

УДК 576.854:551

Т. В. Васильєва, канд. біол. наук, ст. наук. співроб.,
В. О. Іваниця, д-р біол. наук, проф., завідувач кафедри,
Н. Ю. Васильєва, мол. наук. співроб., **Н. С. Бобрешова**, ст. наук.
співроб., **Н. Г. Юргелайтіс**, ст. наук. співроб.

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра мікробіології і вірусології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТІОНОВИХ БАКТЕРІЙ ПІВНІЧНО-ЗАХІДНОЇ ЧАСТИНИ ЧОРНОГО МОРЯ

З поверхневих вод північно-західної частини Чорного моря ізольовано тіонові бактерії, з'ясована їх чисельність і біологічні властивості. В результаті послідовних пересівань отримано 27 чистих культур, шість із них оцінено за 39 фенотиповими ознаками. Не відрізняючись за формою і розмірами, вивчені штами виявилися також близькими за основними фізіологічними властивостями: окиснюванням різних сполук сірки, діапазоном сумісних із життям температур і рН, стійкістю до сольових навантажень, здатністю без попередньої адаптації повністю переходити з автотрофного обміну на гетеротрофний. Разом з тим ізольовані штами відрізнялися різною швидкістю росту і окиснювання тиосульфату, яке проходило не до кінця, а з утворенням проміжних продуктів. Ізольовані з одного району, штами відрізнялися різною стійкістю до свинцю, цинку і кадмію. Вивчення морфології і основних фізіологічних властивостей дозволило віднести вивчені штами до представників роду *Thiobacillus* або, відповідно до сучасної класифікації, до роду *Halothibacillus*.

Ключові слова: Чорне море, тіонові бактерії, морфологія, фізіологічні властивості, екологічні особливості

Чорне море — унікальний морський басейн, який представляє собою найбільшу мікроміктичну водойму, водна товща якої розподілена на верхню (аеробну) і нижню (анаеробну, сірководневу) зони. Багато-річні мікробіологічні дослідження повною мірою характеризують мікробні ценози північно-західної частини Чорного моря; зміну їхньої чисельності і структури під впливом антропогенного забруднення. Основні зусилля мікробіологів були спрямовані на вивчення ролі гетеротрофних мікроорганізмів у морських біо-ценозах [1, 2]. Мікроорганізми метаболічного циклу сірки, у першу чергу тіонові бактерії, у морських водоймах, у тому числі в Чорному морі, досліджені дуже мало. Так, у монографії Ю. П. Зайцева і Б. Г. Олександрова "Black sea biological diversity Ukraine" про тіонові бактерії навіть не згадується [3]. Необхідно відзначити, що спроби виділення і вивчення тіонових бактерій у Чорному морі провадилися неодноразово. Бактерії цієї групи Б. Л. Ісаченко і А. Є. Крісс виявили у поверхневому шарі

мулу і, у деяких випадках, у товщі води [4, 5]. Ю. І. Сорокін на початку 1960-х років непрямим шляхом за зміною темної асиміляції CO_2 у присутності тіосульфату визначив активність тіонових бактерій, не виділяючи при цьому чистих культур, не визначаючи їхню чисельність і не вивчаючи видовий склад [6]. Про функціонування тіонових бактерій у поверхневих шарах води згадує В. О. Іваниця з співавторами [7]. За сучасних умов, що включають забруднення морського середовища сіркоутримуючими сполуками, появу сірководню в поверхневих шарах води, пошук родовищ нафти і газу в районі острова Зміїний, питання чисельності, розподілу і біологічної різноманітності тіонових бактерій заслуговують ретельного вивчення.

Мета цієї роботи — визначення чисельності тіонових бактерій у поверхневих водах північно-західної частини Чорного моря, вивчення їх морфології, основних фізіологічних властивостей та екологічних особливостей.

Матеріали і методи досліджень

Джерелом виділення тіонових бактерій були поверхневі (0,0–0,2 см) води північно-західної частини Чорного моря в районі острова Зміїний.

Живильні середовища. Для виділення тіонових бактерій використовували рідкі і агаризовані середовища Бейерінка ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$ — 5,0 г; NaHCO_3 — 1,0 г; Na_2HPO_4 — 0,2 г; MgCl_2 — 0,1 г; NH_4Cl — 0,1 г; $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — слідові кількості; дистильованої води до 1,0 л; рН 9,4); **Баалеруда** ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$ — 5,0 г; NH_4Cl — 0,5 г; MgCl_2 — 0,5 г; KH_2PO_4 — 2,0 г; NaHCO_3 — 1,0 г; KNO_3 — 2,0 г; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,01 г; дистильованої води до 1,0 л; рН 7,0), **Натансона** ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$ 5,0 — 10,0 г; NaCl — 30,0; MgCl_2 — 2,5 г; KNO_3 — 1,0 г; Na_2HPO_4 — 5,0 г; рН 6,5 — 7,0) і **Легена** ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$ — 5,0 г; KH_2PO_4 — 0,1 г; MgSO_4 — 0,5 г; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 0,15 г; KCl — 0,05 г; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ — 0,01 г; дистильованої води до 1,0 л; рН 4,0). Цих середовищ із широким діапазоном рН і різним мінеральним складом цілком достатньо для виділення тіонових бактерій [8, 9].

Чисельність тіонових бактерій визначали шляхом висіву 0,1 мл морської води (розведення 10^{-5} та 10^{-6}) на зазначені вище агаризовані середовища. Чашки з посівами інкубували в термостаті при 30 °С протягом 5–7 днів, після чого підраховували кількість вирослих колоній.

Первинні ізоляти отримували шляхом висіву морської води на рідкі середовища з різним мінеральним складом і значеннями рН. Збагачене клітинами середовище висівали на живильні середовища з тіосульфатом. Шляхом послідовних пересівань одержували чисті культури.

Морфологію і фізіологію ізольованих тіонових бактерій вивчали, керуючись визначником Бергі та іншими оригінальними роботами

[10–12]. У мікроскопічно і морфологічно чистих культур визначали: забарвлення за Грамом; рухливість; діапазон та оптимальні значення температури і рН; ріст у присутності органічних сполук; використання різних сполук сірки у якості джерела енергії; нітратне дихання; галотолерантність; резистентність до важких металів.

Температура і рН. Для визначення діапазону виживаності і оптимальних для розвитку тіонових бактерій значень температури і рН вирощування бактерій провадили в межах температур 15–50 °С і за значень рН від 3,5 до 9,4.

Органічні речовини. Здатність тіонових бактерій до міксотрофного і гетеротрофного росту провадили на середовищах з органічними цукрами (глюкоза, сахароза, маноза), спиртами (етанол, маніт, інозит), амінокислотами (валін, серин, аспарагін), а також дріжджовим екстрактом у концентраціях 0,03–0,3 %.

Джерела енергії. За джерела енергії використовували неорганічні (тіосульфат, технічна сірка, колоїдна сірка, диметилсульфоксид) і органічні ($C_{14}H_{13}N_3O_2S_2$, $C_{17}H_{17}N_3O_4S_2$, $C_{18}H_{20}N_3O_4S_2$) сполуки сірки.

Сольові навантаження. Вплив сольових навантажень визначали за здатністю тіонових бактерій до росту у присутності NaCl від 0,4 до 3,4 М.

Резистентність до важких металів. Резистентність ізольованих штамів до Cd^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} визначали в концентраційному діапазоні від 0,005 до 0,5 М. Вибір концентрацій обґрунтовували повідомленнями різних дослідників про стійкість тіонових бактерій до важких металів та концентраціями останніх в районі відбору проб води [1, 2, 13, 16].

Результати і їх обговорення

Характеристика району дослідження. Острів Зміїний розташований у північно-західній частині Чорного моря в 37,0 км на схід від Кілійської дельти ріки Дунай. Солоність води в акваторії острова Зміїний становить 12,0–13,0 ‰ навесні і 17,0–18,5 ‰ влітку. Абсолютні значення водневого показника поверхневих вод вивченого полігону перебувають в межах 8,4–8,5. Екосистема острова знаходиться під впливом річкового стоку, який у цьому районі становить 70,0 % від загального річкового стоку, що надходить у Чорне море. З річковими стоками до моря попадають промислові, сільськогосподарські і побутові стічні води, до складу яких входять вуглеводні нафти, важкі метали, пестициди. Велика кількість біогенних елементів і нітратів (від 0,5 до 27,0 мг/л), що надходять із річковим стоком, призводить до розвитку гіпоксійно-анаеробних умов. Концентрація кисню в мілководній північно-західній частині, яка перебуває під впливом річкового стоку, може знижуватися до 5,3 мг/л (88,0 % насичення), а в більш глибоких шарах — практично до аналітичного нуля. У поверхневому шарі (15,0–20,0 см) з'являється сірководень, концентрація якого сягає 1,36 мл/л [2]. У досліджуваному регіоні спостерігається підвищення концентрації важких металів: міді — до 0,38–0,85 мг/л;

марганцю — до 1,15 мг/л; свинцю — до 5,0 мг/л; кобальту та кадмію — до 0,85 й 0,4 мг/л відповідно [16].

Чисельність тіонових бактерій. Кількість тіонових бактерій на середовищі Бейерінка (рН 9,4) становила $2,5 \times 10^4$ колоній утворюючих одиниць в 1,0 мл (КУО/мл), на середовищах Натансона (рН 7,0) і Баалсруда (рН 7,0) — $7,8 \times 10^3$ КУО/мл і — $5,0 \times 10^3$ КУО/мл відповідно (рис. 1).

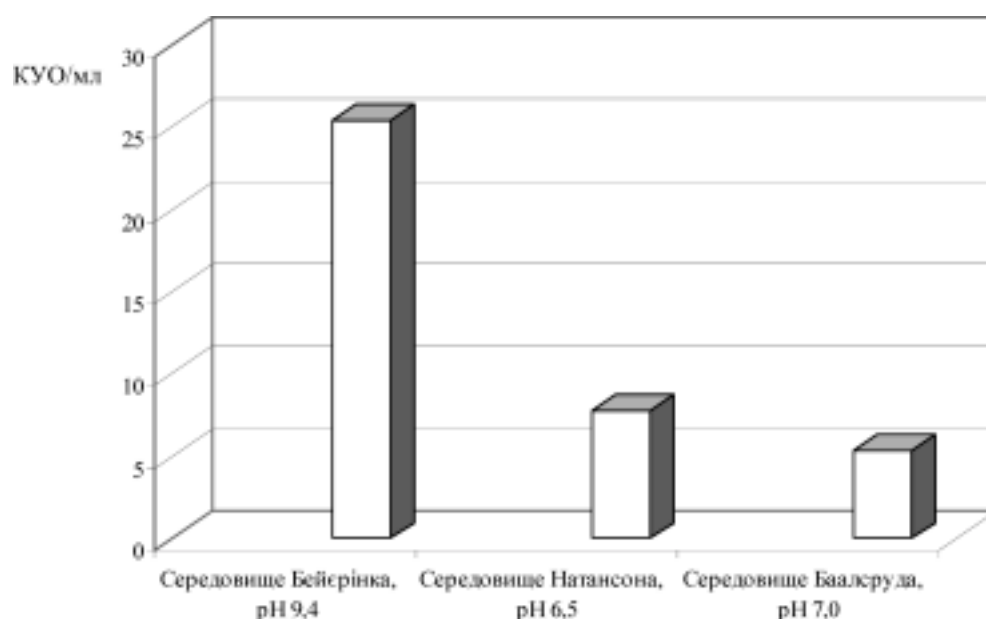


Рис. 1. Чисельність тіонових бактерій у поверхневих водах північно-західної частини Чорного моря

Виявлення тіонових бактерій при первинних посівах свідчить про наявність сполук сірки в досліджуваних водах і ефективне її окиснювання досліджуваними бактеріями. Чисельність і співвідношення тіонових бактерій свідчать про нейтральні значення рН поверхневих вод Чорного моря в районі відбору проб води, що узгоджується з наявними літературними даними [2]. Отримані дані носять пріоритетний характер, тому що в доступній літературі відомості про чисельність тіонових бактерій у поверхневих водах Чорного моря відсутні.

Морфологія тіонових бактерій. Методом послідовних пересівань ізольовано двадцять сім чистих культур тіонових бактерій. У шести з них — *Thiobacillus species* BS-4, *Thiobacillus species* BS-6B, *Thiobacillus species* BS-7A2, *Thiobacillus species* BS-7B, *Thiobacillus species* BS-8A і *Thiobacillus species* BS-8 — з'ясовано культуральні, морфологічні та фізіологічні властивості (табл. 1). Усі вивчені штами були представлені рухливими грам-негативними паличками: коротки-

Таблиця 1
Біологічні властивості тіонових бактерій поверхневих вод Чорного моря

Морфолого-фізіологічні властивості		Досліджувані штами					
		<i>Thiobacillus</i> species BS-4	<i>Thiobacillus</i> species BS-6B	<i>Thiobacillus</i> species BS-7A2	<i>Thiobacillus</i> species BS-7B	<i>Thiobacillus</i> species BS-8A	<i>Thiobacillus</i> species BS-8B
Морфологія	Форма клітин	Палички короткі товсті	Палички коковидні	Палички короткі тонкі	Палички коковидні	Палички короткі тонкі	Палички короткі тонкі
	Забарвлення за Грамом	“+”	“+”	“+”	“+”	“+”	“+”
	Рухливість	“+”	“+”	“+”	“+”	“+”	“+”
Утворення сірки на поверхні клітини		Глобули сірки на поверхні клітини	Глобули сірки на поверхні клітини	Глобули сірки на поверхні клітини	Глобули сірки на поверхні клітини	Глобули сірки на поверхні клітини	Глобули сірки на поверхні клітини
Форма колоній		Круглі опуклі блискучі з рівним краєм	Плоскі прозорі з ризойдним краєм	Круглі, опуклі, блискучі з рівним краєм	Круглі опуклі блискучі з рівним краєм	Кралевидні з металевим блиском	Круглі зернисті оливкового кольору
Значення рН	Діапазон рН	4,0 – 9,4	4,0 – 9,4	4,0 – 9,4	4,0 – 9,4	4,0 – 9,4	4,0 – 9,4
	Оптимальні значення	6,5-7,0	6,5-7,0	6,5-7,0	6,5-7,0	9,4	9,4
	Кінцеві значення	Немає даних	4,5	5,0	Немає даних	5,5	Немає даних
Температура, °С	Діапазон	14 - 37	14 - 37	14 - 37	14 - 37	14 - 37	14 - 37
	Оптимальні значення	30 - 32	30 - 32	30 - 32	30 - 32	30 - 32	30 - 32

Продовження таблиці 1

Морфолого-фізіологічні властивості	Досліджувані штами					
	<i>Thiobacillus</i> species BS-4	<i>Thiobacillus</i> species BS-6B	<i>Thiobacillus</i> species BS-7A2	<i>Thiobacillus</i> species BS-7B	<i>Thiobacillus</i> species BS-8A	<i>Thiobacillus</i> species BS-8B
Температура, °C	Сульфід	+	+	+	+	+
	Сульфат	+	+	+	+	+
Джерела енергії	Маноза	+	+	+	+	+
	Мальтоза	+	+	+	+	+
	Сахароза	+	+	+	+	+
	S ²⁺	+	+	+	+	+
Окиснення Na ₂ S ₂ O ₂ , %	Na ₂ S ₂ O ₂	+	+	+	+	+
	C ₂ H ₆ O S ₂	+	+	+	+	+
	C ₁₄ H ₁₃ N ₃ O ₂ S ₂	+	+	+	+	+
	C ₁₇ H ₁₇ N ₃ O ₄ S ₂	+	+	+	+	+
	C ₁₈ H ₂₀ N ₃ O ₄ S ₂	+	+	+	+	+
	Немає даних	Немає даних	75,0	Немає даних	45,00	Немає даних
Проміжні продукти	Тетрагіонат	Немає даних	+	+	Немає даних	Немає даних
	Сульфід	+	+	+	+	+
	Сульфат	+	+	+	+	+
Органічні речовини, 0,03 - 0,3 %						

Закінчення таблиці 1

Морфолого-фізіологічні властивості	Досліджувані штами					
	<i>Thiobacillus</i> species BS-4	<i>Thiobacillus</i> species BS-6B	<i>Thiobacillus</i> species BS-7A2	<i>Thiobacillus</i> species BS-7B	<i>Thiobacillus</i> species BS-8A	<i>Thiobacillus</i> species BS-8B
Цукри	Глюкоза	+	+	+	+	+
	Маноза	+	+	+	+	+
	Мальтоза	+	+	+	+	+
	Сахароза	+	+	+	+	+
Амінокислоти	Серін	+	+	+	+	+
	Валін	+	+	+	+	+
	Аспарагін	+	+	+	+	+
	Інозит	+	+	+	+	+
Спирти	Маніт	+	+	+	+	+
	Етанол	+	+	+	+	+
		+	+	+	+	+
Дріжджівий екстракт						
Нітратне дихання	До NO ₂	+	+	+	+	+
	До N ⁺	-	-	-	-	-
Стійкість до NaCl, %		15,0	15,0	15,0	20,0	17,0
		0,001	0,005	0,005	0,005	0,005
Резистентність до металів	МПК, Рь ²⁺ М	0,005	0,01	0,003	0,001	0,005
	МПК, Cd ²⁺ М	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01
	МПК, Zn ²⁺ М	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01

ми товстими (*Thiobacillus species* BS-4), дрібними тонкими (*Thiobacillus species* BS-7A2, *Thiobacillus species* BS-8A, *Thiobacillus species* BS-8B), коковидними (*Thiobacillus species* BS-6B, *Thiobacillus species* BS-7B).

Клітини розташовувалися поодиноці, попарно або утворювали невеликі ланцюжки. Деяко відрізняючись за формою й розмірами, вони формували колонії різних морфологічних типів: круглі, опуклі, блискучі з рівним краєм (*Thiobacillus species* BS-4, *Thiobacillus species* BS-7A и *Thiobacillus species* BS-7B); плоскі прозорі з ризоїдним краєм (*Thiobacillus species* BS-6B); круглі, зернисті, оливкового кольору (*Thiobacillus species* BS-8B); краплевидні з металевим блиском (*Thiobacillus species* BS-8A). При тривалому культивуванні клітини втрачали рухливість, у них з'являлися біполярні включення і глобули сірки на поверхні клітин. Поява глобул сірки є відмінною рисою тіонових бактерій, бо інші сіркоокиснюючі бактерії відкладають сірку не на поверхні, а всередині клітин. Зміна морфології стосувалася також і колоній: вони збільшувалися у розмірах, набували зернистої структури, оливкового або білого кольору.

Фізіологія тіонових бактерій. В основу систематики тіонових бактерій покладено їх фізіологічні властивості — окислювання різних сполук сірки, гетеротрофність, діапазон і оптимальні значення температури та рН, стійкість до сольових навантажень [10–12]. Морфолого-фізіологічні властивості морських тіонових бактерій недостатньо вивчені.

Температура та рН. Ізольовані штами, як і всі представники тіонових бактерій, росли в широкому діапазоні значень рН (табл. 2).

Таблиця 2

Ріст тіонових бактерій на різних середовищах

Середовища	рН	Досліджуваї штами, приріст біомаси, %					
		<i>T. species</i> BS - 4	<i>T. species</i> BS - 6B	<i>T. species</i> BS- 7A2	<i>T. species</i> BS- 7B	<i>T. species</i> BS -8A	<i>T. species</i> BS-8B
Натансона	7,0	640,0	533,0	755,0	500,0	180,0	400,0
Бейерінка	9,4	260,0	414,0	640,0	310,0	310,0	480,0
Летена	4,0	100,0	100,0	90,0	115,0	70,0	90,0

Оптимальним для більшості штамів було високомінералізоване середовище Натансона з нейтральними значеннями рН, яке рекомендоване для виділення і культивування морських тіонових бактерій [13, 14]. Виключенням були *T. species* BS-8A і *T. species* BS-8B, максимальний приріст біомаси яких реєстрували на середовищі Бейерінка (рН 9,4). На середовищі Летена (рН 4,0) ізольовані штами тільки зберігали життєздатність; приріст біомаси протягом усього строку культивування не реєстрували. Лише для *Thiobacillus species* BS-7B спостережено незначне — на 15,0 % — збільшення біомаси (табл. 2).

Вивчені бактерії росли і розмножувалися у діапазоні температур від 14 до 37 °С з оптимальними значеннями — 30–32 °С (табл. 1).

Нітратне дихання. Усі ізолювані з морських вод штами тіонових бактерій використовували кисень нітратів і відновлювали NO_3^+ до NO_2^+ , але не до газоподібного азоту. Здатність досліджуваних штамів до нітратного дихання, можливо, обумовлена зменшенням концентрації кисню у поверхневих водах Чорного моря і забрудненням цих вод різноманітними формами азоту [2, 7].

Відношення тіонових бактерій до органічних речовин. Вивчені штами росли як в автотрофних умовах, так і за можливості окиснення різних органічних речовин: компонентів 0,03–0,3 % дріжджового екстракту, амінокислот (серину, валіну, аспарагіну), цукрів (глюкози, сахарози, мальтози, манози), спиртів (інозиту, маніту, етанолу). Про можливе існування у тіонових бактерій метаболізму такого типу відомо давно [5, 11, 13].

Відношення до сольових навантажень. Усі бактерії росли при концентрації NaCl від 0,0 до 2,5 М. Виключення становили *Thiobacillus species* BS-8A і *Thiobacillus species* BS-7B, ріст яких спостерігали при 2,9 М і 3,4 М концентрації NaCl. Звичайно стійкість тіонових бактерій до NaCl пов'язують з солоністю водойм, у яких вони мешкають. Солоність води Чорного моря у місці відбору проб коливається від 12,0 до 17,0 ‰ (0,21–0,29 М) і звичайно відповідає 18,5 ‰ (0,32 М). У той же час Б. Л. Ісаченко описав штами тіонових бактерій, виділені ним з Чорного моря, які росли при концентрації NaCl, яка не перевершувала 0,0–1,4 М [5].

Джерела енергії. Тіонові бактерії залежно від видової належності використовують як джерело енергії елементарну сірку, тіосульфат, тетратіонат, сульфід металів, сірководень [10, 11, 13]. Ізолювані нами штами росли у присутності неорганічних (тіосульфат, елементарна сірка, диметилсульфоксид) і органічних (амінокислоти, $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_2$, $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2$, $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_{12}$ — ароматичні сіркоутримуючі речовини) сполук сірки.

Окиснювання тіосульфату. *T. species* BS-7A2, *T. species* BS-6B і *T. species* BS-8A на рідких середовищах Натансона активно росли та окиснювали тіосульфат. Збільшення біомаси *T. species* BS-7A2 у тридцять разів, *T. species* BS-6B — у п'ятнадцять разів і *T. species* BS-8A — у вісім разів супроводжувалося зниженням концентрації тіосульфату на 75,0, 55,0 і 45,0 % відповідно. При цьому, незалежно від кількості біомаси, окиснювання тіосульфату не доходило до кінця. Одночасно з його зменшенням у середовищі накопичувався тетратіонат і сульфід. Їхнє накопичування, очевидно, гальмує утворення сульфату і перешкоджає підкисленню середовища: в умовах наших експериментів рН знижувалася до 5,0–4,5. Отримані результати узгоджуються з літературними даними про неповне окиснення тіосульфату представниками факультативних тіонових бактерій [11, 13].

Резистентність до важких металів. Відмінною рисою тіонових бактерій є їх висока (на рівні 0,05–1,0 М) стійкість до важких металів. Різні автори це пояснюють поганою проникністю клітинної стінки для іонів металів, утворенням великої кількості слизу, що зв'язує та інак-

тивує метали, наявністю плазмід [11, 13, 17]. З іншого боку, резистентність до важких металів є еколого-фізіологічною ознакою водних мікроорганізмів, обумовленою адаптацією до хімічного забруднення [1, 2, 15]. Нами вивчений вплив Cd^{2+} , Pb^{2+} й Zn^{2+} у концентраціях 0,005–0,1 М на ріст морських тіонових бактерій. Концентрація зазначених металів у воді досліджуваного полігону становила 0,00005; 0,0001 та 0,0001 М, що перевищує гранично допустимі концентрації у 2–10 разів [15]. Ізольовані штами мали однакову стійкість до Pb^{2+} : мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) становила 0,005 М для всіх штамів, за винятком *Thiobacillus species* BS-4, МІК Pb^{2+} для якого відповідала 0,001 М. Мінімальні інгібуючі концентрації Cd^{2+} для *Thiobacillus species* BS-4, *Thiobacillus species* BS-8А и *Thiobacillus species* BS-8В становили 0,005 М. Максимальна стійкість до кадмію спостерігалася у *Thiobacillus species* BS-6В (0,01 М), а мінімальна — у *Thiobacillus species* BS-7В (0,001 М). *Thiobacillus species* BS-4, *Thiobacillus species* BS-7В і *Thiobacillus species* BS-8А зберігали здатність до росту при концентрації Zn^{2+} 0,01 М, а *Thiobacillus species* BS-6В, *Thiobacillus species* BS-7А і *Thiobacillus species* BS-8А — при 0,02 М.

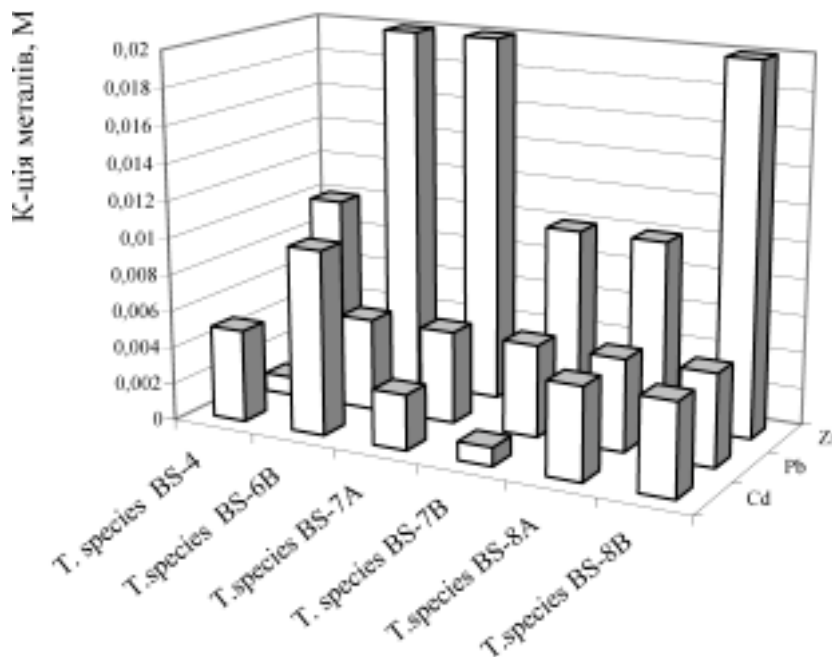


Рис. 2. Мінімальні інгібуючі концентрації важких металів для морських тіонових бактерій

Таким чином, порівняльний аналіз отриманих результатів показав, що ізольовані з одного району штами проявляли індивідуальну стійкість до зазначених металів (рис. 2).

Висновки

1. Визначена чисельність тіонових бактерій у поверхневих водах північно-західної частини Чорного моря; їх кількість перебувала в межах від $5,0 \times 10^3$ до $2,5 \times 10^4$ КУО/мл залежно від мінерального складу і значень рН використовуваних середовищ.
2. Ізольовані штами дещо відрізнялися за морфологією, але мали подібні фізіологічні ознаки: вони здатні рости на селективних середовищах з різними сполуками сірки, окиснювали тіосульфат не до кінця, а з утворенням проміжних продуктів, і могли без попередньої адаптації переходити від автотрофного до гетеротрофного способу існування.
3. Незважаючи на значну подібність, досліджувані штами відрізнялися швидкістю росту, оптимальними і граничними значеннями рН, інтенсивністю окиснення тіосульфату, рівнем галотолерантності і резистентності до важких металів.
4. За сукупністю фенотипових ознак ізольовані штами віднесені до галотолерантних факультативних представників роду *Thiobacillus* або, відповідно до сучасної класифікації, до роду *Haloithiobacillus*.

Література

1. Іваниця В. О. Стан та мінливість мікробних ценозів морських екосистем: Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук. — Київ, 1996. — 367 с.
2. Мединец В. И., Грузов Л. Н., Ковалева Н. В., Колосов В. А., Чичкин В. Н. Результаты исследования экосистемы Черного моря осенью 1990 года // Исследования экосистемы Черного моря. — Одесса: Ирэне-Полиграф, 1994. — С. 4–11.
3. Zaitsev Yu. P., Alexandrov B. G. Black Sea Biological Diversity Ukraine. — United Nations Publications, New York, 1998. — P. 15–19.
4. Крисс А. Е., Руккина Е. А. Восстановительные и окислительные процессы в сероводородной области Черного моря // Микробиология. — 1949. — Т. 18, вып. 5. — С. 47–51.
5. Исаченко Б. Л. Об очерченных задачах микробиологического изучения воды и грунтов морей // Избр. труды. — Т. 1. — М.: Изд-во АН СССР, 1951. — 457 с.
6. Сорокин Ю. И. Микрофлора грунтов Черного моря // Микробиология. — 1962. — Т. 31, вып. 5. — С. 315–317.
7. Іваниця В.А., Худченко Г.В., Панченко Н.Н., Бухтияров А.Е., Мединец В.И. Микробиологические исследования прибрежных вод Черного моря на участке от устья Дуная до устья Днепра // Исследования экосистемы Черного моря. — Одесса: Ирэне-Полиграф, 1994. — Вып 1. — С. 54–67.
8. Вайнштейн М. Б. К методикам учета тионовых бактерий // Микробиология. — 1981. — Т. 50, вып. 2. — С. 333–337.
9. Кузнецов С. И., Дубинина Г. А. Методы изучения водных микроорганизмов. — М: Наука, 1989. — С. 146–157.
10. Берги. Определитель бактерий: 1 т. / Пер. с англ. — М.: Мир, 1989. — С. 445–460.
11. Соколова Г. А., Каравайко Г. И. Физиология и геологическая деятельность тионовых бактерий. — М.: Наука, 1964. — 332 с.
12. Kelly D. P., Wood A. P. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Haloithiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. — 2000. — V. 50. — P. 511–516.
13. Заварзин Г. А. Литотрофные микроорганизмы. — М.: Наука, 1989. — 120 с.

14. *Harahuc l., Lizaama h. M., Suzuki i.* Selective inhibition of the oxidation of ferrous iron of sulfur in thibacillus ferrooxidans // *Appl. and Environmental Microbiology*. — 2000. — V. 66, № 3. — P. 1033–1037
15. *Ivanitsa V. A., Buchtiyarov A. Ye.* Resistance level to heavy metals of microbial coenoses of the Black Sea shoreface // *Вісник Одеського державного університету*. — 2000. — Т. 5, вип. 1. — С. 204–208.
16. *Мединец В. И., Колосов А. А., Колосов В. А.* Токсичные металлы в морской среде // *Исследование экосистемы Черного моря*. — Одесса: "Ирен-полиграф", 1994. — Вып. 1. — С. 47–53.
17. *Kondratyeva T. F., Muntjan L. N., Karavaiko G. I.* Zinc- and arsenic-resistant strains of *Thiobacillus ferrooxidans* have increased copy numbers of chromosomal resistance genes // *Microbiology (uk)*. — 1995. — V. 141, №. 5. — P. 1157–1162.

**Т. В. Васильева, В. А. Иваница, Н. Ю. Васильева, Н. С. Бобрешова,
Н. Г. Юргелайтис**

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра микробиологии и вирусологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТИОНОВЫХ БАКТЕРИЙ СЕВЕРО- ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ЧЕРНОГО МОРЯ

Резюме

Из поверхностных вод северо-западной части Черного моря изолированы тионовые бактерии, определена их численность и биологические свойства. В результате последовательных пересевов получено 27 чистых культур, шесть из них охарактеризованы по 39 фенотипическим признакам. Незначительно отличаясь по форме и размерам, изученные штаммы оказались близкими по физиологическим свойствам: способностью окислять различные соединения серы, по диапазону пригодных для жизни рН и температуры, устойчивости к солевым нагрузкам, способности без предварительной адаптации полностью переключаться с автотрофного обмена на гетеротрофный. Изученные штаммы характеризуются различной скоростью роста и окисления тиосульфата, которое проходило не до конца, а с образованием промежуточных продуктов. Штаммы, изолированные из одного района, обладали различной резистентностью к свинцу, цинку и кадмию. Изучение морфологии и основных физиологических свойств позволило отнести исследуемые штаммы к представителям рода *Thiobacillus* или, согласно современной классификации, к роду *Halothibacillus*.

Ключевые слова: Черное море, тионовые бактерии, морфология, физиологические свойства, экологические особенности.

**T. V. Vasilyeva, V. A. Ivanitsa, N. Yu. Vasilyeva, N. S. Bobreshova,
N. G. Jurgilajtis**

Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of microbiology and virology
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

BIOLOGICAL PROPERTIES OF GENUS *thiobacillus* IN THE NORTHWEST PART OF BLACK SEA

Summary

Thiobacillus were isolated from the surface waters of north-western part of the Black sea, their quantity and biological properties were determined. As a result of successful resouring 27 clean cultures were obtained, six from them were described according to 39 fenotypical signs. Being insignificantly different by from and sizes, the studied cultures appeared to be close to physiological properties: by ability to oxidize different sulphur combinations of by the range of suitable for existance pH and temperature, by stability to the salt loadings, by ability without preliminary adaptation to be fully commuted from the autophytic exchange to geterotrophic. The studied cultures are characterized by different speed of growth and oxidization of thiosulfata, which took place not to the end, by with formation of the intermediate products. The cultures isolated from one district possessed different resistance to the lead, zinc and cadmium. Studying of morphology and basic physiological properties has allowed to deliver the investigated cultures to the representatives of the Thiobacillus family or, according to the modern classification, to the Halothibacilluus family.

Keywords: Black sea, carbothionic bacteria, morphology, physiological properties, ecological features.