



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3(65), 2013

ՆՈՐ ՄԵԿՈՒՍԱՑՎԱԾ ՋԵՐՄԱԿԱՅՈՒՆ *LEPTOSPIRILLUM* SPP. ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ԱՂՀԵԶԻԱՆ ԵՎ ՊԻՐԻՏԻ ԿԵՆՍԱՕՔՍԻԴԱԿԱՑՈՒՄԸ

Ա.Կ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ, Հայկենսատեխնոլոգիաների ԳԱԿ, Միկրոբիոլոգիայի ինստիտուտ
avivardan@gmail.com

Ցինկի խտանումի տարրավազման պուլպից մեկուսացված *Leptospirillum* sp. ZC շտամն ընդունակ է օքսիդացնելու Fe (II) 30-40 °C ջերմաստիճանային միջակայքում: Ցույց է տրվել, որ համատեղ աճեցումը ծծումբ օքսիդացնող *Acidithiobacillus albertensis* շտ. SO-2-ի հետ խթանում է *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի ադիզիան պիրիտի մակերեսին և զգալիորեն բարձրացնում ապարի տարրավազման ինտենսիվությունը: Պարզվել է, որ խառը կուլտուրայի դեպքում *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի բջիջներն ադիզվում են պիրիտի մակերեսին միայն ծծումբ օքսիդացնող բակտերիաների կողմից նրա նախնական զաղությանցումից հետո: Բացահայտվել է կոռելյացիա պիրիտի կենսաօքսիդացման և ապարի մակերեսին *Leptospirillum* spp. բակտերիաների ադիզիայի գործընթացների միջև: Ենթադրվում է, որ *Leptospirillum* spp. բակտերիաների կողմից պիրիտի տարրավազմումը տեղի է ունենում անուղղակի կոնտակտային մեխանիզմով:

Leptospirillum spp. բակտերիաներ – պիրիտի կենսաօքսիդացում – բակտերիաների ադիզիա

Leptospirillum sp. штамм ZC, изолированный из пульпы выщелачивания цинкового концентрата, способен окислять Fe (II) в диапазоне температур 30-40 °C. Показано, что совместное культивирование с сероокисляющей бактерией *Acidithiobacillus albertensis* str. SO-2 способствует адгезии *Leptospirillum* sp. шт. ZC на пирите и значительно повышает эффективность его биовыщелачивания. Установлено, что в смешанной культуре клетки *Leptospirillum* sp. шт. ZC адгезируются на поверхности пирита только после его начальной колонизации сероокисляющими бактериями. Выявлена корреляция между биоокислением пирита и адгезией бактерий *Leptospirillum* spp. на поверхности минерала. Предполагается, что выщелачивание пирита бактериями *Leptospirillum* происходит по непрямому контактному механизму.

Бактерии *Leptospirillum* spp. – адгезия на пирите – биоокисление пирита

Leptospirillum sp. str. ZC isolated from bioleaching pulp of zinc concentrate is capable of oxidizing Fe (II) in the range of temperatures 30-40°C. It has been shown that the growth of *Leptospirillum* sp. str. ZC together with sulfur oxidizing *Acidithiobacillus albertensis* str. SO-2 promotes its adhesion on pyrite and significantly enhances the efficiency of pyrite bioleaching. It has been revealed that in case of mixed culture the cells of *Leptospirillum* sp. str. ZC are adhered on pyrite surface only after its initial colonization by sulfur oxidizing bacteria. The correlation between pyrite biooxidation and adhesion of *Leptospirillum* spp. bacteria on mineral surface has been found. It is supposed that bioleaching of pyrite by *Leptospirillum* spp. bacteria occurs by means of indirect contact leaching.

Leptospirillum spp. bacteria – bacterial adhesion pyrite – pyrite biooxidation

Կենսաօքսիդացումը բակտերիաների միջոցով սուլֆիդային ապարների նախամշակման գործընթաց է, որի ընթացքում քայքայվում է պիրիտի կամ արսենապիրիտի բյուրեղավանդակը, ազատվում դրանցում ներփակված ոսկին և մատչելի դառնում հետագա կորզման համար ցիանացման եղանակով [7]: Վերջին տարիների հետազոտությունները վկայում են, որ 40°C-ում գործող ոսկի-արսենապիրիտային և պիրիտային հանքաքարերի կենսաօքսիդացման արտադրական ռեակտորներում գերա- կշռող երկաթ օքսիդացնող բակտերիաները *Leptospirillum* spp. (հիմնականում *Leptospirillum ferriphilum*)

բակտերիաներն են [6, 14, 17, 22]: Բարձր Fe^{3+}/Fe^{2+} հարաբերությունը, բարձր ջերմաստիճանը ($40^{\circ}C$), ինչպես նաև pH-ի ծայրահեղ ցածր արժեքները (pH 1,0) առավել նպաստավոր են այդ ցեղի բակտերիաների կենսագործունեության համար [10, 18]: *Leptospirillum* ցեղը ընդգրկում է *L. ferrooxidans* (I խումբ), *L. Ferriphilum* (II խումբ) և *L. ferrodiazotrophum* (III խումբ) տեսակները: Լեպտոսպիրիլները գրամբացասական, ագիդոֆիլ, ծոված ձողիկներ են, խիստ քենոլիթոավտոտրոֆ, որոնք ֆիքսում են ածխաթթու գազը՝ օգտագործելով $Fe(II)$ -ի օքսիդացման էներգիան [2, 5, 6, 12]:

Վերջին շրջանում գիտնականները $40^{\circ}C$ -ից բարձր ջերմաստիճանի պայմաններում ընթացող ապարների կենսաօքսիդացման և կենսատարրավազման գործընթացներում առանձնապես կարևորում են *Leptospirillum* ցեղի տեսակները և նրանց խառը կուլտուրաներն այլ բակտերիաների հետ [2, 9, 16, 21]:

Սուլֆիդային ապարների կենսաօքսիդացման կամ կենսատարրավազման անհրաժեշտ պայման է բակտերիաների կողմից կենսաթաղանթի առաջացումը՝ որպես բակտերիաապար փոխադրեցության ձև [19, 22]: Կենսաթաղանթի արտաբջջային պոլիմերային նյութերը միջնորդավորում են բջիջների ամրացումը ապարին, ինչպես նաև կենսատարրավազման գործընթացում ապարի մակերեսին ընթացող էլեկտրաքիմիա-կան ռեակցիաները [15, 20]: Սակայն *Leptospirillum* spp. բակտերիաների ադիզիայի և ապարների տարրավազման գործընթացի համահարաբերակցության վերաբերյալ քիչ տվյալներ կան:

Ցինկի խտառումքի տարրավազման պուլպից մեկուսացվել է *Leptospirillum* spp. բակտերիա, որն ընդունակ է օքսիդացնելու $Fe(II)$ ՝ $30-40^{\circ}C$ ջերմաստիճանային միջակայքում:

Աշխատանքի նպատակն է եղել ուսումնասիրել մեկուսացված *Leptospirillum* sp. բակտերիայի կենսաբանական առանձնահատկությունները և ադիզիայի ընդունակությունը կապված պիրիտի կենսաօքսիդացման հետ:

Նյութ և մեթոդ: *Leptospirillum* spp. բակտերիաների մեկուսացումը: *Leptospirillum* spp. բակտերիաների մեկուսացման նպատակով 9K սննդամիջավայրը վարակվել է ցինկի տարրավազման պուլպի նմուշով և ինկուբացվել 7-10 օրվա ընթացքում $37^{\circ}C$ -ի պայմաններում [1]:

Մաքուր կուլտուրաները ստացվել են Մանինգի [1] և $FeTSB_0$ [13] պինդ սննդամիջավայրերի վրա հարստացված կուլտուրաների ցանքսի արդյունքում աճած դեղին կամ դեղնագորշ գաղութներից: Մանրադիտակային հետազոտության համար բակտերիաները ներկվել են բյուրեղական մանուշակագույնով:

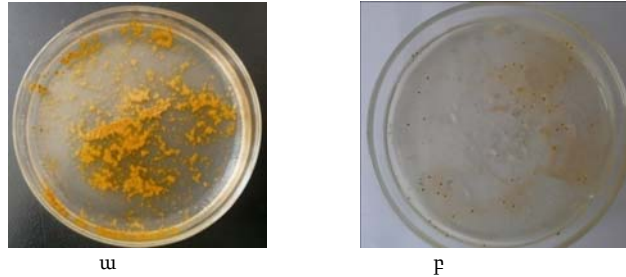
Պիրիտի տարրավազմումը: Պիրիտի տարրավազման նպատակով օգտագործվել են նոր մեկուսացված *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ը, ինչպես նաև նախկինում նկարագրված ծծումբ օքսիդացնող *A.albertensis* շտ. SO-2-ը [3]: Բակտերիաներն աճեցվել են որպես էներգիայի աղբյուր Fe^{2+} կամ S^0 պարունակող 9K սննդամիջավայրերում: Աճի լոգարիթմական փուլում բջիջները հավաքվել են ցենտրիֆուգմամբ 6000 g պայմաններում 10 րոպե տևողությամբ: Հավաքված կենսազանգվածը լվացվել է թթվեցրած սննդամիջավայրով և կրկին սուսպենդվել նույն սննդամիջավայրում: Տարրավազման նպատակով օգտագործվել է Հայաստանի Շամլուղի հանքավայրի պիրիտը՝ FeS_2 (43-63 մկմ): Պիրիտի կշռվածքները տեղավորվել են 250 մլ կոլբաների մեջ, թրջվել թորած ջրով և մանրէազերծվել: Այնուհետև կոլբաների պարունակությանը ավելացվել է 50 մլ 9K սննդամիջավայր, (pH 2,0) և բակտերիաների սուսպենդիա:

Պուլպի խտությունը ($\eta:2$) հաշվարկվել է որպես պիրիտի զանգվածի հարաբերություն սննդամիջավայրի ծավալին: Տարրավազման փորձերն կատարվել են պարբերական ռեժիմի և թափահարման պայմաններում (180 պտ/րոպե) $37^{\circ}C$ -ում: Պիրիտի օքսիդացման ինտենսիվությունը գնահատվել է ըստ միջավայր անցած Fe^{3+} , Fe^{2+} իոնների քանակության:

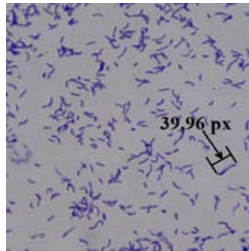
Բակտերիաների ադիզիան: Բակտերիաների ադիզիան պիրիտի մակերեսին ուսումնասիրվել է հիմնականում առաջին երկու, որոշ դեպքերում՝ 24 ժ ընթացքում: Կենսունակ բջիջների քանակությունը որոշվել է սահմանային տասնապատիկ նոսրացումների մեթոդով, բջիջների առավել հավանական թիվը՝ ըստ Մակ-Կրեդիի աղյուսակի [4]: Ադիզված բջիջների քանակությունը որոշվել է որպես ներմուծված բակտերիաների սկզբնական տիտրի և որոշակի ժամանակահատված անց հեղուկ փուլում դիտված բջիջների քանակության տարբերություն: Ադիզիայի աստիճանը որոշվել է՝ որպես բջիջների սկզբնական տիտրի նկատմամբ ամրացած բջիջների թվի տոկոսային հարաբերություն:

Մետաղների իոնների քանակական անալիզը: Fe^{2+} և Fe^{3+} իոնները որոշվել են կոմպլեքսոմետրիկ տիտրմամբ տրիլոն Ե-ով, ընդհանուր երկաթը՝ AAS IN ատոմաբսորբցիոն սպեկտրոֆոտոմետրով՝ օդ-պրոպան-բութան բոցի կիրառմամբ:

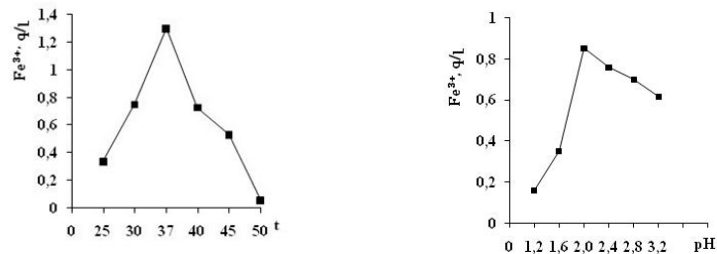
Արդյունքներ և քննարկում: *Leptospirillum* spp. բակտերիաների մեկուսացումը: Ցինկի խտաճումքի տարրավազման պուլպերից մեկուսացվել է *Leptospirillum* spp. բակտերիաների օրիգինալ շտամ՝ շտ. ZC-ը (նկ.1): Բջջիներն իրենցից ներկայացնում են վիբրիոններ՝ 0,12-0,13 x 0,6-1,0 մկմ չափերով (նկ. 2):



Նկ.1. Մեկուսացված *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի գաղութները (ա) FeTSB₀ և (բ) Մաննինգի սննդամիջավայրերի վրա



Նկ.2. Բյուրեղական մանուշակագույնով ներկված *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի միկրոլուսանկարը (1 պիկսել (px) = 263,6 միկրոմետր)

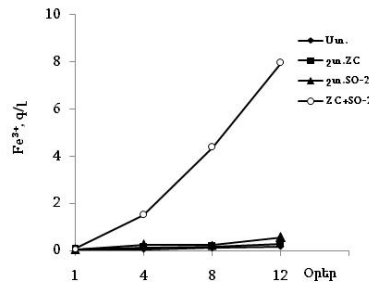


Նկ.3. Fe²⁺-ի օքսիդացումը մեկուսացված *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի միջոցով տարբեր ջերմաստիճանների (ա) և pH-ի (բ) պայմաններում (տևողությունը՝ 3 օր)

Մեկուսացված *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի աճը երկարժեք երկաթ պարունակող սննդամիջավայրում դիտվել է 30-40 °C ջերմաստիճանային միջակայքում, օպտիմալ ջերմաստիճանը կազմել է 37°C (նկ. 3 ա): pH-ի ազդեցությունը բակտերիայի աճի և երկարժեք երկաթի օքսիդացման ակտիվության վրա ուսումնասիրվել է կուլտիվացման առաջին օրերի ընթացքում, քանի դեռ միջավայրի pH-ի էական փոփոխություն տեղի չի ունեցել: pH-ի օպտիմալ արժեքը կազմել է 2,0, աճի ներքին սահմանը՝ 1,4 (նկ. 3 բ):

Leptospirillum sp. շտ. ZC-ի ադիեզիան պիրիտի վրա և պիրիտի տարրավազմումը: Ուսումնասիրվել է պիրիտի տարրավազմումը ցինկի խտաճումքից մեկուսացված երկաթ օքսիդացնող *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի մաքուր և ծծումբ օքսիդացնող *A.albertensis* շտ. SO-2-ի հետ խառը կուլտուրայի միջոցով: Պարզվել է, որ *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի մաքուր կուլտուրայի ակտիվությունը պիրիտի օքսիդացման գործընթացում չի տարբերվում չինկուլացված ստուգիչից, իսկ *A.albertensis* շտ. SO-2-ի մաքուր կուլտուրան ցուցաբերում է պիրիտի տարրավազմման շատ ցածր ակտիվություն: Սակայն *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի *A.albertensis* շտ. SO-2-ի հետ համատեղ աճեցման դեպքում խառը կուլտուրայի

ակտիվությունը 40-50 և 15-20 անգամ գերազանցել է համապատասխանաբար ստուգիչի կամ *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի և *A.albertensis* շտ. SO-2-ի մաքուր կուլտուրաների ակտիվությունը (նկ. 4):



Նկ.4. Պիրիտի (FeS_2) տարրավազումը *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի և *A.albertensis* շտ. SO-2-ի և նրանց խառը կուլտուրայի միջոցով

Ստացված արդյունքները թույլ են տալիս եզրակացնել, որ *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ը ցուցաբերում է պիրիտի օքսիդացման բարձր ակտիվություն միայն ծծումբ օքսիդացնող բակտերիաների հետ համատեղ աճեցնելիս:

Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ ինչպես մաքուր, այնպես էլ խառը կուլտուրաների դեպքում ինոկուլյացիայից 30 րոպե հետո *A.albertensis* շտ. SO-2-ի ադիեզիան պիրիտի մակերեսին հասնում է առավելագույն՝ 99,99 % -ի (աղ. 1, 2):

Աղ.1. *A.albertensis* շտ. SO-2-ի մաքուր կուլտուրայի ադիեզիան պիրիտի վրա

Ժամանակահատվածը	<i>A. albertensis</i> -ի բջիջների թիվը հեղուկում, բջ/մլ	Ադիեզված <i>A.albertensis</i> -ի բջիջների թիվը, բջ/մլ	Ադիեզիայի աստիճանը, %
0	$7,5 \times 10^8$	0	0
30 րոպե	$5,0 \times 10^5$	$7,49 \times 10^8$	99,93
1 ժ	$1,2 \times 10^5$	$7,499 \times 10^8$	99,98

Leptospirillum sp. շտ. ZC-ի ադիեզիան պիրիտի մակերեսին խառը կուլտուրայի դեպքում հասել է 90,1 %-ի ինոկուլյացիայից 24 ժ հետո միայն, իսկ մաքուր կուլտուրայի դեպքում բջիջների ադիեզիա չի դիտվել (աղ. 2):

Աղ.2. *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի և *A.albertensis*-ի շտ. SO-2-ի ադիեզիան պիրիտի վրա համատեղ աճի պայմաններում

Ժամանակահատվածը	<i>A.albertensis</i> շտ. SO-2-ի բջիջների թիվը հեղուկում, բջ/մլ	Ադիեզիայի աստիճանը, %	<i>Leptospirillum</i> sp. շտ. ZC- բջիջների թիվը հեղուկում, բջ/մլ	Ադիեզիայի աստիճանը, %
0	$7,5 \times 10^8$	0	$1,32 \times 10^6$	0
30 րոպե	$1,2 \times 10^7$	98,4	$1,2 \times 10^6$	9,1
1 ժ	$5,0 \times 10^4$	99,99	$1,0 \times 10^5$	24,2
24 ժ	-	-	$1,2 \times 10^5$	90,1

Այսպիսով, ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ պիրիտի կենսատարրավազումն ուղակիորեն կապված է ապարի մակերեսին *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի ադիեզվելու ունակության հետ: Հետազոտության արդյունքները վկայում են նաև, որ խառը կուլտուրայի դեպքում պիրիտը նախապես գաղութացվում է ծծումբ օքսիդացնող *A.albertensis* շտ. SO-2-ի կողմից, որից հետո միայն դիտվում է *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի բջիջների ադիեզիան պիրիտի մակերեսին: Հայտնի է, որ ծծումբ օքսիդացնող բակտերիաներն ավելի հակված են ադիեզվելու հիդրոֆոբ մակերեսներին: Քանի որ պիրիտի նախնական մշակման ընթացքում նրա մակերեսից հեռացվել է երկաթը, ենթադրվում է, որ պիրիտի մակերեսին մնացել են ծծմբի մասնիկներ, ինչը նրան օժտել է որոշ հիդրո ֆոբությամբ: Այս հանգամանքով է բացատրվում պիրիտի արագ և առաջ-նային գաղութացումը ծծումբ օքսիդացնող բակտերիաներով, ինչպես նաև ադիեզիայի

բացակայությունը *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի մոտ, քանի որ վերջիններիս ադիեզիան ապարի մակերեսին տեղի է ունենում հիմնականում էլեկտրաստատիկ ձգողականության շնորհիվ [20]:

Բազմիցս արձանագրվել է, որ ծծումբ օքսիդացնող բակտերիաների բացակայության պայմաններում ծծումբը, կուտակվելով ապարի մակերեսին, կարող է առաջացնել հոծ շերտ, որը բացասաբար է ազդում նրա տարրալվացման կինետիկայի վրա [8, 11]: Այս տեսակետից *A.albertensis* շտ. SO-2-ի ներդրումը պիրիտի ինտենսիվ տարրալուծման գործընթացում կարելի է բացատրել նրանով, որ *A.albertensis*-ը այլ ծծումբ օքսիդացնող բակտերիաների անալոգիայով օքսիդացնում է պիրիտի տարրալուծման միջանկյալ արդյունքը՝ ծծումբը, փոխակերպելով այն ծծմբական թթվի, դրանով իսկ կանխելով կամ նվազեցնելով նրա կուտակումը պիրիտի մակերեսին: Միևնույն ժամանակ հեռացնելով ծծմբի հիդրոֆոբ շերտը պիրիտի մակերեսից, նպաստավոր պայմաններ է ստեղծվում *Leptospirillum* spp. բակտերիաների ադիեզիայի համար: Արդյունքում համատեղ աճեցումը ծծումբ օքսիդացնող *A.albertensis* շտ. SO-2-ի հետ նպաստում է *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի ադիեզիային պիրիտի մակերեսին և զգալիորեն բարձրացնում է նրա տարրալվացման ինտենսիվությունը:

Այսպիսով, կարելի է եզրակացնել, որ նոր մեկուսացված *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ը ցուցաբերում է պիրիտի օքսիդացման բարձր ակտիվություն միայն ծծումբ օքսիդացնող *A.albertensis* շտ. SO-2-ի հետ համատեղ աճեցնելիս, և որ պիրիտի արդյունավետ կենսատարրալվացման անհրաժեշտ պայման է *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի ադիեզիան ապարի մակերեսին: Ընդ որում, պարզվել է, որ պիրիտի տարրալուծումը համահարաբերակցական է նրա մակերեսին ադիեզված *Leptospirillum* sp. շտ. ZC-ի բջիջների քանակությանը: Հետևաբար կարելի է ենթադրել, որ *Leptospirillum* spp. բակտերիաների կողմից պիրիտի տարրալվացումը տեղի է ունենում անուղղակի կոնտակտային մեխանիզմով [19, 20]:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Биогeотeхнология металлов /под ред. Г.И.Каравайко, Дж. Росси, А.Агате, С. Грудева, З.А.Авакян. М., Центр Международных проектов ГКНТ, 1989.
2. Варданян Н.С., Акопян В.П. *Leptospirillum* – подобные бактерии и оценка их роли в окислении пирита. Микробиология, 72, 4, с.1-5, 2003.
3. Варданян А.К., Хачатрян А.Н., Маркосян Л.С., Варданян Н.С. Новая сероокисляющая бактерия, выделенная из пульпы биовыщелачивания цинкового концентрата. Биолог. журн. Армении, 65, 1, 2013.
4. Герхардт Ф. и др. Методы общей бактериологии, 3т. М., Мир, 1, 1983.
5. Маркосян Г.Е. Новая железоокисляющая бактерия *Leptospirillum ferrooxidans* nov. gen. nov. sp.. Биолог. журн. Армении, 25, 2, с.26-29, 1972.
6. Coram N.J., Rawlings D.E. Molecular relationship between two groups of the genus *Leptospirillum* and the finding that *Leptospirillum ferriphilum* sp. nov. dominates in South African commercial biooxidation tanks that operate at 40°C. App. Environ. Microbiology, 68, 2, p.838-845, 2002.
7. Dew, D.W., Lawson E.N. and Broadhurst J.L. The BIOX process for biooxidation of gold-bearing ores or concentrates. Rawlings D.E. (ed.), Biomining: theory, microbes and industrial processes. Springer-Verlag/Landes Bioscience, Georgetown, Tex, p.45-80, 1997.
8. Dopson M., Lindstrom E.B. Potential role of *Thiobacillus caldus* in arsenopyrite bioleaching. App. Environ. Microbiology, 65, 1, p.36-40, 1999.
9. Fub B., Zhoua H., Zhanga R., Qiua G. Bioleaching of chalcopyrite by pure and mixed cultures of *Acidithiobacillus* spp. and *Leptospirillum ferriphilum*. Intern. Biodeterioration & Biodegradation 62, p.109-115, 2008.
10. Fouchera, S., Bruneta, F.B., D'Huguesa, P., Clarensb, M., Godonc, J.J., Morin, D. Evolution of the bacterial population during the batch bioleaching of a cobaltiferous pyrite in a suspended solids bubble column and comparison with a mechanically agitated reactor. Hydrometallurgy, 71, p.5-12, 2003.

11. Fowler T.A., Crundwell F.K. Leaching of zinc sulfide by *Thiobacillus ferrooxidans*: bacterial oxidation of the sulfur product layer increases the rate of zinc sulfide dissolution at high concentrations of ferrous ions. *App. Environ. Microbiol.*, 65, p.5285-5292, 1999.
12. Goltsman D.S. A., Denef V.J., Singer S.W., VerBerkmoes N.C., Lefsrud M., Mueller R.S., Dick G.J., Sun Ch.L., Wheeler K.E., Zemla A., Baker B.J., Hauser L., Land M., Shah M.B., Thelen M.P., Hettich R.L., Banfield J.F. Community Genomic and Proteomic Analyses of Chemoautotrophic Iron-Oxidizing “*Leptospirillum rubrum*” (Group II) and “*Leptospirillum ferrodiazotrophum*” (Group III) Bacteria in Acid Mine Drainage Biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, p.4599-4615, 2009.
13. Johnson B.D., Macvicar J.H.M., Rolfe S. A new solid medium for the isolation and enumeration of *Thiobacillus ferrooxidans* and acidophilic heterotrophic bacteria. *J. Microbiol. Methods*, 7, p.9-18, 1987.
14. Lawson, E.N. The composition of mixed populations of leaching bacteria active in gold and nickel recovery from sulphide ores. In: International Biohydrometallurgy Symposium. Biomine 97, Australian Mineral Foundation, Glenside, pp. QP4.1–QP4.10.
15. Moreno-Paz M., Gomez M.J., Arcas A., Parro V. Environmental transcriptome analysis reveals physiological differences between biofilm and planktonic modes of life of the iron oxidizing bacteria *Leptospirillum* spp. in their natural microbial community. *BMC Genomics*, 11, p.404, 2010.
16. Okibe N., Gericke M., Hallberg K.B., Johnson D.B. Enumeration and characterization of acidophilic microorganisms isolated from a pilot plant stirred-tank bioleaching operation. *App. Environ. Microbiol.*, 69, 4, p. 1936–1943, 2003.
17. Rawlings D.E., Coram N.J., Gardner M.N., Deane S.M. *Thiobacillus caldus* and *Leptospirillum ferrooxidans* are widely distributed in continuous-flow biooxidation tanks used to treat a variety of metal-containing ores and concentrates. In: Amils, R., Ballester, A. (Eds.), *Biohydrometallurgy and the Environment Toward the Mining of the 21st Century, Part A*. Elsevier Press, Amsterdam, p.773-778, 1999.
18. Rawlings D.E., Tributsch H., Hansford G.S. Reasons why ‘*Leptospirillum*’-like species rather than *T.ferrooxidans* are the dominant iron-oxidizing bacteria in many commercial processes for the biooxidation of pyrite and related ores. *Microbiology*, 145, 5-13, 1999.
19. Rohwerder T., Gehrke T., Kinzler K., and Sand W. Bioleaching review part A: progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 63, p.239–248, 2003.
20. Sand W., Gehrke T. Extracellular polymeric substances mediate bioleaching/biocorrosion via interfacial processes involving iron (III) ions and acidophilic bacteria. *Res Microbiol.*, 157, p.49-56, 2006.
21. Sand W., Rohde K., Sobotke U. Evolution of *Leptospirillum ferrooxidans* for bioleaching. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, p.85-92, 1992.
22. Schippers A. Microorganisms involved in bioleaching and nucleic acid-based molecular methods for their identification and quantification. In *Microbial processing of metal sulfides*. Edited by Donati R.E., Sand W. New York, NY, Springer, p.3-33, 2007.

Unwguqlı ı 02.04.2013