

ТЕРМОАЦИДОФИЛЬНЫЕ СЕРО- И ЖЕЛЕЗООКИСЛЯЮЩИЕ БАКТЕРИИ ИЗ СУЛЬФИДНЫХ МЕСТОРОЖДЕНИЙ АРМЕНИИ

Н.С. ВАРТАНЯН

Институт микробиологии НАН и Республиканский Центр демонстрации микробов НАН и Министерства образования и науки РА, 378510, г. Абовян

Из отвалов и рудничных вод Шамлугского, Ахталского и Арманисского месторождений Армении выделено три штамма термоацидофильных железоокисляющих бактерий. Выделенные штаммы способны окислять Fe^{2+} при повышенной температуре вплоть до 68° , оптимальная температура роста $50-55^{\circ}$. Оптимальные значения pH - в пределах 1,4-1,6.

Удельная скорость железооксидазной активности выделенных штаммов составила $0,35-0,55$ мкг/мл Fe^{2+} превращенного 1 мг белка за минуту.

Հայաստանի Շամլուղ, Ախթալա և Արմանիս սուլֆիդային ձևնդավայրերի հանքավայրային ջրերից և թափոններից մեկուսացվել են թերմոապիոֆիլ երկաթ օքսիդացնող բակտերիաների երեք շտամներ: Անջատված շտամները ընդունակ են օքսիդացնելու Fe^{2+} ընդհուպ մինչև 68° -ում, չնայած անի օպտիմալ ջերմաստիճանը՝ $50-55^{\circ}$ է: pH-ի օպտիմալ արժեքները ընկած են 1,4-1,6 սահմաններում:

Մեկուսացված շտամների մոտ երկաթօքսիդալային տեսակարար ակտիվությունը կազմել է $0,35-0,55$ մկգ/մլ Fe^{2+} , փոխարկված 1 մգ սպիտակուցի կողմից 1 րոպեում:

Three strains of thermoacidophilic iron oxidizing bacteria have been isolated from sulfide ores of Shamlugh, Akhtala and Armanis regions of Armenia. Isolated strains were capable to oxidize iron at 68° with optimal temperature of growth at $50-55^{\circ}$. Optimum values of pH were in the range of 1,4-1,6.

Specific iron oxidizing activity of strains isolated was $0,35-0,55$ mcg/ml Fe^{2+} transformed by 1 mg protein per minute.

Термоацидофильные серо- и железоокисляющие бактерии - сульфобациллы.

Интенсивность бактериального выщелачивания металлов во многом определяется особенностями использованных бактерий, в частности устойчивостью к экстремальным условиям. В этом отношении особый интерес представляют термоацидофильные серо- и железоокисляющие бактерии [5,7], среди которых перспективностью в выщелачивании металлов выделяются умеренно термофильные *Thiobacillus*-подобные бактерии и сульфобациллы, как предпочтительные обитатели сульфидных руд [8,2].

Целью настоящей работы являлось выделение и изучение новых серо- и железоокисляющих бактерий, активных в окислении сульфидных минералов.

Материал и методика. Объектами исследования служили штаммы 86, 69 и 42 термоацидофильных серо- и железоокисляющих бактерий, выделенных нами из Шамлугского, Ахталского и Арманисского месторождений Армении. Накопленные культуры вышеуказанных штаммов были получены высевом проб рудничных вод и отвалов в среде следующего состава (г/л): $(NH_4)_2SO_4$ - 0,5; NaCl - 0,3; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,5; KH_2PO_4 - 0,2; $Ca(NO_3)_2$ - 0,01.

К среде добавляли дрожжевой экстракт в концентрации 0,01%. В качестве источника энергии

использовали двухвалентное железо в виде $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ в количестве 10 г/л. Инкубирование проводили при 50° в стационарных условиях.

Очистку культур проводили на силикагеле, пропитанном средой того же состава.

Кардинальные температуры роста выделенных штаммов изучали на Temperature gradient incubator TN-3 (Япония).

Количество железа определяли комплексометрически с помощью трилона Б [3], ионы SO_4^{2-} - спектрофотометрическим методом [6]. Ферментативные активности определяли на бесклеточных экстрактах бактерий, полученных путем обработки клеток ультразвуковым дезинтегратором УЗДН-1 при 22 кВ в течение 10 мин, и остатки клеток осаждали центрифугированием при 10000 об/мин в течение 15 минут.

Железооксидазную активность определяли колориметрическим методом [4], а тиосульфатоксидазную и сульфитоксидазную активность - по феррецианидному методу [9].

Результаты и обсуждение. Изучение кардинальных температур роста выделенных штаммов показало, что оптимальная температура роста для шт. 42 и 69 составляет 50° , а у шт. 86 - 55° , что значительно выше таковой для известных до настоящего времени умеренных термофилов [8]. Нижний температурный предел - 30° . Окисление Fe^{2+} выделенными штаммами наблюдается вплоть до 68° (рис.).

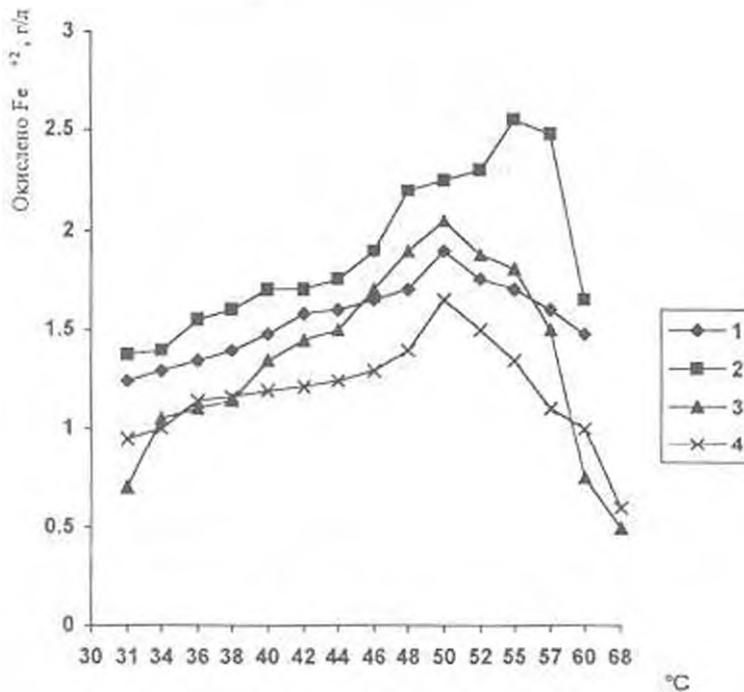


Рис. Влияние температуры на окисление железа штаммами термоацидофильных серо- и железоокисляющих бактерий (рН 1,8) - 1 - шт. 41; 2 - шт. 86; 3 - шт. 69; 4 - шт. 42.

Изучение влияния рН среды на окисление Fe^{2+} показало, что оптимальные значения рН находятся в пределах 1,4-1,6.

Резкое уменьшение количества окисляемого Fe^{2+} отмечалось при рН 2,6-2,8. Нижний предел рН для роста бактерий составлял 1,0. При рН 0,8 окисление Fe^{2+} не

наблюдалось ни у одного штамма.

Исследования показали, что все три штамма выделенных бактерий способны окислять элементарную серу. Данные таблицы указывают, что по способности окислять серу штаммы 86, 69 и 42 значительно превосходят типовой штамм термоацидофильной бактерии *Sulfobacillus thermosulfidooxidans subsp. asporogenes* шт.41, а также известные мезофильные типовые бактерии *Thiobacillus thiooxidans* ВКМ В-460, *T. ferrooxidans* ВКМ В-458.

Окисление элементарной серы мезофильными типовыми бактериями и штаммами термоацидофильных серо- и железooksисляющих бактерий (время культивирования 10 дней, начальный pH 3,3).

Штаммы бактерий	Образовано SO_4^{2-} , г/г	lg числа клеток	Конечный pH
<i>Ethiooxidans</i> ВКМ В-460	16,6 ± 0,75	8,7	2,05
<i>T. ferrooxidans</i> ВКМ В-458	11,5 ± 2,5	7,28	2,5
<i>S. thermosulfidooxidans</i> шт.41*	23,6 ± 1,2	7,48	1,9
Термоацидофильный шт.86*	25,9 ± 0,7	7,95	1,8

Примечание: * Культивирование проводили при 45°.

Рост выделенных штаммов на среде, содержащей тиосульфит в качестве единственного источника энергии, не наблюдался.

У бактерий, выращенных на среде с Fe^{2+} , определяли железooksидазную, тиосульфатоксидазную и сульфитоксидазную активности.

Удельная скорость железooksидазы составляла 0,35-0,55 мкг/мл Fe^{2+} превращенного 1 мг белка за 1 минуту.

Сульфитоксидазная и тиосульфатоксидазная активности у бактериальных клеток, выращенных на среде с Fe^{2+} , не обнаруживались. Однако, учитывая способность выделенных штаммов окислять элементарную серу, а также механизм окисления серы у типовых бактерий, наличие сульфитоксидазной и тиосульфатоксидазной активностей у изучаемых штаммов не вызывает сомнений. Остается предполагать, что вышеуказанные ферменты являются индукцибельными и обнаруживаются только в присутствии в среде соответствующих субстратов.

Таким образом, выделенные штаммы являются экологическими разновидностями *S. thermosulfidooxidans*, характеризующимся более высокой термо- и кислотоустойчивостью, имеющими все необходимые физиолого-биохимические предпосылки для успешного осуществления выщелачивания металлов из сульфидных руд и отвалов.

Выполнение данной работы частично финансировалось грантом ИГАС 93-3512.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вартанян Н.С., Каравайко Г.И., Пивоварова Т.А. Микробиология, 59, 3, 411-417, 1990.
2. Головачева Р.С., Каравайко Г.И. Микробиология, 47, 5, 822, 1978.
3. Резников А.А., Муликовская Е.П., Соколов И.Ю. Методы анализа природных вод, М., 1970.
4. Blaylock В.А., Nason А. J. Biolog. chemistry, 238, 10, 1963.
5. Brierly J.A. FEMS Microbiol. Rev., 75, 2-3, 287-292, 1990.

6. *Dodgson R.S. Biochem. J., 78, 312-319, 1961.*
7. *Larsson L., Olsson G., Holst O., Karlsson H.T. Biotechnol. Letts., 15, 1, 99-104, 1993.*
8. *Norris P.R., Barr D.W. FEMS Microbiol. Let., 28, 221-224, 1985.*
9. *Schook L.B., Berk R.S. J. Bacteriology, 133, 3, 1377-1382, 1978.*

Поступила 20.XI.1993

Биолог. журн. Армении, 1-2 (49), 1996

УДК 576.851.5

ԱԿԱԼՈՖԻԼ ԲԱՏԻԼՆԵՐԻ ՀԱՄԵՄԱՏԱԿԱՆ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ

Կ. Վ. ՇՈՏՅԱՆ

ՀՀ ՉԱԱ միկրոբիոլոգիայի ինստիտուտ և ՀՀ ՉԱԱ և Բարձրագույն կրթության և գիտության նախարարությանն առընթեր Սանրէների Ավանդադրման Հանրապետական Կենտրոն, 378510, ք. Արովյան

Տարբեր տիպի հողերից մեկուսացվել են ավելի քան 200 ալկալոֆիլ սպորավոր բակտերիաների շտամներ: Մորֆոլոգիական և ֆիզիոլոգիական բազմակողմանի ուսումնասիրությունների հիման վրա կատարվել է մեկուսացված շտամների խմբավորում: Ստացված ալկալոֆիլ շտամների մոտ հայտնաբերված և բերութագրված են օբլիգատ, ֆակուլտատիվ և ալկալոդիմապկուն շներ: Ստացված տվյալները հաստատում են ալկալոֆիլ բացիլների մեծ բազմազանությունը:

Շտամները և նրանց Տվյալների բազան ընդգրկված են Սանրէների Ավանդադրման Հանրապետական Կենտրոնի (ՄԱՀԿ) հավաքածուի մեջ:

Из разных типов почв выделено более 200 штаммов алкалофильных спорообразующих бактерий. На основе исследований их морфологических и физиологических свойств штаммы выделены в отдельные группы. Среди полученных алкалофильных штаммов выявлены и охарактеризованы облигатные, факультативные и алкалотолерантные формы. Полученные данные выявляют большое биоразнообразие алкалофильных бацилл.

Штаммы и их база данных включены в коллекцию культур Республиканского Центра депонирования микроорганизмов (РЦДМ).

More than 200 alcalophilic sporeforming bacterial strains have been isolated from different types of soils. Based on the morpho-physiological properties they have been divided into different groups. Within the alcalophilic strains obligative, facultative and alcalotolerant cultures have been detected and characterized. The data received indicate on the large biodiversity of alcalophilic bacilli.

The strains studied and their Database were included in the Republican Centre for Deposition of Microorganisms of Armenia (RCDM).

Ալկալոֆիլ բացիլներ - ալկալոֆիլություն - Տվյալների բազա

Գիտական և կիրառական նշանակությամբ մանրէների առավել կարևոր խմբերից են պատկանում էքստրեմոֆիլ միկրոօրգանիզմների ձևերը, որոնց թվին են դասվում ջերմաստիճանի, միջավայրի տարբեր pH-ի և աղերի էքստրեմալ կոնցենտրացիաներին հարմարված յուրահատուկ տեսակները: Վերջին տարիներին տարբեր երկրներում այդ շտամները գտնվում են ուշադրության կենտրոնում, հիմնականում նրանց արդյունաբերական ձևերը: Ներկայումս եվրոպական համայնքում գործում է ԲԻՈՏԵԽ