації до екстремальних чинників середовища.

References

- Baran, I. M., Podopryhora, O. I., Gryshchuk, G. V., Bondar, L. S., Kit, L. Y., Klym, I. R., Hnatysh, S. O., & Gudz, S. P. (2003). Ekolohichnyy monitorynyh vodoym Yavorivskoho sirkovoho rodovysshcha: mikrobiolohichnyy kontrol' [The ecological monitoring of Yavoriv sulfur deposit reservoirs; microbiological control]. *Environment and Health*, 27(4), 56–62 (in Ukrainian).
- Bilyy, O. I., Vasylyv, O. M., & Hnatysh, S. O. (2014). The anode biocatalyst with simultaneous transition metals pollution control. *Technology and Application of Microbial Fuel Cells*. InTech, Rijeka, Croatia.
- Cologgi, D. L., Lampa-Pastirk, S., Speers, A. M., Kelly, S. D., & Reguera, G. (2011). Extracellular reduction of uranium via *Geobacter* conductive pili as a protective cellular mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108, 15248–15252.
- Dey, U., Chatterjee, S., & Mondal, N. K. (2016). Isolation and characterization of arsenic-resistant bacteria and possible application in bioremediation. *Biotechnology Reports*, 10, 1–7.
- Eger, P. (1994). Wetland treatment for trace metal removal from mine drainage: The importance of aerobic and anaerobic processes. *Water Science and Technology*, 29(1), 249–256.
- Fitzgerald, L. A., Petersen, E. R., Leary, D. H., Nadeaud, L. J., Sotoc, C. M., Rayf, R. I., Little, B. J., Ringeisena, B. R., Johnson, G. R., Vora, G. J., & Biffinger, J. C. (2013). *Shewanella frigidimarina* microbial fuel cells and the influence of divalent cations on current output. *Sensors and Bioelectronics*, 40(1), 102–109.
- Frank, Y. A., & Lushnikov, S. V. (2006). Biotekhnologicheskij potencial sulfat-reduciruyushchih bakterij [Biotechnological potential of sulfate reducing bacteria]. *Ehkologiya i Promyshlennost'*, 1, 10–13 (in Russian).
- Gaidin, A. M., & Zozulia, I. I. (2009). Novi озера L'vivshchyny [New lakes of Lviv region]. *Afisha, L'viv* (in Ukrainian).
- Grushko, Y. M. (1979). *Vrednye neorganicheskie soedineniya v promyshlennyh stochnyh vodah* [Harmful inorganic compounds in industrial wastewater]. Himiya, Leningrad (in Russian).
- Gudz, S. P., Hnatysh, S. O., Moroz, O. M., Peretiatio, T. B., & Vasylyv, O. M. (2013). Svidotstvo pro deponuvannya shtamu bakteriy *Desulfuromonas acetoxidans* Ya-2006 u Depozytariyi Instytutu mikrobiolohiyi i virusolohiyi im. D. K. Zabolotnoho NAN Ukrainy z nadannam reyestratsiynoho nomeru IMV V-7384 [Certificate of deposition of bacteria *Desulfuromonas acetoxidans* Ya-2006 strain in the Depository of D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the NAS of Ukraine with appropriation of registration number IMV V-7384] (in Ukrainian).
- Gudz, S., Hnatysh, S., Peretiatio, T., Palianytsya, B., Kostruba, M., Podopryhora, O., & Klym, I. (2004). Dynamika zmin tytru sulfatvidnovlyval'nykh bakteriy ta vmistu sulfatuv i sirkovodnyu u vodakh kar'yeru Yavorivskoho sirkovoho rodovysshcha v protsesi yoho zatoplennya [Dynamics of changes in the titres of sulfate reducing bacteria and the content of sulfates and hydrogen sulfide in the waters of the Yavoriv sulfur deposit in the course of its flooding]. *Visnyk of L'viv University. Biological Series*, 37, 185–189 (in Ukrainian).
- Gudz, S. P., Hnatysh, S. O., Yavorska, G. V., Bilinska, I. S., & Borsukevych, B. M. (2014). *Praktykum z mikrobiologii'* [Workshop on microbiology]. Ivan Franko National University of L'viv, Lviv (in Ukrainian).
- Gudz, S. P., Peretiatio, T. B., Moroz, O. M., Hnatysh, S. O., & Klym, I. R. (2011). Rehulyuvannya rivnya sulfatuv, sirkovodnyu ta vazhkykh metaliv u tekhnogenykh vodoymakh sulfatvidnovlyval'nykh bakteriyami [Regulation of sulfates, hydrogen sulfide and hard metals level in technogenic reservoirs by sulfate reducing bacteria]. *Mikrobiologichny Zhurnal*, 73(2), 33–38 (in Ukrainian).
- Hao, O. J. (2000). Metal effects on sulfur cycle bacteria and metal removal by sulfate-reducing bacteria. *Environmental technologies to treat sulfur pollution. Principles and engineering*. IWA Publishing, London.
- Harris, D. S. (2003). *Quantitative chemical analysis*. Amazon, New York.
- Heiderich, R., Klimmek, O., Kroger, A., Dirmeier, R., Keller, M., & Stetter, K. O. (1999). Anaerobic respiration with elemental sulfur and with disulfides. *FEMS Microbiology Reviews*, 22(5), 353–381.
- Iwahori, K., Watanabe, J., Tani, Y., Seyama, H., & Miyata, N. (2014). Removal of heavy metal cations by biogenic magnetite nanoparticles produced in Fe(III)-reducing microbial enrichment cultures. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 117(3), 333–335.
- Kiran, M. G., Pakshirajan, K., & Das, G. (2017). Heavy metal removal from multicomponent system by sulfate reducing bacteria: Mechanism and cell surface characterization. *Journal of Hazardous Materials*, 324(PtA), 62–70.
- Kozlova, I. P., Radchenko, O. S., Stepura, L. H., Kondratyuk, T. O., & Pilyashenko-Novokhatnyy, A. I. (2008). Heokhimichna diyal'nist' mikroorganizmiv ta yiyi prykladni aspekty [Geochemical activity of microorganisms and its applied aspects]. *Naukova Dumka, Kyiv* (in Ukrainian).
- Kushkevych, I., Hnatysh, S., & Gudz, S. (2007). Vplyv vazhkykh metaliv na kliatny mikroorganizmiv [The influence of heavy metals on microorganism cells]. *Visnyk of L'viv University. Biological Series*, 45, 3–28 (in Ukrainian).
- Kuzmishyna-Diakiv, S., & Hnatysh, S. (2015). *Microbiota of the coal pits waste heaps*. OmniScriptum GmbH & Co. KG, Lambert Academic Publishing, Saarbrücken, Germany.
- Kuzmishyna, S. V., Hnatysh, S. O., & Halushka, A. A. (2015). Mikrobiota porodnykh vidvaliv vuhil'nykh shakht Chervonohrads'koho himyochpromyslovoho rayonu za vnesennya zoly [Microbiota of the coal pit waste heaps of Chervonograd mining region after coal ash applying]. *Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, Ecology*, 23(1), 33–38 (in Ukrainian).
- Kuznetsov, A., Gradova, N., Lushnikov, S., Éngelkhart, M., Vaysser, T., & Chebotareva, M. (2015). *Prikladnaya ehkobiotekhniologiya* [Applied Ecobiotechnology]. Binom Laboratoriya Znaniy, Moscow (in Russian).
- Lengeler, J., Dreves, G., & Shlegel, G. (Eds.). (2005). *Sovremennaya mikrobiologiya. Prokarioty* [Contemporary Microbiology. Prokaryotes]. Mir, Moscow (in Russian).
- Limcharonsuk, T., Sooksawat, N., Sumamrote, A., Awutpet, T., Kruatrachue, M., Pokethititook, P., & Auesukaree, C. (2015). Bioaccumulation and biosorption of Cd^{2+} and Zn^{2+} by bacteria isolated from a zinc mine in Thailand. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122, 322–330.
- Lovley, D. (2006). *Dissimilatory Fe(III)- and Mn(IV)-reducing prokaryotes. The Prokaryotes*. Springer-Verlag, LLC, New York.
- Maslovska, O., & Hnatysh, S. (2015). Oxidative modification of proteins and specific superoxide dismutase activity of *Desulfuromonas acetoxidans* IMV B-7384 bacteria under the influence of ferric citrate. *Microbiology and Biotechnology*, 30, 34–40.
- McEldowney, S. (1990). Microbial biosorption of radionuclides in liquid effluent treatment. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 5, 159–179.
- Moroz, O. M. (2010). Zakonomimosti utvorenniya sirkovodnyu sulfatvidnovlyval'nykh bakteriyami vodoymy karyeru Yavorivskoho sirkovoho rodovysshcha [Regularities of hydrogen sulfide production by sulfate reducing bacteria from water of Yavoriv sulfur deposit open pit]. *Scientific Bulletin of the Uzhgorod University. Series Biology*, 27, 56–63 (in Ukrainian).
- Moroz, O. M., Kolisnyk, Y. I., Podopryhora, O. I., Klym, I. R., Gudz, S. P., Borsukevych, B. M., & Hnatysh, S. O. (2008). Mikroflora vody ozera "Yavorivske" [Microflora of lake "Yavorivske" water]. *Scientific Bulletin of the Uzhgorod University. Series Biology*, 24, 131–138 (in Ukrainian).
- Moroz, O. M., Peretiatio, T. B., Klym, I. R., Borsukevych, B. M., Yavorska, G. V., Kulachkovsky, O. R. (2013). Sirkovidnovlyvalni bakteriyi ozera Yavorivske: Deyaki morfolohichni, kulturalni i fiziolohichni osoblyvosti [Sulfur reducing bacteria from Yavorivske lake: Some morphological, cultural and

- physiological peculiarities]. Scientific Bulletin of the Uzhgorod University. Series Biology, 35, 34–41 (in Ukrainian).
- Moroz, O. M. (2013). Utvorennia hidrohen sulfidu sirkovidnovlyuvalnymy bakteriyamy za vplyvu soley vazhkykh metaliv [Formation of hydrogen sulfide by sulfur reducing bacteria under the influence of heavy metal salts]. Visnyk of L'viv University. Biological Series, 61, 154–165 (in Ukrainian).
- Moroz, O. M., Hnatysh, S. O., Bohoslavets, C. I., Yavorska, G. V., & Truchym, N. V. (2016). Vykorystannya bakteriyamy *Desulfuromonas* sp. yoniv ferumu (III) i manhanu (IV) yak akseptoriv elektroniv [Usage of ferum (III) and manganese (IV) ions as electron acceptors by bacteria of *Desulfuromonas* sp.]. Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, Ecology, 24(1), 87–95 (in Ukrainian).
- Moroz, O. M., Hnatysh, S. O., Bohoslavets, C. I., Hrytsun', T. M., & Borsukych, B. M. (2017). Vplyv kaliy bikhromatu na dysymilyatsiynе vidnovlennya yoniv sulfatu i nitratu bakteriyamy *Desulfovibrio* sp. [The influence of potassium dichromate on dissimilatory reduction of sulfate and nitrate ions by bacteria *Desulfovibrio* sp.]. Ecology and Noospherology, 28(1–2), 84–95 (in Ukrainian).
- Mustapha, M. U., & Halimoon, N. (2015). Screening and isolation of heavy metal tolerant bacteria in industrial effluent. Procedia Environmental Sciences, 30, 33–37.
- Peretiak, T., Gudz, S., & Halushka, A. (2009a). Vykorystannya metaliv yak kintsevykh akseptoriv elektroniv sulfatvidnovlyuvalnymy bakteriyamy [The use of metals as final electron acceptors by sulfate reducing bacteria]. Biologichni Studiyi, 3(3), 141–158 (in Ukrainian).
- Peretiak, T. B., Halushka, A. A., Gudz, S. P., & Hnatysh, S. O. (2009b). Svidotstvo pro deponuvannya asociatsii sulfatvidnovlyuvalnykh bakteriy Ya-11 (*Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 i *Pseudomonas* sp.) u Depozytariyi Instytutu Mikrobiolohiyi i Virusolohiyi im. D. K. Zabolotnoho NAN Ukrainy z nadannyam reyestratsiynoho nomeru IMV K-6 [Certificate of deposition of bacteria Ya-11 (*Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 and *Pseudomonas* sp.) association in the Depository of D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the NAS of Ukraine with appropriation of registration number IMV K-6] (in Ukrainian).
- Rabus, R., Venceslau, S. S., Wöhlbrand, L., Voordouw, G., Wall, J. D., & Pereira, I. A. C. (2015). A post-genomic view of the ecophysiology, catabolism and biotechnological relevance of sulphate-reducing prokaryotes. Chapter Two. Advances in Microbial Physiology, 66, 55–321.
- Richter, K., Schickberger, M., & Gescher, J. (2012). Dissimilatory reduction of extracellular electron acceptors in anaerobic respiration. Applied Environmental Microbiology, 78(4), 913–921.
- Roane, T. M. (1999). Lead resistance in two bacterial isolates from heavy metal-contaminated soils. Microbial Ecology, 37, 218–224.
- Saffarini, D. (2015). Metabolism of metals and metalloids by the sulfate-reducing bacteria. Bacteria-metal interactions. Springer International Publishing, Switzerland.
- Segin, T., Hnatysh, S., & Gorishniy, M. (2016). Protsesy lipoperoksydatsiyi u klytnakh *Chlorobium limicola* IMV K-8 za vplyvu Cu (II) sulfatu [Liperoxidation processes in *Chlorobium limicola* IMV K-8 cells under the influence of Cu (II) sulfate]. Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, Ecology, 24(1), 72–78 (in Ukrainian).
- Si, Y., Zou, Y., Liu, X., Si, X., & Mao, J. (2015). Mercury methylation coupled to iron reduction by dissimilatory iron-reducing bacteria. Chemosphere, 122, 206–212.
- Silver, S., & Walderhaug, M. (1995). Bacterial plasmid-mediated resistances to mercury, cadmium and copper. Toxicology of Metals. Biochemical Aspects. Springer, Berlin.
- Smimova, G. F., & Podgorsky, V. S. (2013). Vosstanovlenie hromatov *Pseudomonas* sp. sht. 10 v prisutstvii nekotorykh tjazholykh metallov i alternativnykh akseptorov jelektronov [Chromates reducing by *Pseudomonas* sp. str. 10 in presence of some heavy metals and alternative electron acceptors]. Mikrobiologichny Zhurnal, 75(4), 8–12 (in Russian).
- Soloz, M., & Stoyanov, J. (2003). Copper homeostasis in *Enterococcus hirae*. FEMS Microbiology Reviews, 27(2–3), 183–195.
- Tarabas, O., Moroz, O., Hnatysh, S., Yavorska, G., Zvir, G., & Kovalchuk, M. (2017). Ekolohe-trofichni hrupy mikroorhanizmv vody ozera Yavorivske [Ecological trophic groups of microorganisms of Yavorivske lake water]. Visnyk of L'viv University. Biological Series, 76, 166–178 (in Ukrainian).
- Vasylyv, O., Bilyy, O., Hnatysh, S., Kushkevych, I., & Getman, V. (2011). The changes of spectroscopic characteristics of sulfur reducing bacteria *Desulfuromonas acetoxidans* under the influence of different metal ions. Proceedings of SPIE, 8152, 81520B–1–7.
- Vasylyv, O., & Hnatysh, S. (2013). Vplyv spoluk perekhidnykh metaliv na aktyvnist superoksydydymutazy sirkovidnovlyuvalnykh bakteriy *Desulfuromonas acetoxidans* [Influence of transition metal compounds on the activity of superoxide dismutase of sulfur reducing bacteria *Desulfuromonas acetoxidans*]. Mikrobiologichny Zhurnal, 75(2), 37–44 (in Ukrainian).
- Viti, C., Marchi, E., Decorosi, F., & Giovannetti, L. (2014). Molecular mechanisms of Cr (VI) resistance in bacteria and fungi. FEMS Microbiology Reviews, 38(4), 633–659.
- Wang, Q., Ding, D., Hu, E., Yu, R., & Qiu, G. (2008). Removal of SO₄²⁻, uranium and other heavy metal ions from simulated solution by sulfate reducing bacteria. Transactions of Nonferrous Metals Society of China, 18(6), 1529–1532.
- Wang, W., Feng, Y., Tang, X., Li, H., Du, Z., Yi, A., & Zhang, X. (2015). Enhanced U(VI) bioreduction by alginate-immobilized uranium-reducing bacteria in the presence of carbon nanotubes and anthraquinone-2,6-disulfonate. Journal of Environmental Sciences, 31, 68–73.
- White, C., Sayer, J. A., & Gadd, G. M. (2000). Microbial solubilization and immobilization of toxic metals: Key biogeochemical processes for treatment of contamination. FEMS Microbiology Ecology, 33, 197–208.
- Wilkins, M. J., Callister, S. J., Miletto, M., Williams, K. H., Nicora, C. D., Lovley, D. R., Long, P. E., & Lipton, M. S. (2011). Development of a biomarker for *Geobacter* activity and strain composition; proteogenomic analysis of the citrate synthase protein during bioremediation of U (VI). Microbial Biotechnology, 4(1), 55–63.
- Winkelmann, G. (Ed). (2002). Microbial transport systems. Wiley-Vch, New York.
- Yavorska, G. V., Gudz, S. P., & Hnatysh, S. O. (2008). Promyslova mikrobiolohiya [Industrial microbiology]. Publishing Center of Ivan Franko National University of Lviv, Lviv (in Ukrainian).
- Zhuang, K., Ma, E., Lovley, D. R., & Mahadevan, R. (2012). The design of long-term effective uranium bioremediation strategy using a community metabolic model. Biotechnology and Bioengineering, 109(10), 2475–2483.