



УДК 579.68+579.266+546.3

## Використання бактеріями *Desulfuromonas sp.* іонів феруму (III) та мангану (IV) як акцепторів електронів

О.М. Мороз, С.О. Гнатуш, Х.І. Богославець, Г.В. Яворська, Н.В. Трухим

*Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, Україна*

Сірководновні бактерії роду *Desulfuromonas*, виділені з озера Яворівське, з різною інтенсивністю використовують  $\text{Fe}^{3+}$  і  $\text{Mn}^{4+}$  як кінцеві акцептори електронів у процесі анаеробного дихання за концентрацій 1,74–10,41 мМ  $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$  і  $\text{MnO}_2$  у середовищі. Це демонструє важливу роль цих мікроорганізмів у відновній детоксикації природних і техногенно трансформованих середовищ від окиснених форм перехідних важких металів. Найвищу біомасу бактерії нагромаджують за росту у середовищі з найнижчою концентрацією феруму (III) цитрату і мангану (IV) оксиду – 1,74 мМ (до 2,77 і 1,35 г/л відповідно), і найнижчу – з найвищою – 10,41 мМ (до 2,41 і 1,15 г/л відповідно), що можна пояснити токсичним впливом сполук металів на клітини бактерій. Виявлено майже вдвічі нижчий вихід біомаси за використання бактеріями мангану (IV) оксиду, порівняно з використанням ними феруму (III) цитрату та фумарату за всіх досліджених концентрацій акцепторів електронів у середовищі. Найбільшу біомасу під час росту в середовищі з різним умістом  $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$  і  $\text{MnO}_2$  нагромаджував штам *Desulfuromonas sp. Yavor-7*, порівняно з іншими виділеними нами штамми. За 10 діб культивування бактерії всіх штамів повністю відновили наявні у середовищі іони феруму (III), але не відновили наявних у середовищі іонів мангану (IV). Оскільки штамми сірководновних бактерій виявилися стійкими до високих концентрацій  $\text{Fe}^{3+}$  і  $\text{Mn}^{4+}$  (до 10,41 мМ), вони можуть бути успішно використані у технологіях ремедіації довкілля від сполук сульфору та важких металів.

*Ключові слова:* сірководновні бактерії; анаеробне дихання; важкі метали

## Usage of ferrum (III) and manganese (IV) ions as electron acceptors by *Desulfuromonas sp. bacteria*

O.M. Moroz, S.O. Hnatysh, C.I. Bohoslavets, G.V. Yavorska, N.V. Truchym

*Ivan Franko National University of Lviv, Lviv, Ukraine*

The toxicity of metal ions to microorganisms, in particular at high concentrations, is one of the main impediments to their usage in remediation technologies. The purpose of this work is to analyze the possibility of usage by bacteria of the *Desulfuromonas* genus, isolated by us from Yavorivske Lake, of ferrum (III) and manganese (IV) ions at concentrations in the medium of 1.74–10.41 mM as electron acceptors of anaerobic respiration to assess resistance of sulphur reducing bacteria strains to heavy metal compounds. Cells of *Desulfuromonas acetoxidans* IMV V-7384, *Desulfuromonas sp. Yavor-5* and *Desulfuromonas sp. Yavor-7* were cultivated for 10 days at 30 °C under anaerobic conditions in Kravtsov-Sorokin's medium without sulphate ions, sulphur, with cysteine as the sulphur source (0.2 g/l) and sodium lactate or citrate as the electron donor (17.86 g/l), in which were added sterile 1 M solutions of  $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$  and  $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$  (control) and also weights of  $\text{MnO}_2$  to their terminal concentrations 1.74, 3.47, 5.21, 6.94, 10.41 mM. Biomass was determined by the turbidimetric method. In the culture liquid the presence of  $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{Mn}^{4+}$  were qualitatively determined, and the content of  $\text{Fe}^{2+}$  in reaction with o-phenanthroline was determined quantitatively. It was established that sulphur reducing bacteria used with different intensity ferrum (III) and manganese (IV) ions as electron acceptors during the process of anaerobic respiration at concentrations of 1.74–10.41 mM  $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$  and  $\text{MnO}_2$  in the medium, which demonstrated the important role of the investigated microorganisms in reductive detoxication of natural and technogenic media from oxidized forms of transitional heavy metals. An insignificant difference in biomass accumulation during usage of 5.21–10.41 mM ferrum (III) ions and fumarate is caused by toxicity of the metal ions to cells since the high redox potential of the Fe(III)/Fe(II) pair with increase in concentrations of electron acceptors in the medium did not lead to increase in the biomass accumulation level. The greatest biomass of the bacteria accumulated on the 8–10th days in the medium with the lowest concentration of  $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$  – 1.74 mM (up to 2.77 g/l), and the lowest biomass – with highest concentration – 10.41 mM (up to 2.41 g/l). After 10 days of cultivation the

bacteria of all strains had fully used the ferrum (III) ions present in the medium. A biomass yield almost twice as low was revealed after manganese (IV) oxide was used by bacteria compared with its use of ferrum (III) citrate and fumarate at all studied concentrations of electron acceptors in the medium. The highest biomass of bacteria accumulated in the medium with the lowest  $\text{MnO}_2$  content – 1.74 mM (up to 1.35 g/l), and the lowest biomass in the medium with the highest content – 10.41 mM (up to 1.15 g/l). After 10 days of cultivation bacteria of all strains had not fully restored the manganese (IV) ions present in the medium. The greatest biomass compared with other strains after growth in medium with different  $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$  and  $\text{MnO}_2$  contents was accumulated by the strain *Desulfuromonas sp.* Yavor-7. Since sulphur reducing bacteria strains proved to be resistant to  $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{Mn}^{4+}$  high concentrations (up to 10.41 mM) they can be successfully used in technologies of environmental remediation from sulphur and heavy metal compounds.

**Keywords:** sulphur reducing bacteria; anaerobic respiration; heavy metals

## Вступ

У процесі анаеробного дихання мікроорганізми можуть окиснювати органічні сполуки з використанням замість кисню акцепторів електронів з високим ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{4+}$ , фумарат, диметилсульфоксид, оксиди нітрогену) або низьким (елементна сірка,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ) окисно-відновним потенціалом (Lengeler et al., 2005; Richter et al., 2012; Gralnick, 2012; Gescher and Kappler, 2013; Tsvetkova et al., 2016). Пара  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  має дуже високий окисно-відновний потенціал ( $E_0' = +770$  мВ), близький до потенціалу  $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$  ( $E_0' = +820$  мВ), але використання мікроорганізмами сполук феруму (III) сповільнене через їх слабку розчинність за нейтральної реакції середовища (pH 7).

Розчинність  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  у воді дуже низька, вона залежить від кислотності середовища. За pH 7 концентрація  $\text{Fe}^{3+}$  сягає  $10^{-18}$  М. У ґрунті іони окисненого феруму перебувають у ще менш розчинних формах – у складі гематиту ( $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ), ферігидриту ( $5\text{Fe}_2\text{O}_3 \times 9\text{H}_2\text{O}$ ), гепиту ( $\alpha\text{-FeOOH}$ ), лепідокрокіту ( $\gamma\text{-FeOOH}$ ), гематиту ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), лимоніту ( $2\text{Fe}_2\text{O}_3 \times \text{H}_2\text{O}$ ), магнетиту ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) (Lovley, 2006; Gescher and Kappler, 2013). У *Geobacter metallireducens*, *G. sulfurreducens*, *Shewanella alga*, *Sh. putrefaciens*, *Citrobacter sp.*, *Geoglobus acetivorans* ріст залежить безпосередньо від відновлення іонів феруму (III) (Lovley, 1993; Lengeler et al., 2005; Lovley, 2006; Aklujkar et al., 2013; Mardanov et al., 2015; Liu et al., 2016). Структура та властивості компонентів ланцюга транспортування електронів і ферментів, які беруть участь у процесі дисиміляційного відновлення  $\text{Fe}^{3+}$ , упродовж останніх років інтенсивно вивчаються у зв'язку зі здатністю металовідновних бактерій у процесі анаеробного дихання вивільняти у середовище значну кількість електронів (Qian et al., 2011; Schicklberger et al., 2011; Tremblay et al., 2011; Richter et al., 2012; Aklujkar et al., 2013; Fonseca et al., 2013).

Завдяки екзоелектрогенним властивостям ці бактерії розглядають як можливі анодні біокатализатори у мікробних паливних елементах для отримання електричної енергії (Fitzgerald et al., 2013; Bilyu et al., 2014; Liu et al., 2016). Вважають, що мембранозв'язана редуктаза феруму зокрема у грамнегативних бактерій, повинна виступати назовні із зовнішнього боку мембрани, щоб відбувся її контакт із нерозчинною сполукою феруму (III). Тому іони відновленого феруму (II) утворюються поза клітиною (Lengeler et al., 2005; Richter et al., 2012). Клітини *Shewanella frigidimarina* містять велику кількість тетра- та декагемових цитохромів типу c, локалізованих між внутрішньою та зовнішньою мембранами та у периплазмі, через які електрони з цитоплазми від реакцій метаболізму сполук карбону передаються назовні клітини, де власне і відновлюються нерозчинні сполуки феруму (III) (Lovley, 2006; Fitzgerald et al., 2013). У сульфатвіднов-

них бактерій *Desulfovibrio vulgaris* цитохром  $c_3$  функціонує як  $\text{Fe}(\text{III})$ -редуктаза. У *Desulfuromonas acetoxidans* виявлено тригемовий цитохром  $c_7$ , близький за структурою до тетрагемового цитохрому  $c_3$  *D. vulgaris*, який є, можливо, металоредуктазою у цих бактерій (Roden and Lovley, 1993; Lovley, 2006).

Є дані про те, що і інші метали зі змінною валентністю (Cr (VI), Mn (IV), U (VI) Tc (VII), Pd (II), V (V), Mo (VI), Cu (II) тощо) можуть бути використані бактеріями як акцептори електронів у процесі анаеробного дихання (Tebo and Obratsova, 1998; Lovley, 2006; Cologgi et al., 2011; Wilkins et al., 2011; Smirnova and Podgorsky, 2013; Viti et al., 2014; Wang et al., 2015). Наприклад, багато бактерій можуть відновлювати манган (IV) у формі нерозчинного  $\text{MnO}_2$ , перетворюючи його на водорозчинний манган (II). За біохімічним механізмом і геохімічним значенням бактерійне відновлення  $\text{MnO}_2$  подібне до відновлення нерозчинних сполук феруму (III) (Lovley, 1995; Aklujkar et al., 2013). Відновлені форми елементів підлягають хімічному або біологічному окисненню. За впливу переважно мікроорганізмів окиснені форми металів можуть знову переходити у відновлені, що забезпечує їх міграцію в земній корі з наступним осадженням за окисних умов (Gescher and Kappler, 2013).

Сірко-, сульфат- та металовідновні бактерії займають схожі екологічні ніші, забезпечуючи різні ланки колообігу сульфору та металів у природі. Штами сірко- та сульфатвідновних бактерій, виділені з техногенно змінених територій як активні продуценти гідроген сульфід, привертають увагу біотехнологів як потенційні агенти очищення забруднених токсичними сполуками сульфору та важких металів середовищ, оскільки за взаємодії гідроген сульфід з іонами двовалентних металів утворюються їх нерозчинні сульфідні, і вони таким чином вилучаються із природного кругообігу елементів (Tebo, 1995; Wang et al., 2008; Gudz et al., 2011; Moroz, 2013; Kiran et al., 2016). Раніше ми встановили, що сірко- та сульфатвідновні бактерії, виділені з водойми Яворівського сіркового родовища, у процесі анаеробної деструкції органічних сполук використовують іони важких металів як акцептори електронів, перетворюючи їх на нетоксичні або менш токсичні для живих організмів форми (Moroz et al., 2012; Moroz et al., 2014). Токсичність іонів металів для мікроорганізмів (зокрема, за високих концентрацій) – одна з головних перешкод для їх застосування у ремедіаційних технологіях. Тому відбір виділених із техногенно змінених екоотопів адаптованих до забруднень штабів, здатних метаболізувати широкий спектр поллютантів, – 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 and Halimoon, 2015; Rabus et al., 2015; Si et al., 2015; Dey et

al., 2016; Kiran et al., 2016). Мета цієї статті – оцінити можливість використання бактеріями роду *Desulfuromonas*, виділеними з озера Яворівське, іонів феруму (III) та мангану (IV) за їх концентрацій у середовищі 1,74–10,41 мМ як акцепторів електронів анаеробного дихання для оцінки стійкості штамів сірководнових бактерій до сполук важких металів.

### Матеріал і методи досліджень

Досліджували вплив ферум (III) цитрату та манган (IV) оксиду на нагромадження біомаси штамми сірководнових бактерій *Desulfuromonas acetoxidans* IMB B-7384, *Desulfuromonas sp. Yavor-5* та *Desulfuromonas sp. Yavor-7*, виділеними з озера Яворівське. Штами ідентифіковані на основі вивчення морфологічних, культуральних і фізіологічних властивостей і зберігаються в колекції кафедри мікробіології Львівського національного університету імені Івана Франка (Gudz et al., 2013; Moroz et al., 2013).

Бактерії вирощували у середовищі Кравцова – Сорокіна (Karavajko et al., 1972; Gudz et al., 2014) без  $\text{FeCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  та без сульфат-іонів такого складу (г/л):  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$  – 0,84,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,5,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  – 0,16,  $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  – 0,1, натрій лактат ( $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{Na}$ ) – 2,0 або натрій цитрат ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3$ ) – 1,9, упродовж 10 діб за 30 °C та анаеробних умов у пробірках об'ємом 25 мл, доверху заповнених середовищем. Перед висівом у середовище вносили 0,05 мл стерильного розчину  $\text{Na}_2\text{S} \times 9\text{H}_2\text{O}$  (1%), для доведення рН середовища до 7,2 використовували стерильний 10 н розчин NaOH. Стерильні розчини фумарату ( $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$ ) – контроль, і  $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$  вносили у середовище за концентрації 3,47 мМ (3,47 мМ – концентрація іонів сульфату у стандартному середовищі Кравцова – Сорокіна). Нерозчинний у воді  $\text{MnO}_2$  вносили у пробірки, які стерилізували та використовували для експериментів у кількості, необхідній для отримання його концентрації в середовищі 3,47 мМ. Для дослідження впливу використання  $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$ ,  $\text{MnO}_2$  як акцепторів електронів на нагромадження бактеріями біомаси клітини висівали в середовище, до якого для задоволення асиміляційних потреб бактерій у сульфурі додавали цистеїн ( $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$ ) за концентрації 0,2 г/л (Lengeler et al., 2005). Клітини вносили в середовище в кількості 10 об'ємних % до початкової концентрації  $10^8$  КУО/мл (0,05 г/л).

Біомасу визначали турбідиметричним методом за мутністю суспензії клітин шляхом її фотометрування на фотоелектроколориметрі КФК-3 за довжини хвилі 340 нм у кюветі з оптичним шляхом 3 мм (Gudz et al., 2014).

Для дослідження впливу сполук важких металів на нагромадження бактеріями біомаси їх вирощували у середовищі без сульфат-іонів, сірки, із цистеїном як джерелом сульфуру (0,2 г/л) та натрій лактатом або цитратом як донором електронів (17,86 г/л), у яке додавали стерильні 1 М розчини  $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$  та фумарату (контроль), а також наважки  $\text{MnO}_2$  до їх кінцевих концентрацій 1,74, 3,47, 5,21, 6,94 та 10,41 мМ. Попередньо клітини вирощували у середовищі без іонів сульфату, без сірки, із цистеїном (0,2 г/л), фумаратом (3,47 мМ) та натрій лактатом (17,86 мМ) до середини експоненційної фази росту. На 2, 4, 6, 8 та 10-ту добу росту визначали біомасу. У

культуральній рідині якісно визначали наявність  $\text{Fe}^{3+}$  та  $\text{Mn}^{4+}$  (Kreshkov, 1961), кількісно – вміст  $\text{Fe}^{2+}$  за реакцією з о-фенантроліном (Harris, 2003).

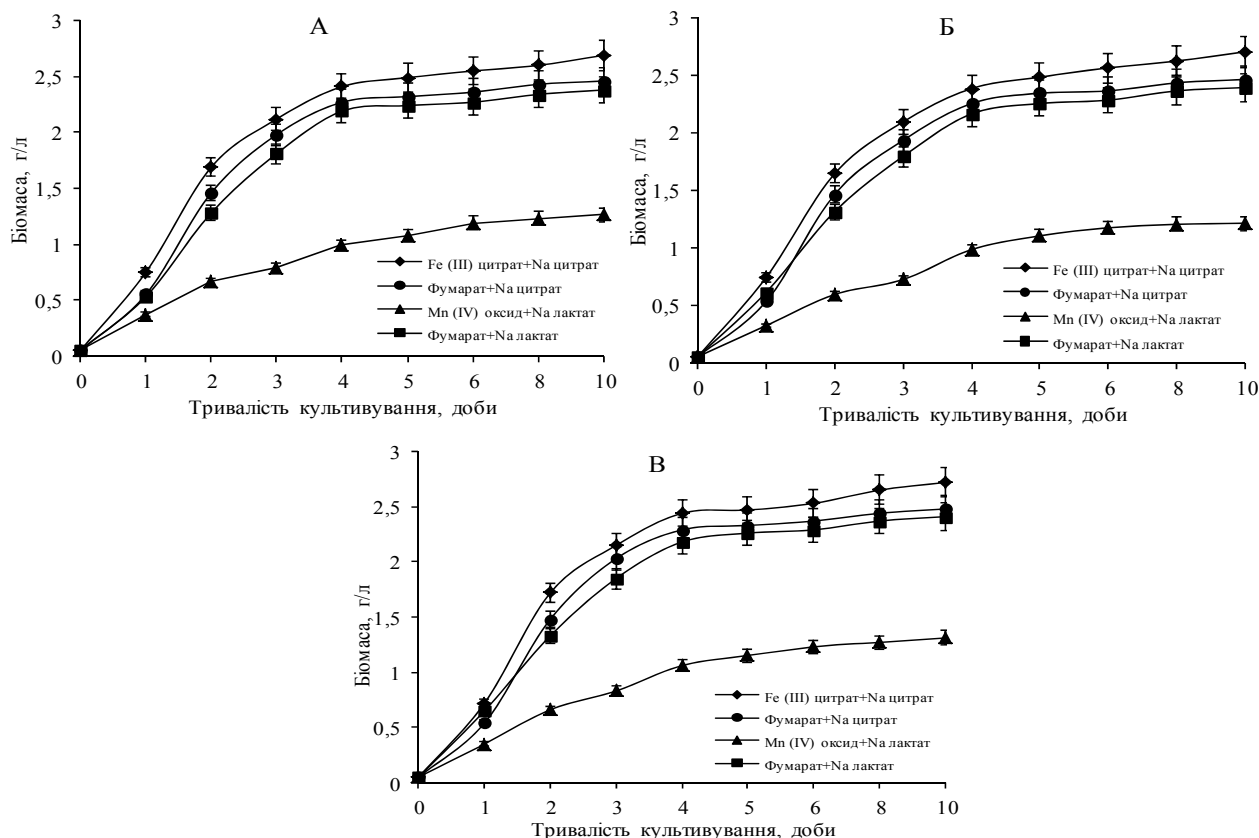
Досліди повторювали тричі з трьома паралельними постановками для кожного варіанта експериментальних і контрольних умов. Отримані дані опрацьовували загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обраховували t критерій Стьюдента. Достовірною вважали різницю за  $P < 0,05$ .

### Результати та їх обговорення

Сірководновні бактерії *D. acetoxidans* IMB B-7384, *Desulfuromonas sp. Yavor-5* та *Desulfuromonas sp. Yavor-7* вирощували 10 діб у середовищі Кравцова – Сорокіна без сульфат-іонів із натрій лактатом чи натрій цитратом (17,86 мМ), яке замість 3,47 мМ елементної сірки містило фумарат, Fe (III) цитрат або Mn (IV) оксид за цієї ж концентрації (рис. 1). Контрольним було середовище із фумаратом, який бактерії відновлюють до сукцинату у процесі фумаратного дихання за участі ланцюга транспортування електронів, до складу якого входять відповідні дегідрогенази та фумаратредуктаза, пов'язані між собою пулом цитохромів типу b і менахінонів (Lengeler et al., 2005). У середовищі з фумаратом не утворюється токсичний для клітин гідроген сульфід, а вихід біомаси майже такий, як і у середовищі з елементною сіркою. Найбільшу біомасу бактерії нагромаджували у середовищі із  $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$ : до 2,72 г/л, тоді як у середовищі із фумаратом і натрій цитратом – до 2,48 г/л. Можливо, незначна різниця у нагромадженні біомаси бактеріями за використання фумарату та тривалентного феруму зумовлена негативним впливом на клітини іона металу за концентрації 3,47 мМ, незважаючи на те, що окисно-відновний потенціал пари Fe (III)/Fe (II) ( $E_0' = +0,77$  В) значно вищий, ніж пари фумарат/сукцинат ( $E_0' = +0,03$  В). У середовищі з  $\text{MnO}_2$  біомаса була у 2,1–2,2 раза нижчою, ніж у середовищі із  $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$ , і не перевищувала 1,31 г/л, тоді як у середовищі із фумаратом і натрій лактатом біомаса досягала 2,41 г/л. Майже удвічі нижчий вихід біомаси у середовищі з Mn (IV) оксидом, ніж у середовищі із фумаратом, також можна пояснити високою токсичністю для клітин  $\text{MnO}_2$  за концентрації 3,47 мМ. За умов росту бактерій у середовищах із фумаратом, які містили натрій лактат або натрій цитрат як донори електронів, вихід біомаси, нагромадженої бактеріями всіх штамів, практично не відрізнявся. Найбільшу біомасу під час росту у середовищі зі всіма акцепторами електронів нагромаджував штам *Desulfuromonas sp. Yavor-7*. Таким чином, установлено, що *D. acetoxidans* IMB B-7384, *Desulfuromonas sp. Yavor-5* та *Desulfuromonas sp. Yavor-7* із різною інтенсивністю використовують іони феруму (III) та мангану (IV) як кінцеві акцептори електронів у процесі анаеробного дихання при окисненні органічних субстратів, що демонструє важливу роль цих мікроорганізмів у відновній детоксикації природних і техногенних середовищ від окиснених форм перехідних важких металів. Вихід біомаси після 10 діб росту бактерій усіх штамів у

середовищі із ферум (III) цитратом виявився незначно вищим, а у середовищі з манган (IV) оксидом – майже удвічі нижчим порівняно з виходом біомаси у середови-

щі із фумаратом у зв'язку з токсичністю для клітин  $C_6H_5O_7Fe$  і  $MnO_2$  за концентрації 3,47 мМ.



**Рис. 1.** Нагромадження біомаси *D. acetoxidans* IMB B-7384 (А), *Desulfuromonas sp. Yavor-5* (Б), *Desulfuromonas sp. Yavor-7* (В) під час росту у середовищі із  $C_6H_5O_7Fe$ ,  $MnO_2$  (3,47 мМ), цистеїном (0,2 г/л) і натрій лактатом або цитратом (17,86 мМ): контроль – середовище із фумаратом (3,47 мМ) як акцептором і натрій лактатом або цитратом (17,86 мМ) як донором електронів

Ефективність біологічних методів очищення довкілля від забруднювачів залежить не лише від метаболічної активності відібраних штамів бактерій, а й, у першу чергу, від їх стійкості до іонів металів. Тому досліджували вплив сполук феруму (III) та мангану (IV) за концентрацій, які у 0,5, 1 (контроль), 1,5, 2 та 3 рази відрізнялися від вмісту сульфат-іонів у стандартному середовищі Кравцова – Сорокіна, на нагромадження біомаси бактеріями *D. acetoxidans* IMB B-7384, *Desulfuromonas sp. Yavor-5* та *Desulfuromonas sp. Yavor-7*. Клітини вирощували у середовищах із натрій цитратом або лактатом як донорами електронів та джерелами карбону, до яких додавали різні об'єми стерильного розчину ферум (III) цитрату, а також наважки манган (IV) оксиду до їх кінцевих концентрацій 1,74, 3,47, 5,21, 6,94 та 10,41 мМ. Контрольними були середовища з натрій цитратом або лактатом, які містили фумарат як акцептор електронів за аналогічних концентрацій.

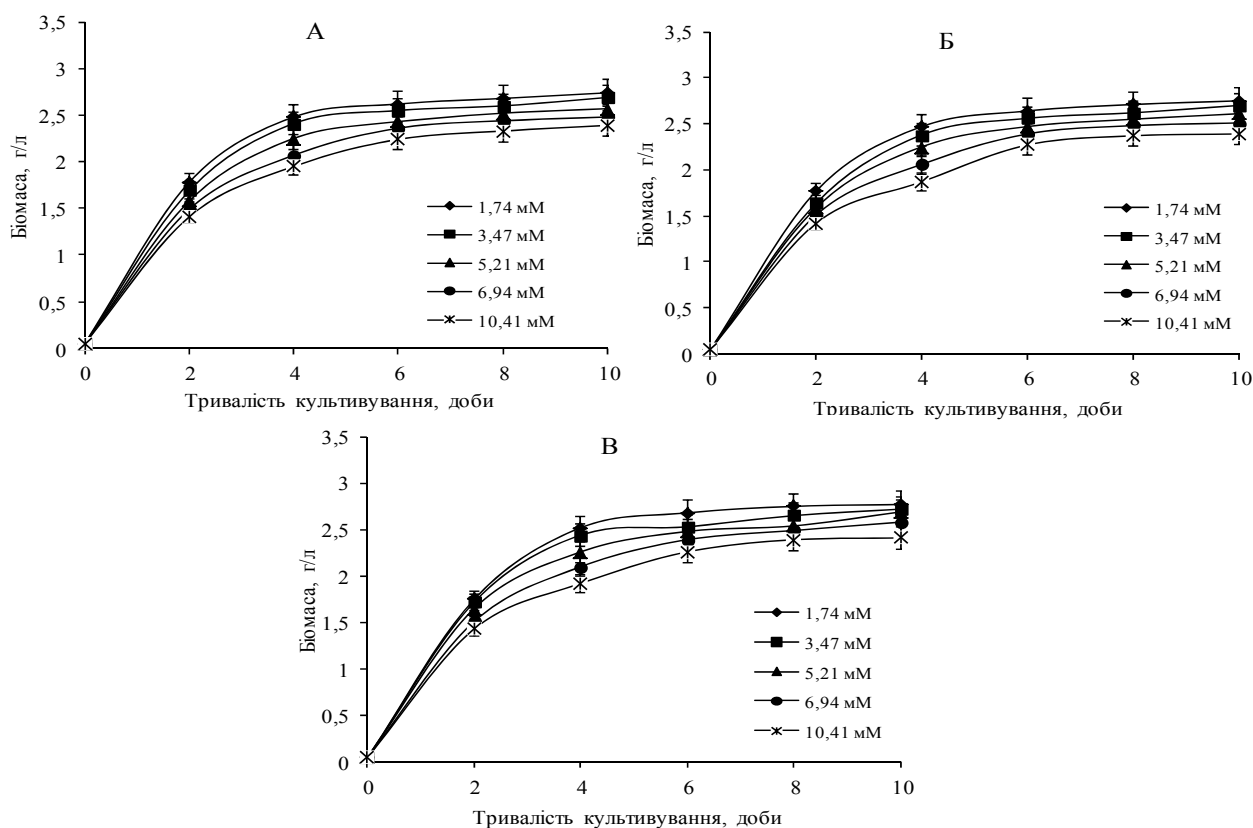
Зі зростанням концентрацій  $C_6H_5O_7Fe$  у середовищі культивування виявлено зниження рівня нагромадження біомаси клітинами усіх штамів (рис. 2). Найбільшу біомасу бактерії нагромаджували на 8–10-ту добу у середовищі з найнижчою концентрацією іонів феруму (III) – 1,74 мМ (до 2,77 г/л), найменшу – з найвищою – 10,41 мМ (до 2,41 г/л). Це можна пояснити токсичним впливом іона металу на клітини бактерій. За наявності у середовищі

ферум (III) цитрату за концентрацій 1,74 та 3,47 мМ ріст бактерій виявився дещо інтенсивнішим, ніж у середовищі із фумаратом за ідентичних концентрацій (рис. 3). За наявності у середовищі 5,21–10,41 мМ ферум (III) цитрату біомаса, нагромаджена бактеріями, практично не відрізнялася від біомаси, нагромадженої бактеріями у середовищі із фумаратом за цих самих концентрацій. На відміну від росту бактерій у середовищі із  $C_6H_5O_7Fe$ , зі зростанням концентрацій фумарату у середовищі культивування з 1,74 до 3,47 мМ спостерігали зростання нагромадження біомаси бактерій усіх штамів (до 2,29 і 2,48 г/л відповідно), але найбільшу біомасу (до 2,60 г/л) бактерії нагромаджували у середовищі із фумаратом за концентрації 5,21 мМ. Із подальшим зростанням концентрацій фумарату у середовищі від 6,94 до 10,41 мМ біомаса знижувалася та не перевищувала 2,39 г/л, можливо, у зв'язку з лімітуванням росту бактерій іншими факторами середовища.

Упродовж перших 6–8 дб культивування у середовищі якісно виявляли іони тривалентного феруму, які повністю відновлювалися бактеріями на десяту добу й у середовищі їх не виявляли (табл. 1). Це, можливо, зумовлено переходом штамів у стаціонарну фазу росту, у якій сповільнені окисно-відновні процеси. Результати кількісного визначення вмісту іонів феруму (II) в культуральній рідині показали, що в середовищі з іонами феруму (III) як єдиним акцептором електронів тривалентний ферум

відновлюється бактеріями практично повністю, відносна кількість утвореного феруму (II) становить 98,6–100,0% (табл. 2). Нагромадження іонів феруму (II) у середовищі

свідчить про те, що детоксикація феруму (III) сірковідновними бактеріями відбувається шляхом його відновлення до менш токсичної форми.



**Рис. 2.** Нагромадження біомаси *D. acetoxidans* IMB B-7384 (А), *Desulfuromonas sp. Yavor-5* (Б), *Desulfuromonas sp. Yavor-7* (В) під час росту у середовищі із  $C_6H_5O_7Fe$  за різних концентрацій, цистеїном (0,2 г/л) і натрій цитратом (17,86 мМ)

Таким чином, сірковідновні бактерії використовують іони феруму (III) як акцептор електронів за концентрацій 1,74–10,41 мМ  $C_6H_5O_7Fe$  у середовищі. Незначна різниця в нагромадженні біомаси бактеріями за використання 5,21–10,41 мМ феруму (III) цитрату та фумарату зумовлена, очевидно, токсичністю для клітин іонів металу, оскільки високий окисно-відновний потенціал пари Fe (III)/Fe (II) зі зростанням концентрацій акцептора електронів у середовищі не забезпечував зростання рівня нагромадження біомаси. Навпаки, спостерігали його зниження. Найбільшу біомасу (до 2,77 г/л) бактерії штаму *Desulfuromonas sp. Yavor-7* нагромаджували у середовищі з 1,74 мМ  $C_6H_5O_7Fe$ . За 10 днів культивування бактерії всіх штамів повністю використали наявні у середовищі іони феруму (III).

Більшість мікроорганізмів, здатних відновлювати іони феруму (III), можуть також використовувати іони мангану (IV) та інших металів із змінною валентністю як акцептори електронів у процесі анаеробного дихання (Lovley, 2006; Aklujkar et al., 2013; Gescher and Kappler, 2013). Токсичний вплив  $MnO_2$  на сірковідновні бактерії виявлявся у зниженні інтенсивності їх росту за збільшення концентрації акцептора електронів у середовищі культивування від 1,74 до 10,41 мМ (рис. 4). Найбільшу біомасу бактерії нагромаджували у середовищі з найнижчим вмістом мангану (IV) оксиду – 1,74 мМ (до 1,35 г/л), і найменшу – із найвищим – 10,41 мМ (до 1,15 г/л). Закономірності росту

бактерій у середовищі із фумаратом і натрій лактатом чи натрій цитратом не відрізнялися, найвищу біомасу (до 2,54 г/л) бактерії також нагромаджували за концентрації фумарату у середовищі 5,21 мМ (рис. 5). Хоча окисно-відновний потенціал у пари Mn (IV)/Mn (II) ( $E_0' = +1,23$  В) вищий, ніж у пари Fe (III)/Fe (II) ( $E_0' = +0,77$  В), і значно вищий, ніж у пари фумарат/сукцинат ( $E_0' = +0,03$  В) (Lengeler et al., 2005), використання мангану (IV) оксиду мікроорганізмами виявилось дуже сповільненим. За наявності у середовищі  $MnO_2$  за концентрації 1,74 мМ біомаса бактерій була у 2,05 і 1,62 раза нижчою, ніж у середовищі із  $C_6H_5O_7Fe$  і фумаратом відповідно за цієї ж концентрації. Іони мангану (IV) виявляли у середовищі протягом усього часу культивування бактерій (табл. 3), що свідчить про неповне їх використання бактеріями у процесі росту, очевидно, у зв'язку з їх високою токсичністю для клітин за концентрацій 1,74–10,41 мМ, а також майже абсолютною нерозчинністю  $MnO_2$  за рН близьким до 7.

Сірковідновні бактерії використовують іони мангану (IV) як акцептор електронів у процесі анаеробного дихання за концентрацій 1,74–10,41 мМ  $MnO_2$  у середовищі. Виявлено майже вдвічі нижчий вихід біомаси за використання бактеріями мангану (IV) оксиду, порівняно з використанням ними феруму (III) цитрату та фумарату за всіх досліджених концентрацій акцепторів електронів у середовищі.

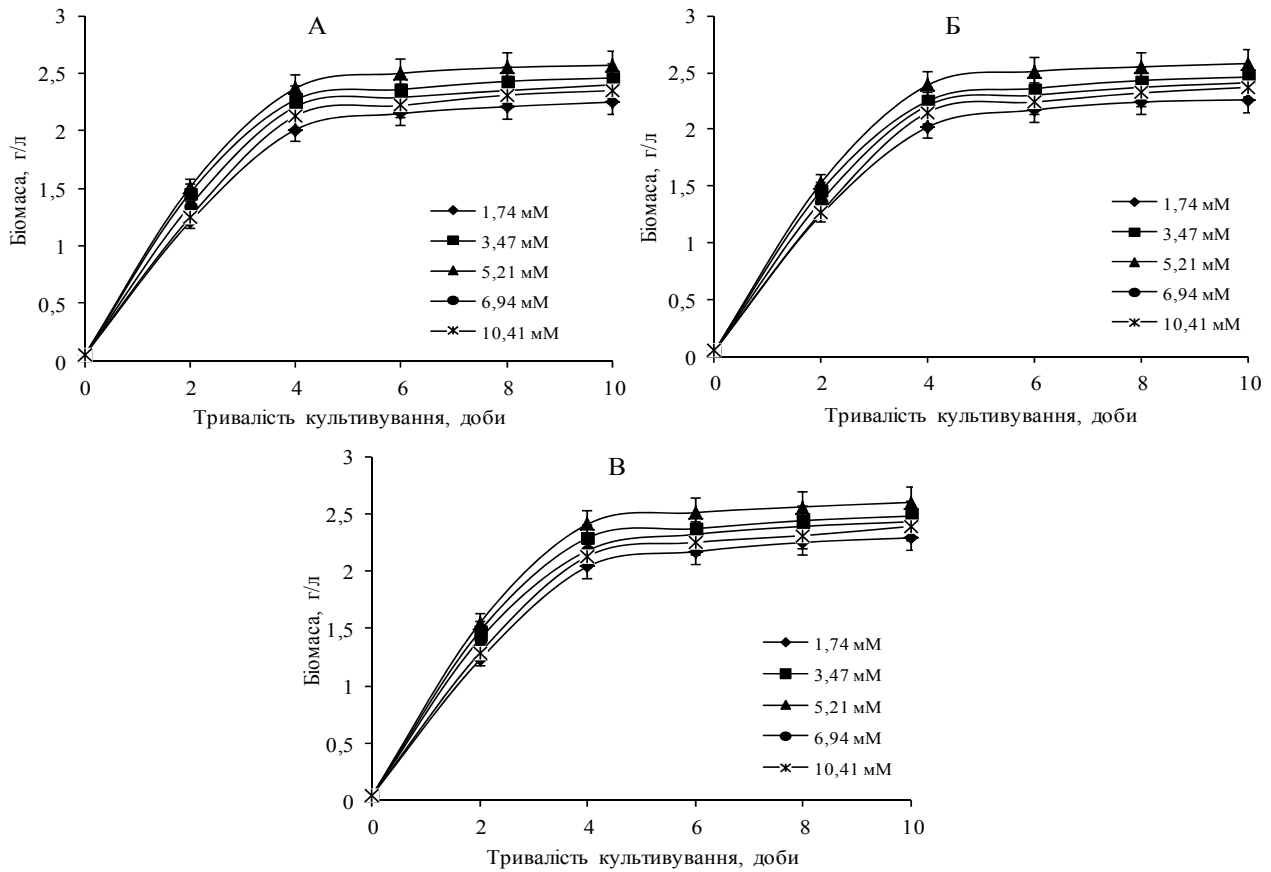


Рис. 3. Нагромадження біомаси *D. acetoxidans* IMB B-7384 (А), *Desulfuromonas* sp. Yavor-5 (Б), *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 (В) під час росту у середовищі із фумаратом за різних концентрацій, цистеїном (0,2 г/л) та натрій цитратом (17,86 мМ)

Таблиця 1

Відновлення  $Fe^{3+}$  бактеріями під час росту в середовищі із  $C_6H_5O_7Fe$ , цистеїном (0,2 г/л) та натрій цитратом (17,86 мМ)

Тривалість культивування, доба	Початкова концентрація $Fe^{3+}$ у середовищі, мМ				
	1,74	3,47	5,21	6,94	10,41
<i>D. acetoxidans</i> IMB B-7384					
0	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+
8	-	+	+	+	+
10	-	-	-	-	-
<i>Desulfuromonas</i> sp. Yavor-5					
0	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+
8	-	-	+	+	+
10	-	-	-	-	-
<i>Desulfuromonas</i> sp. Yavor-7					
0	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+
8	-	-	-	+	+
10	-	-	-	-	-

Примітки: "+" – наявність  $Fe^{3+}$  у середовищі; "-" – відсутність  $Fe^{3+}$  у середовищі.

Таблиця 2

Утворення  $Fe^{2+}$  бактеріями після 10 діб росту у середовищі із  $C_6H_5O_7Fe$  (3,47 мМ), цистеїном (0,2 г/л) і натрій цитратом (17,86 мМ)

Початкова концентрація $Fe^{3+}$ у середовищі, мМ	Концентрація $Fe^{2+}$ , мМ	$Fe^{2+}$ , %
<i>D. acetoxidans</i> IMB B-7384		
1,74	$1,73 \pm 0,03$	$99,4 \pm 0,1$
3,47	$3,42 \pm 0,02$	$98,6 \pm 0,3$
5,21	$5,17 \pm 0,04$	$99,3 \pm 0,2$
6,94	$6,88 \pm 0,05$	$99,1 \pm 0,4$
10,41	$10,34 \pm 0,03$	$99,3 \pm 0,2$
<i>Desulfuromonas</i> sp. Yavor-5		
1,74	$1,73 \pm 0,01$	$99,8 \pm 0,1$
3,47	$3,45 \pm 0,03$	$99,4 \pm 0,2$
5,21	$5,19 \pm 0,05$	$99,6 \pm 0,1$
6,94	$6,91 \pm 0,04$	$99,6 \pm 0,3$
10,41	$10,35 \pm 0,02$	$99,4 \pm 0,2$
<i>Desulfuromonas</i> sp. Yavor-7		
1,74	$1,74 \pm 0,01$	$100,0 \pm 0,4$
3,47	$3,46 \pm 0,02$	$99,7 \pm 0,2$
5,21	$5,20 \pm 0,04$	$99,8 \pm 0,2$
6,94	$6,93 \pm 0,03$	$99,9 \pm 0,1$
10,41	$10,38 \pm 0,02$	$99,7 \pm 0,3$

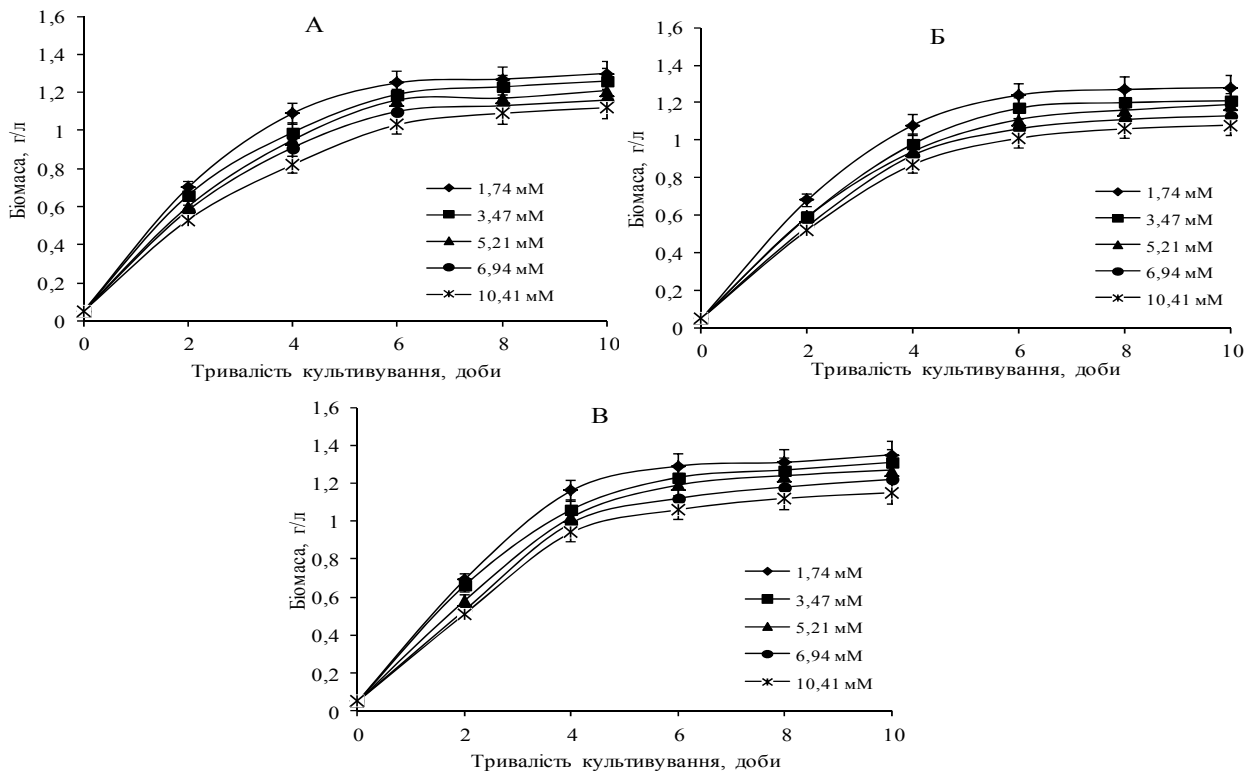


Рис. 4. Нагромадження біомаси *D. acetoxidans* IMB B-7384 (А), *Desulfuromonas* sp. Yavor-5 (Б), *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 (В) під час росту у середовищі з  $MnO_2$  за різних концентрацій, цистеїном (0,2 г/л) і натрій лактатом (17,86 мМ)

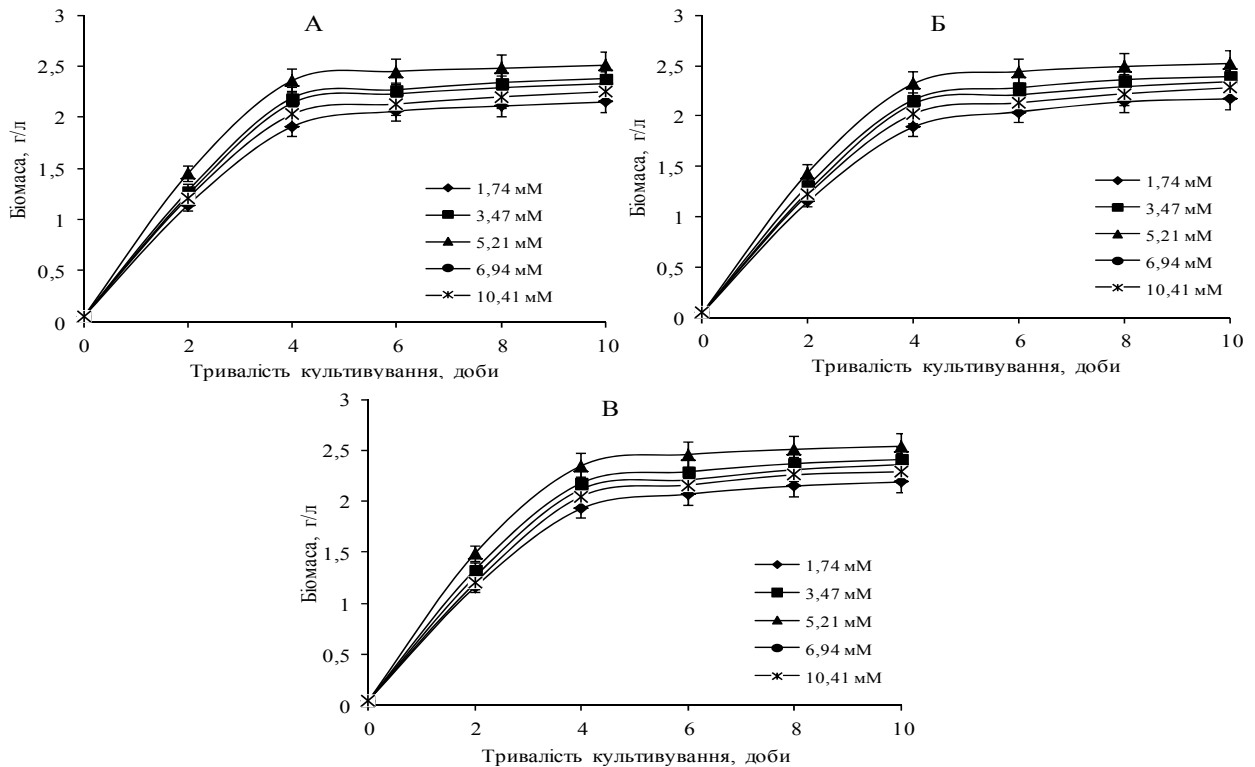


Рис. 5. Нагромадження біомаси *D. acetoxidans* IMB B-7384 (А), *Desulfuromonas* sp. Yavor-5 (Б), *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 (В) під час росту у середовищі з фумаратом за різних концентрацій, цистеїном (0,2 г/л) і натрій лактатом (17,86 мМ)

Найбільшу біомасу (до 1,35 г/л) бактерії штаму *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 нагромаджували у середовищі з 1,74 мМ  $MnO_2$ . За 10 днів культивування

бактерії всіх штамів повністю не відновили наявні у середовищі іони мангану (IV). Незважаючи на те, що відновлення у процесі анаеробного дихання розчинного у

воді ферум (III) цитрату та нерозчинного піролюзиту (манган (IV) оксиду) бактеріями роду *Desulfuromonas* відбувається з різною інтенсивністю, у донних відкладах відновлення сполук перехідних важких металів мікроорганізмами відіграє важливу роль у процесі окиснення органічних субстратів (Lovley, 2006; Richter et al., 2012; Gescher and Kappler, 2013).

Таблиця 3

**Відновлення  $Mn^{4+}$  бактеріями під час росту у середовищі з  $MnO_2$ , цистеїном (0,2 г/л) і натрій лактатом (17,86 мМ)**

Тривалість культивування, доби	Початкова концентрація $Mn^{4+}$ у середовищі, мМ				
	1,74	3,47	5,21	6,94	10,41
<i>D. acetoxidans</i> IMB B-7384					
0	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+
<i>Desulfuromonas</i> sp. Yavor-5					
0	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+
<i>Desulfuromonas</i> sp. Yavor-7					
0	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+

**Примітки:** “+” – наявність  $Mn^{4+}$  у середовищі; “-” – відсутність  $Mn^{4+}$  у середовищі.

Вивчення фізіолого-біохімічних властивостей штаму *Desulfuromonas* sp. Yavor-7, який нагромаджував найбільшу біомасу під час росту в середовищі з іонами феруму (III) та мангану (IV) за усіх концентрацій, порівняно з іншими штамами, уявляється найдоцільнішим для подальших досліджень із метою більш повного розкриття його біотехнологічного потенціалу.

## Висновки

Виділені з озера Яворівське штами сірковідновних бактерій використовують іони феруму (III) та мангану (IV) як акцептори електронів у процесі анаеробного дихання за концентрацій 1,74–10,41 мМ  $C_6H_5O_7Fe$  і  $MnO_2$  у середовищі. Стійкість до високих концентрацій досліджених сполук важких металів (до 10,41 мМ) забезпечує бактеріям здатність виживати в забруднених середовищах. Виділені штами можуть бути використані для розроблення технологій ремедіації довкілля від сполук сульфуру та важких металів.

## Бібліографічні посилання

Aklujkar, M., Coppi, M.V., Leang, C., Kim, B.C., Chavan, M.A., Perpetua, L.A., Giloteaux, L., Liu, A., Holmes, D.E., 2013. Pro-

- teins involved in electron transfer to Fe (III) and Mn (IV) oxides by *Geobacter sulfurreducens* and *Geobacter uraniireducens*. *Microbiology* 159(3), 515–535.
- 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. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 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.
- Fitzgerald, L.A., Petersenb, E.R., Leary, D.H., Nadeaud, L.J., Sotoe, C.M., Rayf, R.I., Littlef, B.J., Ringeisena, B.R., Johnson, G.R., Vorae, G.J., Biffingera, J.C., 2013. *Shewanella frigidimarina* microbial fuel cells and the influence of divalent cations on current output. *Biosens. Bioelectron.* 40(1), 102–109.
- Fonseca, B.M., Paquete, C.M., Neto, S.E., Pacheco, I., Soares, C.M., Louro, R.O., 2013. Mind the gap: Cytochrome interactions reveal electron pathways across the periplasm of *Shewanella oneidensis* MR-1. *Biochem. J.* 449(1), 101–108.
- Gescher, J., Kappler, A., 2013. *Microbial metal respiration: From geochemistry to potential applications*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Gralnick, J.A., 2012. On conducting electron traffic across the periplasm. *Biochim. Soc. Trans.* 40(6), 1178–1180.
- Gudz, S.P., Peretiakko, T.B., Moroz, O.M., Hnatysh, S.O., Klym, I.R., 2011. Rehulyuvannya rivnyia sul'fativ, sirkovodnyu ta vazhkykh metaliv u tekhnohennykh vodoymakh sulfatvidnovljuval'nymy bakterijamy [Regulation of sulfates, hydrogen sulfide and hard metals level in technogenic reservoirs by sulfate reducing bacteria]. *Microbiologichny Zhurnal* 73(2), 33–38 (in Ukrainian).
- Gudz, S.P., Hnatysh, S.O., Moroz, O.M., Peretiakko, 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 Ukrainyiny z nadannym 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.P., Hnatysh, S.O., Yavorska, G.V., Bilinska, I.S., Borsukevych, B.M., 2014. *Praktykum z mikrobiologii* [Workshop on microbiology]. Lviv. Nac. Univ. imeni Ivana Franka. Ser. Biol. Stud., Lviv (in Ukrainian).
- Harris, D.S., 2003. *Quantitative chemical analysis*. W.H. Freeman, New York.
- 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. *J. Biosci. Bioeng.* 117(3), 333–335.
- Karavajko, G.I., Kuznetsov, S.I., Golomzyk, A.I., 1972. Rol' mikroorganizmiv v vyshhelachyvanii metallov iz rud [The role of microorganisms in release of metals from minerals]. Nauka, Moscow (in Russian).
- Kiran, M.G., Pakshirajan, K., Das, G., 2016. Heavy metal removal from multicomponent system by sulfate reducing bacteria: Mechanism and cell surface characterization. *J. Hazard. Mater.* In press.
- Kreshkov, A.P., 1961. *Osnovy analytycheskoj himiy* [Basis of analytical chemistry]. Goshimizdat, Moscow (in Russian).
- Lengeler, J., Dreves, G., Schlegel, G., 2005. *Sovremennaja mikrobiologiya: Prokaryoty* [Modern Microbiology: Prokaryotes]. Mir, Moscow (in Russian).
- Limcharoensuk, T., Sooksawat, N., Sumarnrote, A., Awutpet, T., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., Auesukaree, C., 2015. Bioaccumulation and biosorption of  $Cd^{2+}$  and  $Zn^{2+}$  by bacteria iso-



- lated from a zinc mine in Thailand. *Ecotox. Environ. Safte.* 122, 322–330.
- Liu, L., Lee, D.-J., Wang, A., Ren, N., Su, A., Lai, J.-Y., 2016. Isolation of Fe (III)-reducing bacterium, *Citrobacter sp.* LAR-1, for startup of microbial fuel cell. *Int. J. Hydrogen Energ.* 41(7), 4498–4503.
- Lovley, D., 2006. Dissimilatory Fe (III)- and Mn (IV)-reducing prokaryotes. *The Prokaryotes*. Springer-Verlag, LLC, New York.
- Lovley, D.R., 1995. Microbial reduction of iron, manganese and other metals. *Adv. Agron.* 54, 175–231.
- Lovley, D.R., Giovannoni, S.J., White, D.C., Champine, J.E., Phillips, E.J. P., Gorby, Y.A., Goodwin, S., 1993. *Geobacter metallireducens* gen. nov. sp. nov., a microorganism capable of coupling the complete oxidation of organic compounds to the reduction of iron and other metals. *Arch. Microbiol.* 159, 336–344.
- Mardanov, A.V., Slododkina, G.B., Slobodkin, A.I., Beletsky, A.V., Gavrilov, S.N., Kublanov, I.V., Bonch-Osmolovskaya, E.A., Skryabin, K.G., Ravin, N.V., 2015. The *Geoglobus acetivorans* genome: Fe (III) reduction, acetate utilization, autotrophic growth, and degradation of aromatic compounds in a hyperthermophilic archaeon. *Appl. Environ. Microbiol.* 81(3), 1003–1012.
- Moroz, O., Gul', N., Galushka, A., Zvir, G., Borsukevych, B., 2014. Vykorystannya riznykh akceptoriv elektroniv bakterijamy *Desulfuromonas sp.*, vydilenyi z ozero Javorivs'ke [Different electron acceptors usage by bacteria of *Desulfuromonas sp.* isolated from Javorivske Lake]. *Visn. Lviv. Univ. Ser. Biol.* 65, 322–334 (in Ukrainian).
- Moroz, O.M., 2013. Utvorennja gidrogen sul'fidu sirkovidnovljuval'nykh bakterijamy za vplyvu solej vazhkykh metaliv [Hydrogen sulfide production by sulfur reducing bacteria under the influence of hard metals]. *Visn. Lviv. Univ. Ser. Biol.* 61, 154–165 (in Ukrainian).
- Moroz, O.M., Peretiatio, T.B., Klym, I.R., Borsukevych, B.M., Yavorska, G.V., Kulachkovsky, A.R., 2013. Sirkovidnovljuval'ni bakterii' ozero Javorivs'ke: Dejaki morfologichni, kul'tural'ni i fiziologichni osoblyvosti [Sulfur reducing bacteria from Javorivske Lake: Some morphological, cultural and physiological peculiarities]. *Nauk. Visn. Uzhgorod. Univ. Ser. Biol.* 35, 34–41 (in Ukrainian).
- Moroz, O.M., Yavorska, G.V., Muravel', N.O., Klym, I.R., 2012. Vidnovlennja ferumu (III) sulfatvidnovljuval'nykh i sirkovidnovljuval'nykh bakterijamy [Reduction of ferrum (III) by sulfate reducing and sulfur reducing bacteria]. *Studia Biologica* 6(2), 161–172 (in Ukrainian).
- Mustapha, M.U., Halimoon, N., 2015. Screening and isolation of heavy metal tolerant bacteria in industrial effluent. *Procedia Environ. Sci.* 30, 33–37.
- Qian, X., Mester, T., Morgado, L., Arakawa, T., Sharma, M.L., Inoue, K., Joseph, C., Salgueiro, C.A., Maroney, M.J., Lovley, D.R., 2011. Biochemical characterization of purified OmcS, a c-type cytochrome required for insoluble Fe (III) reduction in *Geobacter sulfurreducens*. *Biochim. Biophys. Acta* 1807(4), 404–412.
- 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 2. *Adv. Microb. Physiol.* 66, 55–321.
- Richter, K., Schicklberger, M., Gescher, J., 2012. Dissimilatory reduction of extracellular electron acceptors in anaerobic respiration. *Appl. Environ. Microbiol.* 78(4), 913–921.
- Roden, E.E., Lovley, D.R., 1993. Dissimilatory Fe (III) reduction by the marine microorganism *Desulfuromonas acetoxidans*. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 734–742.
- Schicklberger, M., Bucking, C., Schuetz, B., Heide, H., Gescher, J., 2011. Involvement of the *Shewanella oneidensis* decaheme cytochrome MtrA in the periplasmic stability of the beta-barrel protein MtrB. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 1520–1523.
- 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.
- Smirnova, G.F., Podgorsky, V.S., 2013. Vosstanovlenie hromatov *Pseudomonas sp.* sht. 10 v prisutstvii nekotorykh tzhzhjolykh metallov i al'ternativnykh akceptorov jelektronov [Chromates reducing by *Pseudomonas sp.* str. 10 in presence of some heavy metals and alternative electron acceptors]. *Microbiologichny Zhurnal* 75(4), 8–12 (in Russian).
- Tebo, B.M., 1995. Metal precipitation by marine bacteria: Potential for biotechnological applications. *Genetic engineering – principles and methods*. Plenum Press, New York.
- Tebo, B.M., Obratsova, A.Y., 1998. Sulfate-reducing bacterium grows with Cr (VI), U (VI), Mn (IV), and Fe (III) as electron acceptors. *FEMS Microbiol. Lett.* 162, 193–198.
- Tremblay, P.-L., Summers, Z.M., Glaven, R.H., Nevin, K.P., Zengler, K., Barrett, C.L., Qiu, Y., Palsson, B.O., Lovley, D.R., 2011. A c-type cytochrome and a transcriptional regulator responsible for enhanced extracellular electron transfer in *Geobacter sulfurreducens* revealed by adaptive evolution. *Environ. Microbiol.* 13(1), 13–23.
- Tsvetkova, N.M., Pakhomov, O.Y., Serdyuk, S.M., Yakyba, M.S., 2016. Biologichne riznomanittja Ukrainy. Dnipropetrovs'ka oblast'. Grunty. Metaly u gruntah [Biological diversity of Ukraine. The Dnipropetrovsk region. Soils. Metals in the soils]. *Lira, Dnipropetrovsk* (in Ukrainian).
- Viti, C., Marchi, E., Decorosi, F., Giovannetti, L., 2014. Molecular mechanisms of Cr (VI) resistance in bacteria and fungi. *FEMS Microbiol. Rev.* 38(4), 633–659.
- Wang, Q., Ding, D., Hu, E., Yu, R., Qiu, G., 2008. Removal of  $\text{SO}_4^{2-}$ , uranium and other heavy metal ions from simulated solution by sulfate reducing bacteria. *T. Nonferr. Metal. Soc.* 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. *J. Environ. Sci.* 31, 68–73.
- 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). *Microb. Biotechnol.* 4(1), 55–63.
- Zhuang, K., Ma, E., Lovley, D.R., Mahadevan, R., 2012. The design of long-term effective uranium bioremediation strategy using a community metabolic model. *Biotechnol. Bioeng.* 109(10), 2475–2483.

Надійшла до редколегії 07.03.2016