

УДК 579.846.23

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

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

## БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТІОНОВИХ БАКТЕРІЙ КУЯЛЬНИЦЬКОГО ЛИМАНУ

З води Куяльницького лиману ізольовані два штами сіркоокиснюючих бактерій. Штами охарактеризовані за 51 фенотиповою ознакою. Штами росли при концентрації NaCl від 0,0 до 2,6 М. Як джерело енергії штами використовували неорганічні та органічні сіркоутримуючі сполуки. Тіосульфат окиснювали не до кінця, а з утворенням тетратіонату та сульфіту. Істотною відмінністю від типових штамів була здатність ізольованих штамів без попередньої адаптації переходити від автотрофного до гетеротрофного обміну. Зміст ГЦ-пар основ ДНК 56,8 і 55,7 мол. % для *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13. Згідно отриманим результатам ізольовані штами запропоновано віднести до нового виду бактерій роду *Thiobacillus*, або, згідно з сучасною класифікацією, — до роду *Halothiobacillus*.

**Ключові слова:** сольові озера, Куяльницький лиман, тіонові бактерії, біологічні властивості, мінливість, галотолерантність.

Перше згадування про бактерії, що окиснюють сірководень у Чорному морі та Одеських лиманах, належить Н. Д. Зелінському [4]. Мікробіоту Куяльницького лиману в різні роки вивчали Л. І. Рубенчик, Д. Р. Гойхерман, О. С. Заславський [5–8]. Інтерес різних авторів до тіонових бактерій Куяльницького лиману в першу чергу пояснюється їх мінливістю у зв'язку з опрісненням даної водойми. Л. І. Рубенчик і Д. Р. Гойхерам показали, що після тривалого опріснення Куяльницького лиману, сольовий оптимум його тіонових бактерій знизився з 11,0–12,0 % до 5,0–6,0 % [6]. О. С. Заславський експериментально підтвердив теоретичне припущення про поступове зниження потреб у сольових навантаженнях тіонових бактерій Куяльницького лиману в зв'язку з його опрісненням. З Куяльницького лиману ним були виділені тіонові бактерії, що ростуть при концентрації NaCl від 0,7 до 26,0 %; оптимум NaCl для їх розвитку знаходився в межах 5,0–8,0 % [7, 8].

Метою представленої роботи є виділення, вивчення морфологічних, фізіологічних та генетичних властивостей тіонових бактерій, ізольованих з Куяльницького лиману.

### Об'єкти і методи досліджень

**Характеристика біотопу.** Куяльницький лиман входить у північну групу лиманів північно-західного Причорномор'я і представляє собою

унікальну водойму з лікувальною гряззю високої якості, формування якої обумовлене діяльністю бактерій, у тому числі і тіонових. Солоність води Куяльницького лиману та діапазон її мінливості не має собі рівних серед усіх інших водойм цього регіону. Однак, у зв'язку з цілим рядом причин, у першу чергу гідрометеорологічних, починаючи з 1931 р. Куяльницький лиман постійно опріснюється. У реально існуючих гідрохімічних умовах Куяльницького лиману, солоність води якого може змінюватися впродовж декількох років на 100,0 та більше проміле, різко змінюються і біотичні характеристики водойми [9, 10].

**Виділення чистих культур та умови культивування.** Тіонові бактерії зі штабовими номерами KU-11 і KU-13 були отримані методом накопичувальної культури на середовищі Натансона. Вихідним матеріалом для їх одержання була вода, відібрана в різних місцях Куяльницького лиману у літній період (солоність води — 280,0 ‰, температура води ~ 38 °С; рН — 7,2). Накопичувальну культуру інкубували в стаціонарних умовах 5–7 діб при температурі 30–32 °С. Про розвиток тіонових бактерій свідчила поява легкої муті, плівки, що створювали грамнегативні дрібні рухливі чи нерухомі паличкоподібні клітини. На розвиток досліджуваної групи бактерій вказувало також зниження значень рН. Збагачене клітинами середовище висівали на живильні середовища з тіосульфатом. Шляхом послідовних пересівань одержували чисті культури.

Морфологію клітин вивчали за допомогою світлового та електронного мікроскопів у різний термін культивування (24–48 годин і 7–10 днів); визначали форму, рухливість, відношення клітин бактерій до фарбування по Граму. Характер росту на агаризованих середовищах вивчали за допомогою бінокулярної лупи.

**Фізіологічні властивості.** Вплив температури на ріст ізольованих штамів визначали при їх культивуванні на середовищі Натансона в діапазоні температур від 4 до 50 °С.

З метою виявлення діапазону солоності, що допускає ріст бактерій, у середовище Натансона вводили NaCl у концентрації від 0,0 до 15,0 ‰ (0,0–2,6 М).

Для визначення росту тіонових бактерій за різних значень рН використовували середовища **Бейєринка** ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$  — 5,0 г;  $\text{NaHCO}_3$  — 1,0 г;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  — 0,2 г;  $\text{MgCl}_2$  — 0,1 г;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  — 0,1 г;  $\text{FeSO}_4$  — сліди; 1,0 л дистильованої води; рН 9,4); **Баалсруда** ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$  — 5,0 г;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  — 0,5 г;  $\text{MgCl}_2$  — 0,5 г;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 2,0 г;  $\text{NaHCO}_3$  — 1,0 г;  $\text{KNO}_3$  — 2,0 г;  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  — 0,01 г; 1,0 л дистильованої води; рН 7,0), **Натансона** ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$  — 5,0 г; NaCl — 30,0 г;  $\text{MgCl}_2$  — 2,0 г;  $\text{KNO}_3$  — 1,0 г;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  — 2,5 г; рН 6,5–7,0) і **Летена** ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$  — 5,0 г;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 0,1 г;  $\text{MgSO}_4$  — 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; 1,0 л дистильованої води; рН 4,0).

Для вивчення впливу органічних речовин на ріст тіонових бактерій до мінерального фону середовища Натансона додавали органічні цукри (глюкоза, сахароза, маноза, мальтоза, фруктоза), спирти (етанол, маніт, інозит), амінокислоти (валін, серін, аспарагін, метіонін, пролін), дріжджовий екстракт у концентраціях 0,03–0,3 ‰; також використовували МПА та пептон.

З'ясування спектра джерел енергії провадили у присутності неорганічних та органічних сполук сірки.

Приріст біомаси визначали за показником оптичної щільності на спектрофотометрі при  $\lambda = 540,0$  нм.

Окиснювання тіосульфату та утворення проміжних продуктів визначали стандартним іодометричним методом [11].

**Генетичні ознаки.** Виділення, очищення ДНК та визначення в ній вмісту ГЦ-пар провадили загальноприйнятим методом Мармура [12].

Визначення тіонових бактерій здійснювали, керуючись визначником Бергі та іншими оригінальними роботами [13–15].

## Результати та їх обговорення

Характеристика ізольованих штамів наведена у таблиці 1.

**Морфологія клітин, характер колоній.** *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 — короткі товсті "коковидні", рухливі (*Thiobacillus species* KU-13) і нерухомі (*Thiobacillus species* KU-11) грамнегативні палички. На агаризованих середовищах вони утворюють краплевидні блискучі (*Thiobacillus species* KU-11), чи плоскі прозорі неправильної форми (*Thiobacillus species* KU-13) колонії.

При довготривалому культивуванні форма клітин вивчених бактерій трохи змінювалася: палички збільшувались у розмірах, округлялися, у них появлялися біполярні включення і глобули сірки на поверхні. Треба зазначити, що зміни реєструвалися не тільки на рівні клітин, але й на рівні колоній — вони збільшувались у розмірах та здобували зернисту структуру.

**Фізіологічна характеристика. Використовувані джерела енергії.** Як джерело енергії усі досліджувані штами використовували технічну сірку,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ,  $\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$ ,  $\text{Na}_2\text{S}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KCNS}$ ,  $\text{CaS}$ ,  $\text{ZnS}$ . Вони також добре росли у присутності органічних сіркоутримуючих сполук —  $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_2$ ,  $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2$ ,  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2$ . Усі перераховані штами не окислювали  $\text{FeSO}_4$  (табл. 1).

**Відношення до органічних речовин.** На середовищах, що не містять як неорганічне джерело енергії тіосульфат, ріст *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 спостерігали за наявності в середовищі всіх органічних речовин, наведених у розділі "об'єкти і методи" (табл. 1).

*Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 були здатні використовувати кисень нітратів у якості кінцевого акцептора електронів та відновлювати нітрати до нітритів, але не до газоподібного азоту (табл. 1).

Для росту *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 необхідні мінімальні кількості азоту. Оптимальними джерелами азоту для вивчених штамів були амонійні солі —  $\text{NH}_4\text{Cl}$  і  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .  $\text{KNO}_3$  та  $\text{NaNO}_2$  пригнічували окиснювання тіосульфату, не впливаючи на ріст бактерій.

**Вплив температури та pH.** *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 розвивалися за нейтральних, слаболужних та кислих

Таблиця 1  
Біологічні властивості тіюнових бактерій — типових і ізольованих із води Куяльницького лиману

| Морфолого-фізіологічні властивості  |                                    | Вивчені штами                         |                                   | Типові штами *                                 |                                                 |                                                  |
|-------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
|                                     |                                    | <i>Thiobacillus species</i> KU-11     | <i>Thiobacillus species</i> KU-13 | <i>Halo thiobacillus halophilus</i> ATCC 49870 | <i>Halo thiobacillus neapolitanus</i> NCIB 8539 | <i>Halo thiobacillus hydrothermalis</i> DSM 7121 |
| Морфологія                          | Форма клітин                       | Палички короткі товсті, коковидні     | Палички короткі товсті, коковидні | Палички коковидні                              | Палички короткі тонкі                           | Палички короткі тонкі                            |
| Забарвлення за Грамом               |                                    | Грам негативні                        | Грам негативні                    | Грам негативні                                 | Грам негативні                                  | Грам негативні                                   |
| Рухливість                          |                                    | Рухливі                               | Нерухомі                          | Нерухомі                                       | Рухливі                                         | Нерухомі                                         |
| 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                |
| Форма колоній                       |                                    | Круглі опуклі блискучі з рівним краєм | Плоскі прозорі з ризоїдним краєм  | Круглі опуклі                                  | Круглі опуклі блискучі                          | Круглі опуклі                                    |
| Значення pH                         | Діапазон pH                        | 4,0 – 9,4                             | 4,0 – 9,4                         | 6,5-8,4                                        | 4,5-8,5                                         | 5,5-9,0                                          |
|                                     | Оптимальні значення pH             | 6,5-7,0                               | 6,5-7,0                           | 7,0-7,3                                        | 6,5-6,9                                         | 7,5-8,0                                          |
|                                     | Значення pH у кінці досліду        | 6,0                                   | 5,5                               | 5,5-6,0                                        | 2,8-3,3                                         | 4,5-5,0                                          |
| Температура, °C                     | Діапазон температур, °C            | 4,0 – 47,0                            | 4,0 – 47,0                        | 26,0-36,0                                      | 8,0-39,0                                        | 11,0-68,0                                        |
|                                     | Оптимальні значення температур, °C | 28,0-32,0                             | 28,0-32,0                         | 30,0-32,0                                      | 25,0-30,0                                       | 35,0-40,0                                        |

Продовження таблиці 1

| Морфолого-фізіологічні властивості                         | Вивчені штами                                                                  |                                   | Типові штами *                                 |                                                 |                                                  |
|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
|                                                            | <i>Thiobacillus species</i> KU-11                                              | <i>Thiobacillus species</i> KU-13 | <i>Halo thiobacillus halophilus</i> ATCC 49870 | <i>Halo thiobacillus neapolitanus</i> NCIB 8539 | <i>Halo thiobacillus hydrothermalis</i> DSM 7121 |
| Джерела енергії                                            | S <sup>2+</sup>                                                                | +                                 | +                                              | -                                               | +                                                |
|                                                            | Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>                                  | +                                 | +                                              | +                                               | +                                                |
|                                                            | C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O S                                              | +                                 | +                                              | -                                               | -                                                |
|                                                            | Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                                                | +                                 | +                                              | -                                               | -                                                |
|                                                            | K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                                                 | +                                 | +                                              | -                                               | -                                                |
|                                                            | Na <sub>2</sub> S                                                              | +                                 | +                                              | -                                               | -                                                |
|                                                            | KCNS                                                                           | +                                 | +                                              | -                                               | -                                                |
|                                                            | CaS                                                                            | +                                 | +                                              | -                                               | -                                                |
|                                                            | ZnS                                                                            | +                                 | +                                              | -                                               | -                                                |
|                                                            | C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>   | +                                 | +                                              | -                                               | -                                                |
|                                                            | FeSO <sub>4</sub>                                                              | -                                 | -                                              | -                                               | -                                                |
|                                                            | C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub>   | +                                 | +                                              | -                                               | -                                                |
| Окиснення Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>25</sub> % | C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S <sub>112</sub> | +                                 | +                                              | -                                               | -                                                |
|                                                            | 55,5                                                                           | 70,0                              | -                                              | -                                               | -                                                |
| Проміжні продукти                                          | Тетрагіонат                                                                    | +                                 | +                                              | -                                               | -                                                |
|                                                            | Сульфід                                                                        | +                                 | +                                              | -                                               | -                                                |
|                                                            | Сульфат                                                                        | +                                 | +                                              | +                                               | +                                                |
| Органічні речовини                                         | 0,03 - 0,3 %                                                                   |                                   |                                                |                                                 |                                                  |
|                                                            | Глюкоза                                                                        | +                                 | +                                              | -                                               | -                                                |
| Цукри                                                      | Маноза                                                                         | +                                 | +                                              | -                                               | -                                                |
|                                                            | Мальтоза                                                                       | +                                 | +                                              | -                                               | -                                                |
|                                                            | Сахароза                                                                       | -                                 | -                                              | -                                               | -                                                |
|                                                            | Фруктоза                                                                       | -                                 | -                                              | -                                               | -                                                |

Закінчення таблиці 1

| Морфолого-фізіологічні властивості |                                                 | Вивчені штами                     |                                   | Типові штами *                                 |                                                 |                                                  |
|------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
|                                    |                                                 | <i>Thiobacillus</i> species KU-11 | <i>Thiobacillus</i> species KU-13 | <i>Halo thiobacillus halophilus</i> ATCC 49870 | <i>Halo thiobacillus neapolitanus</i> NCIB 8539 | <i>Halo thiobacillus hydrothermalis</i> DSM 7121 |
| Аміно кислоти                      | Серін                                           | +                                 | +                                 | -                                              | -                                               | -                                                |
|                                    | Валін                                           | +                                 | +                                 | -                                              | -                                               | -                                                |
|                                    | Аспарагін                                       | +                                 | +                                 | -                                              | -                                               | -                                                |
|                                    | Метіонін                                        | +                                 | +                                 | -                                              | -                                               | -                                                |
|                                    | Пролін                                          | +                                 | +                                 | -                                              | -                                               | -                                                |
| Спирти                             | Інозит                                          | +                                 | +                                 | -                                              | -                                               | -                                                |
|                                    | Маніт,                                          | +                                 | +                                 | -                                              | -                                               | -                                                |
|                                    | Етанол                                          | +                                 | +                                 | -                                              | -                                               | -                                                |
| Дріжджевий екстракт                |                                                 | +                                 | +                                 | -                                              | -                                               | -                                                |
|                                    | МПА                                             | +                                 | +                                 | -                                              | -                                               | -                                                |
|                                    | Пептон                                          | +                                 | +                                 | +                                              | +                                               | +                                                |
| Джерела азоту                      | NH <sub>4</sub> Cl                              | +                                 | +                                 | +                                              | +                                               | +                                                |
|                                    | (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | +                                 | +                                 | +                                              | +                                               | +                                                |
|                                    | KNO <sub>3</sub>                                | +                                 | +                                 | +                                              | +                                               | +                                                |
|                                    | NaNO <sub>3</sub>                               | +                                 | +                                 | +                                              | +                                               | +                                                |
|                                    | До NO <sub>2</sub>                              | +                                 | +                                 | +                                              | +                                               | +                                                |
| Нітратне дихання                   | До N <sup>++</sup>                              | -                                 | -                                 | -                                              | -                                               | -                                                |
|                                    |                                                 |                                   |                                   |                                                |                                                 |                                                  |
| Стійкість до NaCl, %               |                                                 | 0,0 -15,0                         | 0,0 - 15,0                        | 0,0-4,0 М                                      | 3,0 %                                           | 0,0-2,0 М                                        |
| Вміст ГЦ-пар,%                     |                                                 | 56,8                              | 55,7                              | 64,2                                           | 52,0-57,0                                       | 67,1-67,4                                        |

Примітки: \* — облігатні автотрофи; "+" — є ріст; "-" — немає росту.

значень рН. Згідно з отриманими результатами оптимальним середовищем для росту *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 було високомінералізоване середовище Натансона (табл. 2).

Таблиця 2

**Приріст біомаси (%) тіонових бактерій на середовищах з різними значеннями рН**

| Досліджувані штами                | Середовища, рН    |                   |                   |                |
|-----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------|
|                                   | Бейерінка, рН 9,4 | Баалсруда, рН 7,0 | Натансона, рН 7,0 | Летена, рН 4,0 |
| <i>Thiobacillus species</i> KU-11 | 150,0             | 100,0             | <b>200,0</b>      | 150,0          |
| <i>Thiobacillus species</i> KU-13 | 130,0             | 140,0             | <b>230,0</b>      | 100,0          |

Ріст вивчених бактерій був можливий в інтервалі температур від 4 до 47 °С (табл. 1). Як і всі помірні мезофіли, штами повільно росли при температурі 4–15 °С. Гарний ріст реєстрували в інтервалі температур від 15 до 37 °С з оптимальними значеннями 28–32 °С. Ріст *Thiobacillus species* KU-13 і *Thiobacillus species* KU-11 припинявся лише за температури 50 °С.

**Окиснювання тіосульфату.** Криві автотрофного росту та окиснювання тіосульфату *Thiobacillus species* KU-13 протягом 17 діб представлені на рис. 1.

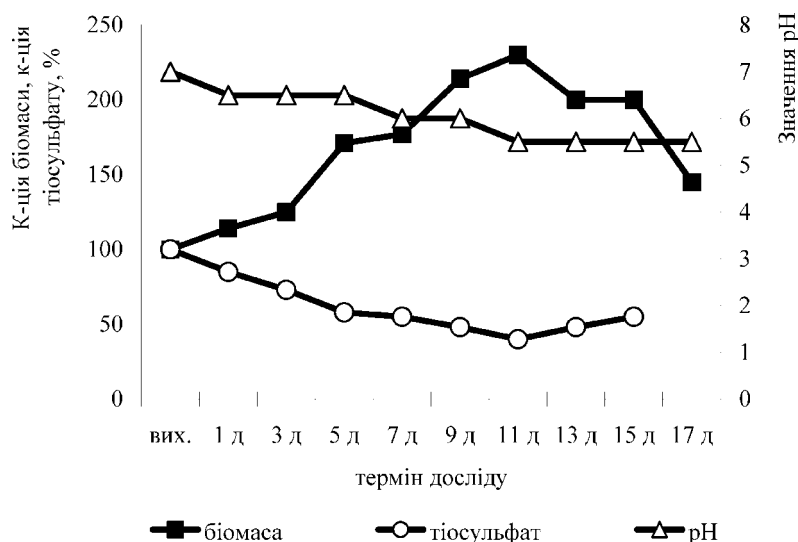


Рис. 1. Ріст, окиснювання тіосульфату та зниження значень рН *Thiobacillus species* KU-13

Окиснювання тіосульфату починалося відразу та продовжувалося протягом усього періоду активного росту бактерій. У кінці експерименту, після зникнення 70,0 % тіосульфату в культуральному середо-

вищі, були виявлені сульфід, сульфат і тетратіонат. Кінцеві значення рН — 5,5; це трохи вище, ніж у типових штамів, що очевидно, пов'язано з накопиченням сульфиту і тетратіонату.

**Аналіз ДНК бактерій.** Зміст ГЦ-пар у складі ДНК *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 — 56,8 і 55,7 мол. % відповідно. Необхідно зазначити, що величина вмісту ГЦ-пар у ДНК бактерій, вирощених у автотрофних та гетеротрофних умовах, не змінювалася, що підтверджує чистоту культури. Виявлені відмінності вмісту ГЦ-пар знаходяться у межах, допустимих геносистематикою бактерій для міжвидових розбіжностей. Отримані результати відповідають даним літератури, наведеним для бактерій роду *Thiobacillus* і, таким чином, підтверджують належність виділених штамів до цього роду, або, згідно з сучасними даними Kelly D. P., Wood A. P., — до представників роду *Halothiobacillus* [15].

Таким чином, приступаючи до вивчення тіонових бактерій Куяльницького лиману, необхідно було враховувати відсутність раніше виділених культур та орієнтуватися тільки на їхній опис О. С. Заславським. Крім того, потрібно було враховувати зміни природного стану лиману і, як наслідок, мінливість мікробіоти цієї водойми.

Проведені дослідження показали, що за морфологічними та фізіологічними ознаками штами *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 близькі до бактерій роду *Thiobacillus*, тобто є помірно-термофільними галотолерантними грамнегативними паличками, які використовують у якості джерел енергії різні сполуки сірки. Як і форми, описані О. С. Заславським, ізолювані штами були здатні до росту у присутності органічних речовин. "Сольолюбиві тіоновокислі бактерії" О. С. Заславського росли у діапазоні концентрацій NaCl від 0,25 до 26,0% [7, 8]. Діапазон солоності, за якого реєстрували ріст *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 був більш вузьким — 0,0–15,0 %.

Таким чином, не викликає сумніву, що отримані нами культури подібні тіоновим бактеріям, які описав О. С. Заславський, але, в зв'язку з опрісненням лиману, зменшився діапазон їх галотолерантності.

Ізолювані та досліджені штами тіонових бактерій зберігаються в колекції кафедри мікробіології і вірусології, що є філією Національної колекції мікроорганізмів України.

## Висновки

1. Фенотипова характеристика ізолюваних штамів у межах досліджуваних тестів близька до *Halothiobacillus neapolitanus* NCIB 8539, *Halothiobacillus halophilus* ATCC 49870 і *Halothiobacillus hydrothermalis* DSM 7121.

2. Основною відмінністю від типових та відомих штамів є здатність описаних штамів до переходу без попередньої адаптації від автотрофного до міксо- і гетеротрофного обміну.

3. *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 окиснюють більш широкий спектр сполук сірки у порівнянні з описаними типовими штамми.

4. *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 схожі за основними фізіологічними ознаками; вони відрізняються морфологією та швидкістю росту на середовищах різного мінерального складу та різних значень рН.

5. Виходячи з виявлених фенотипових властивостей, цілком допустимо виділити *Thiobacillus species* KU-11 і *Thiobacillus species* KU-13 в самостійні види роду *Thiobacillus*, або, спираючись на теперішні дані D. P. Kelly і A. P. Wood, — до представників роду *Halothiobacillus*.

## Література

1. Исаченко Б. Л. Микробиологические исследования над грязевыми озерами // Труды Геол. Комитета. — Новая серия. — 1927. — Вып. 143. — С. 109–113.
2. Иванов М. В. Роль микроорганизмов в образовании отложений серы в сероводородных источниках Сергиевских минеральных вод // Микробиология. — 1957. — Т. 26. — Вып. 3. — С. 75–78.
3. Вайнштейн М. Б. Распространение тионовых бактерий в озерах // Микробиологические и химические процессы деструкции органического вещества в водоемах. — Л.: Наука, 1979. — С. 115–127.
4. Зелинский Н. Д., Брусиловский Е. М. О сероводородном брожении в Черном море и Одесских лиманах // Южно-русская мед. газета. — 1893. — № 18–19.
5. Рубенчик Л. И. Микроорганизмы и микробиальные процессы в соляных водоемах УССР. — К.: Изд-во АН УССР, 1947. — 79 с.
6. Рубенчик Л. И., Гойхерман Д. Р. К микробиологии биоанізотропных соленых водоемов // Микробиология. — 1939. — Т. 8. — Вып. 5. — С. 83–85.
7. Заславский А. С. Об облигатно-галофильной бактерии лиманской грязи // Укр. Бальнеол. сб. — 1927. — Т. 2–3. — С. 74–85.
8. Заславский А. С. О солелюбивых тионовокислых бактериях соляных водоемов // Микробиология. — 1952. — Т. 21. — Вып. 1. — С. 31–35.
9. Лиманно-устьевые комплексы (ЛУК) Причерноморья: географические основы хозяйственного освоения. — Л.: Наука, 1988. — 304 с.
10. Розенгрум М. Ш. Гидрология и перспективы реконструкции природных ресурсов Одесских лиманов. — Киев: Наукова думка, 1974. — 224 с.
11. Унифицированные методы анализа вод / под общей ред. Ю. Ю. Лурье. — М.: Изд-во "Химия", 1971. — С. 177–202.
12. Marmur J. A procedure for isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms // J. Mol. Biol. — 1961. — 3. — P. 208–218.
13. Берги. Определитель бактерий: 1 т. / Под ред. Дж. Хоулта. Пер. с англ. — М.: Мир, 1989. — С. 445–460.
14. Заварзин Г. А. Литотрофные микроорганизмы. М.: Наука, 1971. — С. 86–94.
15. Kelly D. P., Wood A. P. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov., *Thermithiobacillus* gen. nov. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. — 2000. — 50. — P. 511–516.

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

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

## **БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТИОНОВЫХ БАКТЕРИЙ КУЯЛЬНИЦКОГО ЛИМАНА**

### **Резюме**

Из воды Куяльницкого лимана изолированы сероокисляющие бактерии, которые охарактеризованы по 51 фенотипическому признаку. Штаммы росли в диапазоне NaCl от 0,0 до 2,6 М. В качестве источника энергии штаммы использовали различные органические и неорганические соединения серы. Тиосульфат окисляли не до конца, а с образованием тетратионата и сульфита. Существенным отличием описанных штаммов от типовых является их способность без предварительной адаптации переходить от автотрофного к гетеротрофному обмену. Содержание ГЦ-пар в ДНК изученных штаммов составляет 56,8 и 55,7 мол. % для *Thiobacillus species* KU-11 и *Thiobacillus species* KU-13, соответственно. Согласно полученным результатам, изолированные штаммы предложено отнести к новым видам рода *Thiobacillus*, или согласно современной классификации, — к роду *Halothiobacillus*.

**Ключевые слова:** солевые озера, Куяльницкий лиман, тионовые бактерии, биологические свойства, изменчивость, галотолерантность.

**T. V. Vasyljeva, V. O. Ivanitsa, N. Yu. Vasyljeva, N. S. Bobreshova**

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

## **THE BIOLOGICAL PROPERTIES OF THE SULFUR-OXIDIZING BACTERIA OF THE KUYALNYTSKIY LIMAN**

### **Summary**

The sulfur-oxidizing bacteria were isolated from the water of the Kuyalnytskiy Liman and were characterized by 51 phenotypic properties. The cultures grew under NaCl in the range of 0–2.6 M. The cultures used organic and inorganic sulfur compounds as the energy source. Thiosulfate was oxidized with making tetrathionate and sulphite. The essential distinction of these cultures from typical ones is their ability to change autotrophic metabolism to mixotrophic and heterotrophic without any preliminary adaptation. The part of GC pairs of DNA of the studied cultures makes out 56.8 and 55.7 % for *Thiobacillus species* KU-11 and *Thiobacillus species* KU-13 correspondingly. These isolated cultures were suggested to relate to new species these isolated cultures were suggested to relate to new species of genus *Thiobacillus* or according to modern classification — to genus *Halothiobacillus*.

**Keywords:** the salty lakes, the Kuyalnytskiy Liman, carbothionic bacteria, biological properties, variability, halotolerance.