

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ КЛІТИНИ

**ТАРАБАС ОЛЬГА ВОЛОДИМИРІВНА**



УДК 579.[266+22+84+81]+57.042

**ПЕРЕТВОРЕННЯ СПОЛУК СУЛЬФУРУ І НІТРОГЕНУ  
ФОТОТРОФНИМИ ПУРПУРОВИМИ БАКТЕРІЯМИ,  
ВИДІЛЕНИМИ З ТЕХНОГЕННО ЗМІНЕНОГО  
СЕРЕДОВИЩА**

03.00.07 – мікробіологія

Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

Львів – 2023

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на базі кафедри мікробіології Львівського національного університету імені Івана Франка.

**Науковий керівник:** кандидат біологічних наук, професор  
**Гнатуш Світлана Олексіївна**  
Львівський національний університет імені Івана Франка,  
завідувач кафедри мікробіології

**Офіційні опоненти:** доктор біологічних наук, професор,  
член-кореспондент НАН України  
**Іутинська Галина Олександрівна**  
Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного  
НАН України, головний науковий співробітник відділу  
загальної та ґрунтової мікробіології

доктор біологічних наук, професор,  
член-кореспондент НАН України  
**Іваниця Володимир Олексійович**  
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,  
проректор з наукової роботи

Захист відбудеться 14 грудня 2023 р. о 14:00 год на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.246.01, Інститут біології клітини НАН України, 79005, м. Львів, вул. Драгоманова, 14/16.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту біології клітини НАН України, 79005, м. Львів, вул. Драгоманова, 14/16.

Автореферат розіслано 10 листопада 2023 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради  
кандидат біологічних наук



Н. С. Фінюк

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Основною групою фототрофних мікроорганізмів, які розвиваються у водних і наземних середовищах, є аноксигенні фототрофні пурпурові бактерії, здатні фіксувати карбон діоксид, молекулярний азот і окиснювати відновлені сполуки Сульфурі та Нітрогену. Тому вони відіграють важливу роль у глобальних біогеохімічних циклах Карбону, Нітрогену та Сульфурі. За здатністю накопичувати молекулярну сірку в клітинах їх поділяють на пурпурові несіркові бактерії (ПНСБ) і пурпурові сіркові бактерії (ПСБ) (Keppen et al., 2013; Imhoff, 2017; Dahl, 2017).

У процесі аноксигенного фотосинтезу, який здійснюють ці мікроорганізми, екзогенними донорами електронів можуть бути йони сульфіді, тіосульфату, тетрагіонату, молекулярна сірка, молекулярний водень (у фотолітотрофів) і органічні речовини (у фотоорганотрофів) (Dahl, 2017; Ozaki et al., 2019). У представників ПНСБ виявлено багато різних метаболічних процесів, завдяки яким ці бактерії отримують необхідну енергію. Багато бактерій цієї групи можуть рости за хемотрофних аеробних чи мікроаерофільних умов, отримуючи енергію у процесі дихання за використання органічних речовин, зокрема, органічних кислот чи водню (Ozaki et al., 2019; Adessi et al., 2021).

ПНСБ можуть продукувати індол-3-оцтову та 5-амінолевулінову кислоти, а також полі- $\beta$ -гідроксибутират (Basak, & Das, 2007; Gabrielyan et al., 2016; Adessi et al., 2021). Продукти метаболізму клітин ПНСБ можуть бути використані як біодобриво для рослин (Sepúlveda-Muñoz et al., 2023). Ці бактерії можуть утворювати водень під час використання органічних субстратів, якими можуть бути різні відходи. Утворення водню фотосинтезувальними мікроорганізмами відбувається за умов використання світла (Adessi et al., 2017). Ефективність перетворення енергії й оптимальне джерело Карбону є ключовими факторами, які визначають отримання водню в біологічних системах (Basak, & Das, 2007). Виділення та дослідження нових штамів  $H_2$ -продукуючих фототрофних бактерій є важливим для розроблення технологічних процесів, у яких нефотосинтезувальні та фотосинтезувальні бактерії, поєднані у гібридній системі, можуть забезпечити зростання виходу водню (Basak, & Das, 2007; Gabrielyan et al., 2016).

Забруднення ґрунту і ґрунтових вод промисловими органічними та неорганічними, сільськогосподарськими й побутовими відходами вже давно стало серйозною проблемою для довкілля та здоров'я населення. Аміачний Нітроген, нітрат і нітрит-йони є неорганічними забруднювачами, як і  $F^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $Cl^-$ ,  $Ca^{2+}$  та  $Mg^{2+}$ . У підземних водах було виявлено органічні забруднювачі, і їхній вміст продовжує зростати (Kurwadkar, 2019; Копанчук, 2020). Очищення стічних вод за участі мікроорганізмів є ефективною, економічно вигідною альтернативою фізичним і хімічним методам. Штами ПНСБ використовують для очищення не тільки стічних вод, а й акваріумних вод і сільськогосподарських стоків. Бактерії метаболізують органічні кислоти, моносахариди, полісахариди (Rajani et al., 2016; Merugu et al., 2017; Costa et al., 2017; Sepúlveda-Muñoz et al., 2023). Дослідження з очищення

навколишнього середовища за використання біоелектрохімічних систем є перспективними з огляду на їхнє практичне застосування. У мікробних паливних елементах (МПЕ) екзоелектрогенні бактерії окиснюють органічні речовини та переносять електрони на анод (Gadkar et al., 2019). Представники класів *Alphaproteobacteria* та *Betaproteobacteria* генерують електричний струм (Venkidusamy, & Megharaj, 2016). Зокрема, екзоелектрогенами є *Rhodospseudomonas palustris* DX-1 і *Rhodospseudomonas palustris* RP2 (Xing et al., 2008; Venkidusamy, & Megharaj, 2016). Хоча пурпурові бактерії були модельними організмами для вивчення фотохімічних процесів у фотосинтезувальних організмів, дослідження їхніх фотобіоелектрохімічних властивостей розпочалося нещодавно (Grattieri, 2020). З огляду на описане вище, можна стверджувати, що інтерес до пурпурових бактерій зростає. Визначення чисельності ПСБ і ПНСБ є важливим для оцінки внеску цих мікроорганізмів у біогеохімічні цикли Карбону, Нітрогену та Сульфуру, зокрема, в техногенно трансформованих екосистемах, а дослідження властивостей бактерій розширює знання про їхню роль у трансформації сполук Сульфуру та Нітрогену.

Із води озера Яворівське (Львівська область, Україна), яке утворилося на місці кар'єру колишнього сірководобувного підприємства у результаті затоплення та водоносний комплекс якого містить  $H_2S$  і збагачений сульфат-йонами, виділено пурпурові несіркові бактерії *Rhodospseudomonas yavorovii* ІМВ В-7620, які за своїми властивостями відрізняються від інших описаних бактерій роду *Rhodospseudomonas*.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертацію виконано в межах наукових досліджень, які проводили на кафедрі мікробіології Львівського національного університету імені Івана Франка за темами: “Функціонування мікробоценозів антропогенно змінених територій” (№ державної реєстрації 0115U003549, термін виконання 2015–2017 рр.), “Функціонування мікробоценозів техногенно змінених територій та їхня участь у трансформації сполук важких металів і Сульфуру” (№ державної реєстрації 0116U001534, термін виконання 2016–2018 рр.), “Адаптації мікроорганізмів, які перетворюють сполуки Сульфуру у природі, до впливу хімічних забруднень як стресових чинників” (№ державної реєстрації 0120U101771, термін виконання 2020–2024 рр.), “Моделювання та прогнозування впливу хімічних забруднень на мікроорганізми, які перетворюють сполуки Сульфуру” (№ державної реєстрації 0121U109616, термін виконання 2021–2023 рр.).

**Мета і завдання дослідження.** Метою роботи було дослідити закономірності використання сульфід-, тиосульфат- і нітрит-йонів фототрофними пурпуровими несірковими бактеріями *R. yavorovii* ІМВ В-7620, виділеними з озера Яворівське, для визначення їхньої ролі у перетворенні сполук Сульфуру та Нітрогену і встановлення можливості практичного використання.

Відповідно до мети було поставлено такі завдання:

1. Визначити чисельність фототрофних несіркових і сіркових бактерій у техногенно зміненій екосистемі (озеро Яворівське) та природній водоймі (Розточчя).

2. Виділити й ідентифікувати фототрофні пурпурові несіркові бактерії, дослідити їхні морфолого-фізіологічні та біохімічні властивості.
3. Дослідити здатність бактерій *R. yavorovii* IMB B-7620 використовувати відновлені сполуки Сульфуру (гідроген сульфід- і тіосульфат-йони) та нітрит-йони як донори електронів упродовж росту в модельних поживних середовищах або стічних водах.
4. Встановити можливість використання *R. yavorovii* IMB B-7620 у процесі утворення екологічно чистої енергії (водню) та генеруванні електричного струму у МПЕ з метою ремедіації середовища від забруднення органічними сполуками.

**Об'єкт дослідження:** перетворення сполук Сульфуру та Нітрогену, утворення водню і генерування струму фототрофними пурпуровими бактеріями.

**Предмет дослідження:** перетворення сполук Сульфуру та Нітрогену фототрофними пурпуровими бактеріями *R. yavorovii* IMB B-7620, виділеними з техногенно зміненого середовища – озера Яворівське.

**Методи досліджень.** Мікробіологічні (виділення чистих культур мікроорганізмів, дослідження їхніх властивостей, культивування бактерій *in vitro*), молекулярної біології (виділення та аналіз ДНК, гель-електрофорез ДНК, полімеразна ланцюгова реакція), хроматографічні (дослідження вмісту органічних кислот, складу газової фази), хіміко-аналітичні (визначення вмісту сульфід-, тіосульфат-, сульфат-, нітрит-, нітрат-йонів, елементної сірки, йонів кальцію, магнію, хімічного споживання кисню та ін.), електрохімічні (дослідження генерування бактеріями електричного струму), статистичні (для аналізу й оцінки достовірності статистичних параметрів експериментальних даних).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше визначено кількість фотосинтезувальних несіркових бактерій у воді озера Яворівське та воді джерельного типу заповідника Розточчя. Вивчення властивостей виділеного штаму пурпурових несіркових бактерій *R. yavorovii* IMB B-7620 є важливим для розуміння процесів кругообігу сполук Сульфуру і Нітрогену в природі. Встановлено здатність бактерій *R. yavorovii* IMB B-7620 використовувати нітрит-йони як донор електронів. Отримані дані дають змогу зробити висновки щодо ймовірного впливу цього метаболічного процесу на глобальний цикл Нітрогену. Описано наукові підходи щодо використання *R. yavorovii* IMB B-7620 у процесах отримання водню й електричного струму за одночасної біоремедіації стічних вод підприємств харчової промисловості.

**Практичне значення одержаних результатів.** Практичне значення дисертаційної роботи полягає у можливості використання пурпурових несіркових бактерій *R. yavorovii* IMB B-7620 для дослідження механізмів генерування електричного струму у МПЕ та продукування водню за одночасної біоремедіації стічних вод підприємств харчової промисловості. Виділений із техногенно зміненої екосистеми (озеро Яворівське) штам пурпурових несіркових бактерій внесено у GenBank

(номер доступу: OL711631, зберігається в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України як *Rhodopseudomonas yavorovii* IMB B-7620) та отримано патент України на корисну модель. На основі бактерій *R. yavorovii* IMB B-7620 можуть бути розроблені технології очищення забруднених органічними та неорганічними сполуками водних середовищ. Результати дисертаційної роботи впроваджено у процесі викладання курсів “Мікробіологія”, “Актуальні питання практичної мікробіології”, “Біогеохімічна діяльність мікроорганізмів”, “Екологія мікроорганізмів”, “Фізіологія і біохімія мікроорганізмів” для студентів закладів вищої освіти.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом самостійно опрацьовано літературу за темою роботи і за її проблемними питаннями. Особисто підготовано огляд літератури, виконано експериментальні дослідження та проведено статистичне опрацювання результатів досліджень. Разом із науковим керівником к. б. н., проф. С. О. Гнатуш проведено планування експериментів, здійснено інтерпретацію результатів, розроблено основні положення дисертаційної роботи і підготовано до друку наукові публікації. Спільно з д. б. н., проф. Б. О. Осташем проведено секвенування консервативної ділянки 16S рРНК. Спільно зі ст. наук. сп., к. б. н. В. М. Говорухою (Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ) проведено аналіз складу газової фази на газовому хроматографі ЛХМ-8-МД. Спільно із завідувачем вимірювальної лабораторії структурного підрозділу “Науковий Центр” ТзОВ “Інститут ГРХІМПРОМ” М. Ковальчуком проведено дослідження хімічного складу стічної води. Спільно з завідувачем міжфакультетської лабораторії інструментальних методів дослідження ЛНУ ім. Івана Франка, доц., к.б.н. А. А. Галушкою досліджено пігменти *R. yavorovii* IMB B-7620 за використання високоефективної рідинної хроматографії. Спільно з к. б. н. О. М. Василів досліджено здатність *R. yavorovii* IMB B-7620 генерувати електричний струм в однокамерному МПЕ. Названі співробітники є співавторами публікацій.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення роботи опубліковано у вигляді наукових статей у профільних журналах і представлено як тези усних та стендових доповідей. Результати досліджень репрезентовано на XII–XIV Міжнародних конференціях “Молодь і поступ біології” (Львів, Україна, 2016–2018 рр.); на звітних наукових конференціях Львівського національного університету імені Івана Франка (2017–2018 рр.); Міжнародній науковій конференції “Досягнення та перспективи розвитку мікробіології” (Львів, 2016 р.); XV з’їзді Товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського (Одеса, 2017 р.); Міжнародній Вайгільській конференції (Львів, 2017 р.); XI Міжнародній конференції молодих учених “Біологія: від молекули до біосфери” (Харків, 2017 р.); Міжнародній конференції “Досягнення мікробіології та біотехнології” (Львів, 2018 р.); Міжнародній науковій конференції студентів і молодих вчених “Шевченківська весна: досягнення біологічної науки” (Київ, 2018 р.).

**Публікації.** За результатами дисертації опубліковано 27 наукових праць, серед них – 7 статей у фахових журналах (із них 2 – у виданні бази Scopus, 1 –

Web of Science), 1 свідоцтво про депонування штаму бактерій, 1 патент України на корисну модель і 18 тез доповідей у матеріалах вітчизняних і міжнародних наукових конференцій.

**Структура й обсяг дисертації.** Дисертація містить вступ, огляд літератури, матеріали та методи, результати дослідження, обговорення результатів досліджень, висновки, список використаних джерел (197 посилань) і додатки. Роботу викладено на 180 сторінках машинописного тексту і проілюстровано 31 рисунком та 14 таблицями.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ

**Огляд літератури.** У цьому розділі розглянуто дані про фототрофні пурпурові бактерії та їхнє значення у перетворенні сполук Сульфуру й Нітрогену у природі. Розглянуто особливості метаболізму фототрофних пурпурових бактерій і їхнє поширення у різних екологічних нішах. Схарактеризовано механізми перетворення сполук Сульфуру та Нітрогену цими мікроорганізмами. На основі аналізу наукової літератури обґрунтовано актуальність і необхідність проведення досліджень за темою дисертації, визначено основні завдання роботи.

**Матеріали і методи досліджень.** У роботі застосовано штам пурпурових несіркових бактерій *Rhodospseudomonas yavorovii* IMB В-7620, виділений із води озера Яворівське (Львівська область, Україна) (Тарабас та ін., 2017в).

Для виділення ПНСБ методом Столбунова–Рябова відбирали проби води озера Яворівське (Антипчук & Кіреєва, 2005). Ідентифікацію виділеного штаму пурпурових несіркових бактерій проводили за фізіологічними, морфологічними та біохімічними властивостями, ідентифікацією пігментів, а також на основі аналізу *in silico* нуклеотидної послідовності гена 16S рРНК (Тарабас та ін., 2017в; Тарабас та ін., 2018; Brenner et al., 2005).

Для культивування і дослідження властивостей бактерій *R. yavorovii* IMB В-7620 використовували модифіковане середовище ATCC №1449 (Гудзь та ін., 2011) без  $\text{Na}_2\text{S}$  та  $\text{NaHCO}_3$ . Сумарну ДНК бактерій *R. yavorovii* IMB В-7620 виділяли, використовуючи описану методику (Дзюблик & Горовенко, 2012). Ампліфікацію ДНК фрагментів проводили на ампліфікаторах BioRad T100 й Thermo Pico24. Пошук гомологів виконували з використанням баз даних нуклеотидних послідовностей програми BLAST, що міститься на сервері Національного інституту біотехнологічної інформації (США) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Філогенетичне дерево реконструювали методом максимальної вірогідності за допомогою програмного пакету phylogeny.fr. (Dereeper et al., 2008).

Морфологію клітин досліджуваних бактерій визначали за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії (Thomas & Gemming, 2014; Goldstein et al., 2017). Розділення пігментів проводили за використання вискоефективної рідинної хроматографії. Пігменти визначали за їхніми спектрами поглинання, записаними

за допомогою спектрофотометричного детектора з фотодіодною матрицею згідно з даними літератури (Nelis & De Leenheer, 1989; Frigaard, Larsen & Cox, 1996; Borrego & Garcia-Gil, 1994).

Біомасу бактерій визначали на фотоелектроколориметрі КФК-3 ( $\lambda = 660$  нм, кювета з оптичним шляхом 3 мм). Значення кислотності (рН) і окисно-відновного потенціалу (Еh) культуральної рідини аналізували потенціометричним методом з використанням рН-метра-мільвольтметра рН-150 МА. Для вимірювання рН використовували пористий скляний електрод ЭСК-10603/4, а редокс-потенціалу – вимірювальний платиновий електрод ЭПВ-1 і хлорсрібний електрод порівняння ЭВЛ-1МЗ. Вміст гідросульфід- і сульфід-йонів у пробах визначали фотометрично з використанням *n*-амінодиметиланіліндигідрохлориду на КФК-3 ( $\lambda = 665$  нм,  $l = 30$  мм) (Sugiyama, 2002). Вміст сульфат-йонів визначали турбідиметрично згідно з (Peters et al., 1974). Спектрофотометрично з використанням УФ лампи за довжини хвилі 260 нм визначали вміст сірки (Гудзь та ін., 2014). Вміст тиосульфат-йонів визначали йодометричним методом, в основі якого є реакція:  $2S_2O_3^{2-} + I_2 = S_4O_6^{2-} + 2I^-$ . Для встановлення точки еквівалентності використовували розчин крохмалю як індикатор (Peters et al., 1974). Вміст нітрит-йонів у культуральній рідині визначали спектрофотометричним методом з використанням *n*-нафтилетилендіамін дигідрохлориду. Вміст нітрат-йонів у пробах води визначали після діазотування нітрит-йонів. Як відновник використовували цинковий порошок (Granger et al., 1996). Вміст  $Ca^{2+}$  та  $Mg^{2+}$  визначали титриметрично відповідно до ДСТУ ISO 6059:2003. Аргентометричне визначення вмісту хлоридів проводили згідно з (Набиванець та ін., 2007). Визначення хімічного споживання кисню проводили перманганатним методом (Копілевич та ін., 2015).

Склад газової фази визначали, використовуючи стандартну методику (Berezkin & Drugov, 1991) на газовому хроматографі ЛХМ-8-МД.

Для досліджень екзоелектрогенних властивостей бактерій використовували однокамерний МПЕ. Анодна і катодна камери були розділені протон-обмінною мембраною (Millipore, розмір пор – 0,20 мкм), площа якої становила 44 см<sup>2</sup>. Площа анода – 16 см<sup>2</sup>. Об'єми анодної та катодної камер становили відповідно 50 мл і 250 мл. Як аноліт застосовували бактерії, католітом був 0,1 % розчин  $KMnO_4$ .

Статистичне опрацювання результатів проводили за загальноприйнятими методиками (Петровська, 2022). Для обробки даних використовували пакет програми MS Excel 365. Усі експерименти проводили тричі з трьома паралельними повторами дослідних і контрольних варіантів. Вираховували основні статистичні показники за отриманими даними (середнє значення –  $\bar{x}$ ; стандартну похибку середнього значення *трьох вимірювань* – SD). Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками альтернативних сукупностей даних дослідних і контрольних варіантів використовували ANOVA. Достовірною вважалася різниця за показника достовірності  $p \leq 0,05$  (<https://www.xlstat.com/en/>).



## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

**Фізико-хімічна характеристика води озера Яворівське та чисельність фототрофних бактерій у ній.** Озеро Яворівське (Львівська область, Україна) утворилося на місці кар'єру колишнього сірководобувного підприємства у результаті затоплення. Його водоносний комплекс характеризує високий вміст  $\text{H}_2\text{S}$  і сульфат-іонів. Дослідження й опис мікроорганізмів із такого техногенного середовища, зокрема, фототрофних бактерій, адаптованих до цих умов, є надзвичайно важливим як з теоретичної, так і з практичної точок зору. Фототрофні бактерії, зокрема, пурпурові несіркові бактерії, забезпечують трансформацію неорганічних і органічних сполук у біогеоценозах зі значним антропогенним навантаженням і здатні метаболізувати широкий спектр забруднювачів (Griffin et al., 2007; Adessi et al., 2021). Дослідження кількості фототрофних бактерій і фізико-хімічних характеристик води важливі для визначення ролі цих мікроорганізмів у функціонуванні водного мікробоценозу Яворівського озера. Досліджено фізико-хімічний склад води озера Яворівське на різних глибинах (0–70 м). Кислотність, мінералізація та вміст  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$  і  $\text{NO}_3^-$  на всіх глибинах озера,  $\text{K}^+$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$  та  $\text{NH}_4^+$  на глибинах до 20–50 м виявилися незначними і не перевищували гранично допустимих концентрацій (ГДК). На всіх глибинах вміст  $\text{SO}_4^{2-}$  (913–1530 мг/л) і на глибинах понад 30 м вміст  $\text{H}_2\text{S}$  (30–34 мг/л) значно перевищували ГДК (Тарабас та ін., 2017б). У результаті проведеної роботи визначено кількість фотосинтезувальних несіркових бактерій (ФНСБ) у воді озера Яворівське та воді джерельного типу заповідника Розточчя і продемонстровано, що на глибині 30 м чисельність ФНСБ виявилася найбільшою і у 21,8 раза вищою, порівняно з контролем. Кількість ФСБ була найбільшою на глибинах 50 і 70 м та у 222 і 314 разів вищою від контролю, відповідно (табл. 1).

**Таблиця 1 – Чисельність фототрофних сіркових бактерій і фототрофних несіркових бактерій у воді оз. Яворівське та водойми джерельного типу заповідника Розточчя**

Кількість мікроорганізмів, КУО/мл води				
Глибина відбору проб води, м				Контроль
0	30	50	70	
Фототрофні несіркові бактерії				
$(6,00 \pm 0,02) \times 10^3$	$(1,31 \pm 0,03) \times 10^{5*}$	$(1,13 \pm 0,01) \times 10^{5*}$	$(0,90 \pm 0,02) \times 10^4$	$(6,25 \pm 0,08) \times 10^3$
Фототрофні сіркові бактерії				
$(6,00 \pm 0,02) \times 10^{1*}$	$(1,30 \pm 0,01) \times 10^{3*}$	$(7,00 \pm 0,01) \times 10^{4*}$	$(1,10 \pm 0,01) \times 10^{5*}$	$(3,50 \pm 0,17) \times 10^2$

**Примітки:** ФНСБ – фототрофні несіркові бактерії; ФСБ – фототрофні сіркові бактерії.  $x \pm \text{SD}$ ,  $n = 3$ , \* – вірогідні зміни порівняно з контролем ( $p \leq 0,05$ ); контроль – проби води, відібрані з придонного шару водойми джерельного типу заповідника Розточчя

**Фізіолого-біохімічні властивості й ідентифікація пурпурових несіркових бактерій, виділених з озера Яворівське.** Із води озера Яворівське виділено штам пурпурових несіркових бактерій Ya-2016, який активно метаболізує органічні речовини і неорганічні сполуки Сульфур у та Нітрогену. Виділені пурпурові несіркові бактерії Ya-2016 є рухомими, мають вібриодну форму, за Грамом фарбуються негативно, не утворюють спор, належать до нейтрофільних (оптимальне рН 6,8–7,3), мезофільних (оптимальна температура 27–30 °С) мікроорганізмів. Бактерії ростуть за анаеробних фототрофних і аеробних хемотрофних умов. Після 10-ти діб культивування довжина клітин становить від 1,5 до 1,8 мкм, а ширина – від 0,40 до 0,46 мкм (рис. 1).

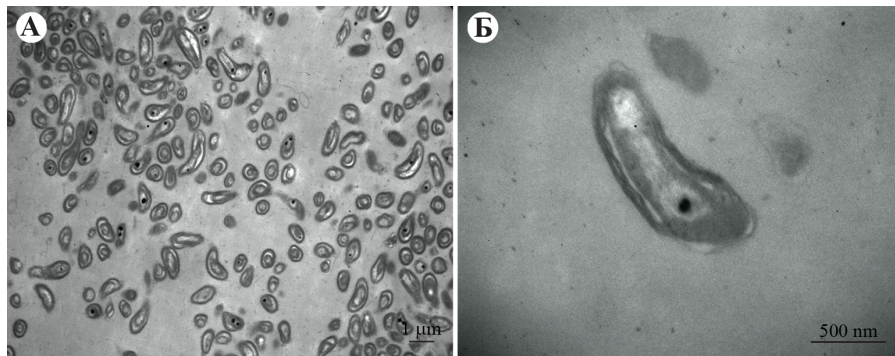


Рис. 1 – Клітини пурпурових несіркових бактерій *Rhodospseudomonas yavorovii* IMB V-7620 (А – електронна мікроскопія,  $\times 3000$ ; Б – електронна мікроскопія,  $\times 19000$ )

За результатами секвенування консервативної ділянки гена 16S рРНК (номер доступу у GenBank OL711631) встановлено, що нуклеотидна послідовність у бактерій штаму Ya-2016 виявляє високу подібність (99 % ідентичних залишків у парному вирівнюванні методом BLASTN) до 16S рРНК бактерій *Rhodospseudomonas* sp. A7, *Rhodospseudomonas* sp. J5-3, *Rhodospseudomonas palustris* DX-1, але виділені бактерії відрізняються від них за деякими фізіолого-біохімічними властивостями (рис. 2).

Результати філогенетичного аналізу демонструють, що жоден зі секвенованих на сьогодні видів цього роду не є достатньо близьким до *Rhodospseudomonas* sp. Ya-2016 на філогенетичному дереві (не лежать на одній кладі), аби стверджувати, що *Rhodospseudomonas* sp. Ya-2016 належить до описаних раніше видів чи штамів. Бактерії штаму Ya-2016 використовують нітрати й сечовину як джерела Нітрогену. Також виділені бактерії Ya-2016 за морфологічними характеристиками відрізняються від усіх описаних видів роду *Rhodospseudomonas* у визначнику Берджі. Встановлено, що бактерії штаму Ya-2016 як основне джерело Карбону можуть використовувати різні органічні сполуки: ацетат, лактат, цитрат, гліцерол, етанол, малат, пептон, капронову кислоту, крохмаль, дріжджовий екстракт, бензоат. Спостерігали незначний ріст у середовищі з пропіонатом, сукцинатом, глюкозою, фруктозою, піруватом. Але ці бактерії не нагромаджували біомасу в середовищах із fumarатом і бутиратом. Вони здатні використовувати сульфат-йони як джерело Сульфур у.

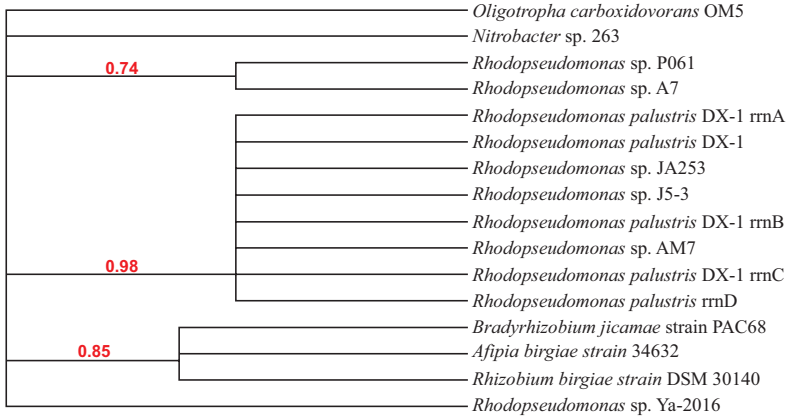


Рис. 2 – Філогенетичне дерево нуклеотидних послідовностей гена 16S рРНК бактерій родини *Bradyrhizobiaceae*, порядку *Rhizobiales*, класу *Alphaproteobacteria*

Досліджувані бактерії ростуть за анаеробних і аеробних умов. Для росту потребують вітаміну  $B_{12}$ . З використанням вискоєфективної рідинної хроматографії в екстрактах пігментів із клітин бактерій штаму Ya-2016 визначено три гомологічні форми бактеріохлорофілу а, які мають максимуми світлопоглинання за 361, 605, 770 нм (рис. 3).

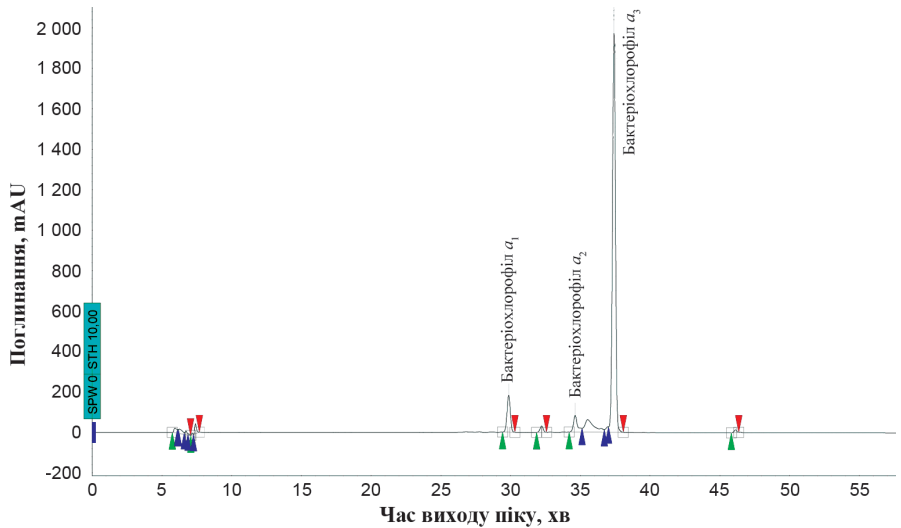


Рис. 3 – Гомологічні форми бактеріохлорофілу а *Rhodopseudomonas yavorovii* ІМВ В-7620 за розділення з використанням вискоєфективної рідинної хроматографії ( $\lambda = 770$  нм)

Під час розділення каротиноїдів ідентифікували лікопін з  $\lambda_{\text{max}} = 446, 473, 504 \text{ nm}$  і ангідрородовібрин з  $\lambda_{\text{max}} = 459, 485, 519 \text{ nm}$  (рис. 4).

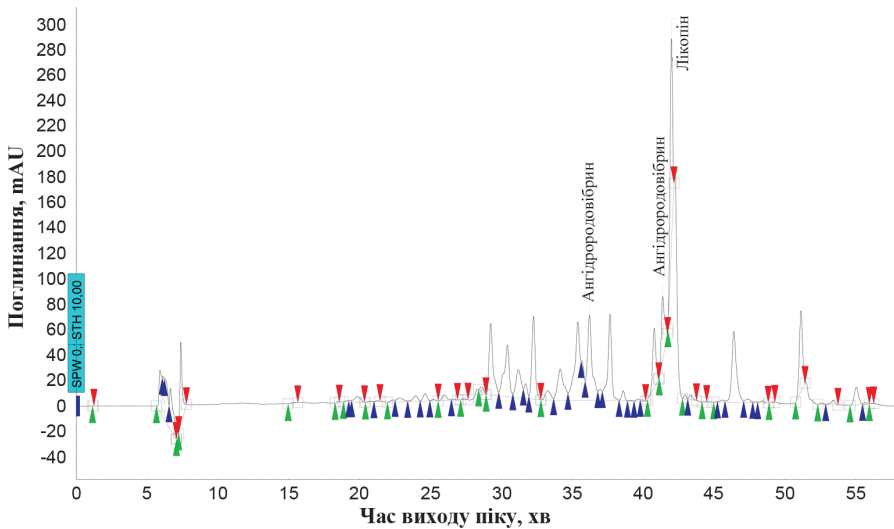


Рис. 4 – Каротиноїди *Rhodospseudomonas yavorovii* IMB В-7620, ідентифіковані з використанням високоефективної рідинної хроматографії ( $\lambda = 474 \text{ nm}$ )

За результатами вищеописаних досліджень ідентифікували бактерії штаму Ya-2016 як представників роду *Rhodospseudomonas*, назвавши його *Rhodospseudomonas yavorovii* IMB В-7620 (свідцтво про депонування штаму бактерій *Rhodospseudomonas yavorovii* Ya-2016 у Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України від 01.08.2017 р.).

**Використання сполук Сульфуру та Нітрогену бактеріями *Rhodospseudomonas yavorovii* IMB В-7620.** Використання відновлених сполук Сульфуру (гідроген сульфід, тиосульфату тощо) та нітрогену (нітритів) як донорів електронів фототрофними пурпуровими несірковими бактеріями, виділеними з води Яворівського озера, раніше не досліджували. У цій роботі вперше показано, що *R. yavorovii* IMB В-7620 використовують відновлені сполуки Сульфуру та Нітрогену як донори електронів. Зниження вмісту сульфід- і тиосульфат-йонів у середовищі культивування свідчить, що виділені та досліджені нами бактерії *R. yavorovii* IMB В-7620 використовують останні як донори електронів у процесі аноксигенного фотосинтезу. Ефективність окиснення 1,4; 2,8; 5,6 мМ сульфід- і тиосульфат-йонів як донорів електронів аноксигенного фотосинтезу бактеріями становила 97,4; 42,6; 18,7 (рис. 5) та 68,8; 28,0; 3,7 % (рис. 6), відповідно.

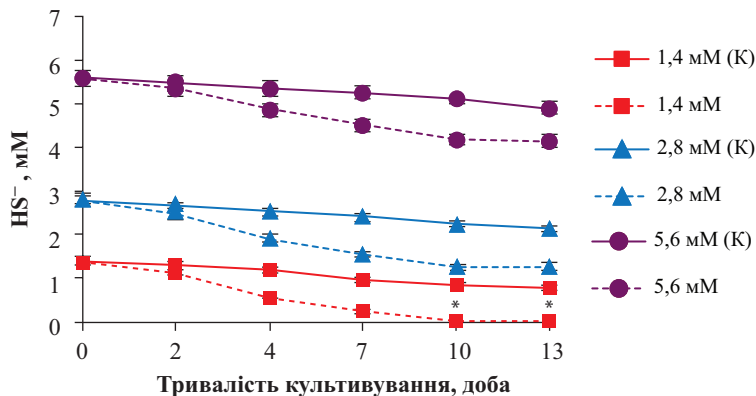


Рис. 5 – Використання сульфід-йонів бактеріями *Rhodopseudomonas yavorovii* IMB B-7620 ( $\bar{x} \pm SD$ ,  $n = 3$ ). Контроль – вміст  $HS^-$  у середовищі з 1,4 мМ  $HS^-$ . \* – вірогідні зміни порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )

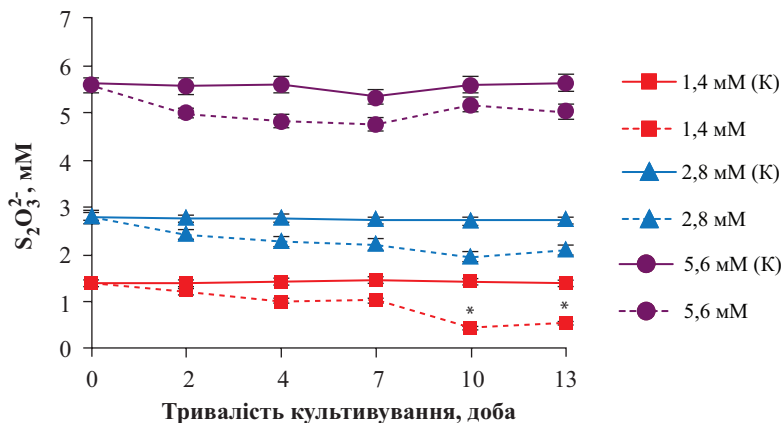


Рис. 6 – Використання тіосульфат-йонів бактеріями *Rhodopseudomonas yavorovii* IMB B-7620 ( $\bar{x} \pm SD$ ,  $n = 3$ ). Контроль – вміст  $S_2O_3^{2-}$  у середовищі з 1,4 мМ  $S_2O_3^{2-}$ . \* – вірогідні зміни порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )

Встановлено, що внаслідок окиснення бактеріями гідроген сульфід та натрій тіосульфату у середовищі нагромаджуються сульфат-іони, а елементарна сірка є проміжним метаболітом у середовищі з  $Na_2S$  (рис. 7; 8).

Відповідно до отриманих у ході експериментальних досліджень результатів можна припустити, що у воді озера Яворівське, крім ПСБ (Мороз та ін., 2017), також ПНСБ, зокрема, *R. yavorovii* IMB B-7620, забезпечують циклічність процесу перетворення сполук Сульфуру.

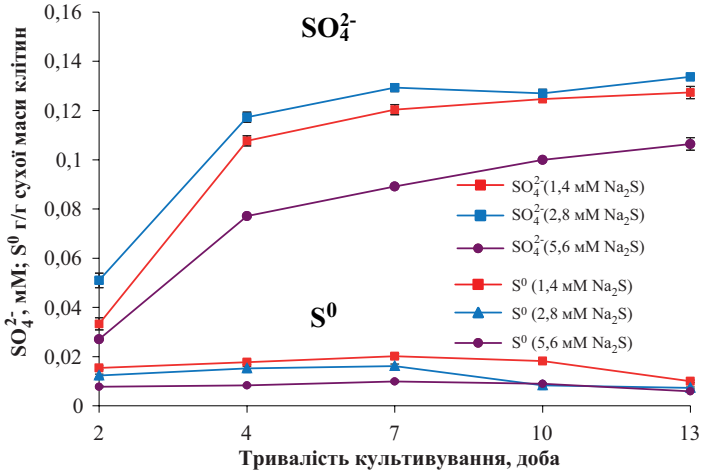


Рис. 7 – Утворення сульфат-іонів і елементної сірки бактеріями *Rhodopseudomonas yavorovii* IMB В-7620 у середовищі з Na<sub>2</sub>S (x±SD, n = 3). Контроль – вміст SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> та S<sup>0</sup> у середовищі з 1,4 мМ HS<sup>-</sup>

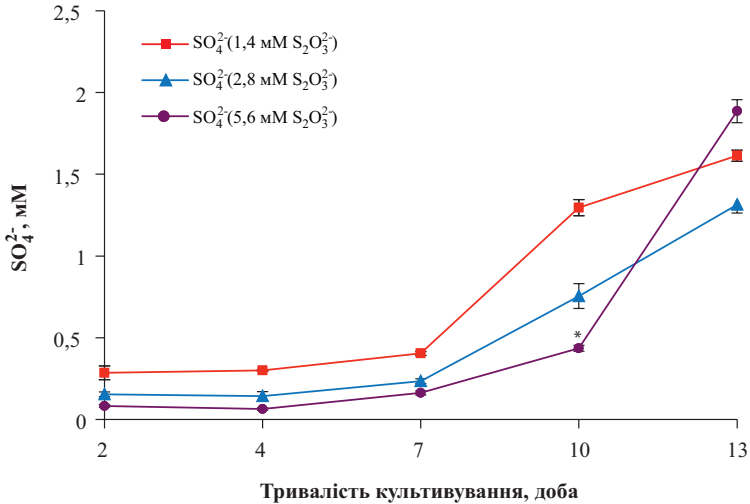


Рис. 8 – Утворення сульфат-іонів бактеріями *Rhodopseudomonas yavorovii* IMB В-7620 у середовищі з Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (x±SD, n = 3). Контроль – вміст сульфат-іонів у середовищі з 1,4 мМ S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>. \* – вірогідні зміни порівняно з контролем (p<0,05)

Анаеробне окиснення нітрит-іонів відбувається лише за участю фототрофів. Описано здатність ПСБ і ПНСБ окиснювати нітрит-іони за анаеробних умов

і освітлення, що супроводжується утворенням нітрат-іонів (Schott et al., 2010; Nemp et al., 2016; Moroz et al., 2021). Тому виділений нами штам тестували на здатність до анаеробного фототрофного окиснення нітрит-іонів. Зниження концентрації нітрит-іонів за концентрації 0,7; 1,4; 2,8 мМ і утворення нітрат-іонів свідчить, що нітрит-іони окиснюються бактеріями до нітрат-іонів у процесі аноксигенного фотосинтезу (рис. 9; 10). У середовищі з 0,7 мМ нітрит-іонів бактерії використовують їх на 100 %, а за збільшення концентрації до 1,4 мМ – на 93,67 % на 10-ту добу культивування. Бактерії окиснюють нітрит-іони упродовж 13-ти діб культивування за їхньої вихідної концентрації 2,8 мМ на 86,13 % (рис. 9).

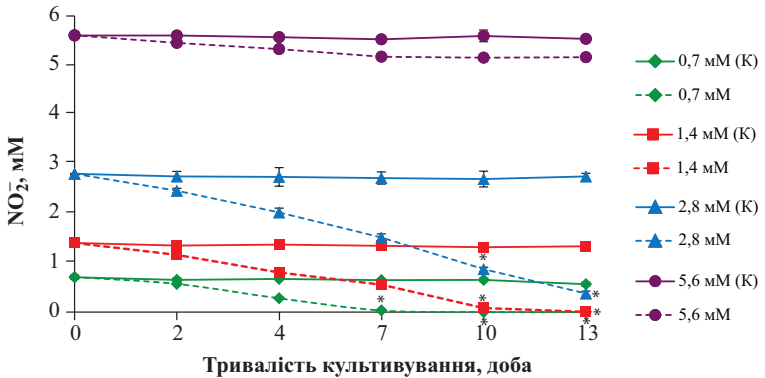


Рис. 9 – Використання  $\text{NO}_2^-$  бактеріями *Rhodopseudomonas yavorovii* IMB B-7620 за росту в середовищі з різним вмістом  $\text{NaNO}_2$  ( $\bar{x} \pm \text{SD}$ ,  $n = 3$ ). Контроль (К) – середовище без клітин з 0,7 мМ  $\text{NO}_2^-$ ; \* – вірогідні зміни порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )

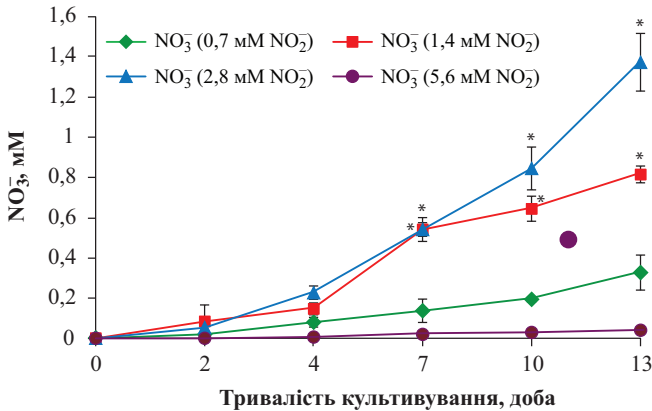


Рис. 10 – Утворення нітрат-іонів бактеріями *Rhodopseudomonas yavorovii* IMB B-7620 у середовищах з різним вмістом  $\text{NaNO}_2$  ( $\bar{x} \pm \text{SD}$ ,  $n = 3$ ). Контроль – вміст нітрат-іонів у середовищі з 0,7 мМ  $\text{NO}_2^-$ ; \* – вірогідні зміни порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )

За внесення вищих концентрацій нітрит-йонів у середовище культивування використання їх бактеріями *R. yavorovii* ІМВ В-7620 і утворення нітрат-йонів було неповним. Можливо, це пов'язано з тим, що досліджувані мікроорганізми використовують нітрат-іони як джерело Нітрогену за умов освітлення.

**Продуктування водню бактеріями *Rhodopseudomonas yavorovii* ІМВ В-7620.** Виявлено здатність бактерій *R. yavorovii* ІМВВ-7620 продукувати водень у середовищах зі сукцинатом, натрій цитратом, малатом, глюкозою та крохмалем як джерелами Карбону і донорами електронів. За внесення в середовище культивування натрій ацетату досліджувані мікроорганізми не продукують водень. Процес окиснення органічних сполук супроводжується утворенням водню. Максимальну концентрацію водню у складі газової фази (21,26 %) визначили на 14-ту добу культивування в середовищі з натрій цитратом (36 мМ) (табл. 2). Тому натрій цитрат було обрано для подальших досліджень продукування водню *R. yavorovii* ІМВВ-7620 за його вищих концентрацій у середовищі.

**Таблиця 2 – Продуктування водню бактеріями *Rhodopseudomonas yavorovii* ІМВ В-7620 за використання різних джерел Карбону та донорів електронів ( $x \pm SD$ ,  $n = 3$ )**

Джерело Карбону (36 мМ)	Натрій ацетат	Малат	Сукцинат	Глюкоза	Крохмаль	Натрій цитрат	
Біомаса, г/л	7	0,77±0,03	1,12±0,03	0,44±0,02	0,70±0,08	1,06±0,08	0,96±0,02
	14	1,59±0,07	2,6±0,04	0,66±0,03	0,80±0,03	1,04±0,01	2,06±0,02
Н <sub>2</sub> , %	7	0,001±0,0001	2,15±0,03	0,008±0,0001	3,31±0,01	10,10±0,01	6,02±0,01
	14	0	7,64±0,04	0,002±0,0001	1,92±0,01	13,87±0,06	21,26±0,08
рН	7	7,01	6,22±0,01	5,31±0,01	4,68±0,04	5,1±0,03	6,91±0,02
	14	7,6	5,87±0,01	5,28±0,02	4,53±0,03	4,97±0,04	6,68±0,03
Ен, мВ	7	+39	+127±0,07	+263±0,05	+240±0,04	-160±0,03	-79±0,05
	14	+68	+173±0,08	+250±0,06	+230±0,09	+340±0,06	+230±0,04

Максимальний вміст Н<sub>2</sub> у газовій фазі за росту бактерій у середовищі з натрій цитратом за концентрації 60 мМ і з NH<sub>4</sub><sup>+</sup> на 7-му добу культивування становила 27,83 % (рис. 11) та 35,69 % за росту в середовищі з натрій цитратом за концентрації 90 мМ і з NH<sub>4</sub><sup>+</sup> на 10-ту добу культивування (рис. 12).



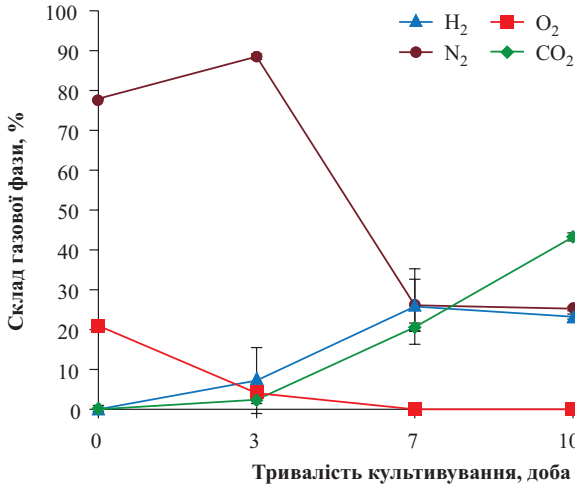


Рис. 11 – Зміни складу газової фази за фотоферментації бактеріями *Rhodospseudomonas yavorovii* ІМВ В-7620 натрій цитрату за концентрації 60 мМ у середовищі з  $\text{NH}_4^+$  ( $x \pm \text{SD}$ ,  $n = 3$ )

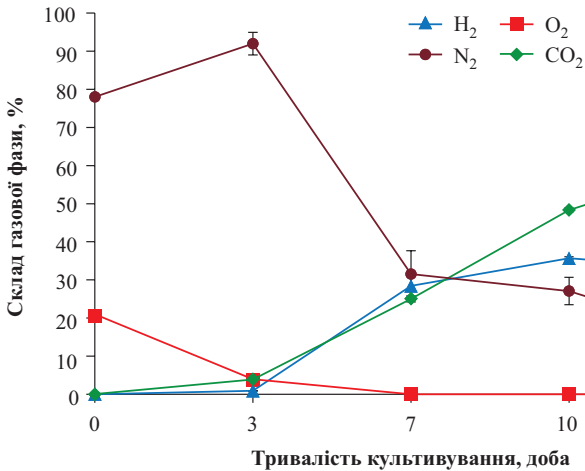


Рис. 12 – Зміни складу газової фази за фотоферментації бактеріями *Rhodospseudomonas yavorovii* ІМВ В-7620 натрій цитрату за концентрації 90 мМ у середовищі з  $\text{NH}_4^+$  ( $x \pm \text{SD}$ ,  $n = 3$ )

Визначення мас-балансу фотоферментації натрій цитрату дає змогу розрахувати вихід  $\text{H}_2$ . Сумарний об'єм водню за росту досліджуваних мікроорганізмів

у середовищі з 90 мМ натрій цитрату і  $\text{NH}_4^+$  становив 25,54 мл  $\text{H}_2$  і виявився у 1,5 раза більшим від об'єму утвореного  $\text{H}_2$  за росту бактерій у середовищі з 60 мМ натрій цитрату з  $\text{NH}_4^+$  (рис. 13).

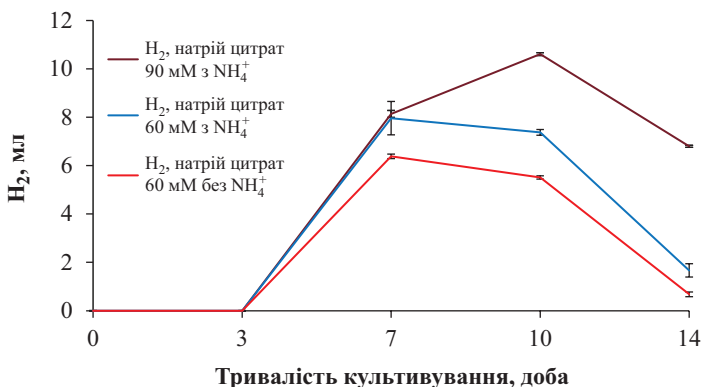


Рис. 13 – Утворення водню під час фотоферментації бактеріями *Rhodospseudomonas yavorovii* ІМВ В-7620 60 та 90 мМ натрій цитрату в середовищі з  $\text{NH}_4^+$  і 60 мМ натрій цитрату в середовищі без  $\text{NH}_4^+$  ( $\bar{x} \pm \text{SD}$ ,  $n = 3$ )

Отже, максимальний вихід водню спостерігається за росту *R. yavorovii* ІМВ В-7620 у разі додавання натрій цитрату за концентрації 90 мМ та 1,9 мМ  $\text{NH}_4^+$  у середовище культивування. Виділення та вивчення типових штамів  $\text{H}_2$ -утворювальних фототрофних бактерій є необхідним для спрямованої регуляції утворення  $\text{H}_2$  у технологічних процесах, які передбачають використання комбінації нефотосинтезувальних і фотосинтезувальних бактерій у гібридній системі, що може збільшити вихід водню.

**Біоремедіація стічних вод за використання фототрофних несіркових бактерій *Rhodospseudomonas yavorovii* ІМВ В-7620.** Очищення доквілля від забруднювачів біологічними методами за використання метаболічної активності мікроорганізмів є ефективною, економічною, рентабельною та універсальною альтернативою фізико-хімічним методам.

Для дослідження нагромадження біомаси *R. yavorovii* ІМВ В-7620 забруднені води дріжджового заводу та фільтрату відстійника № 3 Львівського полігону твердих побутових відходів (ЛПТТВ) розводили у 10, 30, 50, 100 разів. Найбільшу біомасу бактерії нагромаджували під час росту у стічній воді дріжджового заводу, розведеної у 10 разів. До 14-ї доби культивування біомаса бактерій становила 2,2 г/л і в подальшому залишалася незмінною. Збільшення розведення стічної води до 30, 50 і 100 разів призводило до зниження нагромадження біомаси бактеріями *R. yavorovii* ІМВ В-7620 на 30,5; 29,6; 69,1 %, відповідно на 21-шу добу культивування (рис. 14).

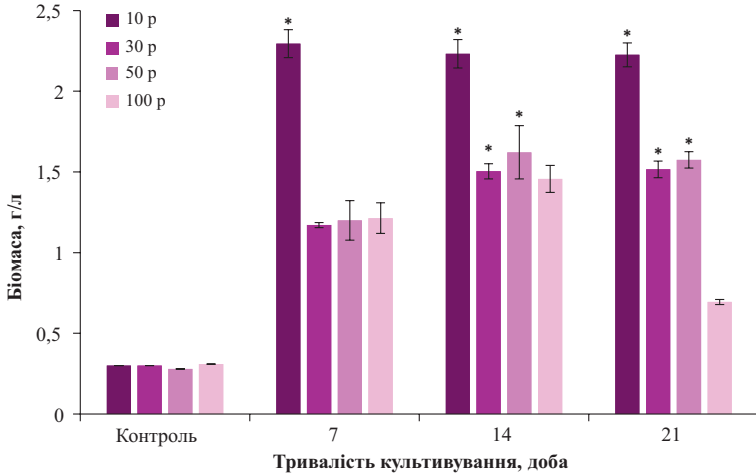


Рис. 14 – Нагромадження біомаси бактеріями *Rhodopseudomonas yavorovii* ІМВ В-7620 під час росту у стічній воді дріжджового заводу. Контроль – біомаса клітин до початку культивування ( $\bar{x} \pm SD$ ,  $n = 3$ ), \* – вірогідні зміни порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )

На 14-ту добу культивування бактерій у воді фільтрату відстійника № 3 ЛПТПВ, розведений у 10 разів, біомаса *R. yavorovii* ІМВ В-7620 сягала 1,1 г/л і була на 26,4 % більшою, ніж біомаса бактерій, культивованих у цій воді, яку розвели у 30 разів. Збільшення розведення води до 50 та 100 разів спричинило зниження нагромадження біомаси досліджуваних мікроорганізмів (рис. 15).

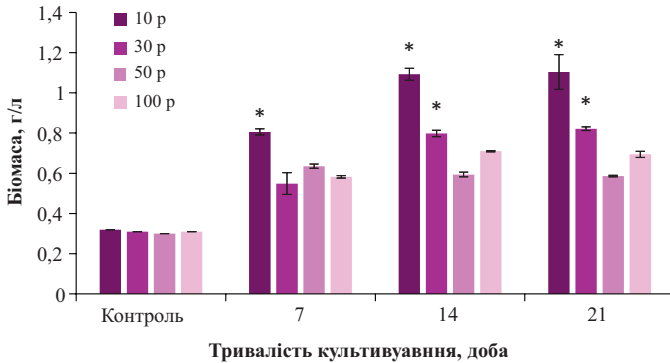


Рис. 15 – Нагромадження біомаси бактеріями *Rhodopseudomonas yavorovii* ІМВ В-7620 за росту у воді фільтрату відстійника № 3 Львівського полігону твердих побутових відходів. Контроль – біомаса клітин до початку культивування ( $\bar{x} \pm SD$ ,  $n=3$ ), \* – вірогідні зміни порівняно з контролем ( $p < 0,05$ )

Отже, бактерії *R. yavorovii* ІМВ В-7620 найкраще нагромаджують біомасу у досліджених стічних водах, розведених у 10 разів.

Культивування бактерій у цій воді спричиняло зменшення вмісту  $\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{Mg}^{2+}$  упродовж 21-ї доби. Під час культивування бактерій *R. yavorovii* ІМВ В-7620 у стічній воді дріжджового заводу на 21-шу добу вміст нітрит- і нітрат-йонів знижувався на 52,7 і 52,7 %, відповідно, вміст сульфат-йонів – на 67,0 %, вміст  $\text{Cl}^-$  – на 40,1 % (табл. 3). Концентрація гідросульфід-йонів знизилася на 94,7 % за росту досліджуваних мікроорганізмів у стічній воді дріжджового заводу (табл. 3). За значеннями хімічного споживання кисню (ХСК) розведеної стічної води дріжджового заводу перед і після культивування *R. yavorovii* ІМВ В-7620 визначено, що ефективність окиснення органічних сполук у ній бактеріями *R. yavorovii* ІМВ В-7620 становила 42,3 % на 21-шу добу (табл. 3).

**Таблиця 3 – Зміни хімічного складу стічної води дріжджового заводу під час культивування *Rhodopseudomonas yavorovii* ІМВ В-7620**

Показник	Вміст, мг/л				
	ГДК**	Контроль	Контроль + <i>R. yavorovii</i> ІМВ В-7620		
			Тривалість культивування, доба		
			7	14	21
pH	6,5-9,0	7,00±0,10	7,30±0,01	7,70±0,01	8,00±0,02
Fe заг.	0,5	67,0±0,05	52,0±0,01	37,20±0,02	14,20±0,04*
$\text{Ca}^{2+}$	46,0	6012,0±0,04	5980,0±0,01	5210,40±0,06	5020,80±0,03
$\text{Mg}^{2+}$	50,0	7291,20±0,04	4131,70±0,05*	1944,30±0,04*	243,0±0,02*
$\text{NO}_3^-$	12,5	2711,30±0,04	1484,60±0,05*	1345,20±0,03*	1282,50±0,04*
$\text{NO}_2^-$	1,5	2011,60±0,05	1101,50±0,01*	998,10±0,02*	951,50±0,02*
$\text{SO}_4^{2-}$	500,0	3334,20±0,02	1927,90±0,04*	1570,40±0,03*	1100,10±0,03*
$\text{Cl}^-$	300,0	10344,80±0,01	8620,70±0,03	6896,50±0,04	6200,0±0,04
$\text{HS}^-$	1,0	21473,30±0,02	12266,30±0,02*	2851,90±0,05*	1138,80±0,03*
ХСК	500,0	5200,0±0,03	4000,0±0,02	3800,0±0,01*	3000,0±0,01

**Примітки:** ХСК – хімічне споживання кисню;  $\bar{x} \pm \text{SD}$ ,  $n=3$ , \* – вірогідні зміни порівняно з контролем ( $p \leq 0,05$ ); контроль – розведена у 10 разів стічна вода; \*\* – <https://omr.gov.ua/ua/projects/3776>

Під час культивування *R. yavorovii* ІМВ В-7620 у воді фільтрату відстійника № 3 ЛПТПВ, розведеної у 10 разів, показник pH змінювався від 7,00 до 6,50

(табл. 4). У процесі життєдіяльності мікроорганізмів на 21-шу добу культивування відбувалося зниження у воді фільтрату вмісту загального Fe, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Cl<sup>-</sup>, HS<sup>-</sup> на 100,0; 97,1; 99,7; 100,0; 100,0; 99,8; 98,1 %, відповідно, а ефективність окиснення органічних сполук становила 65,6 % (табл. 4).

**Таблиця 4 – Зміни хімічного складу фільтрату відстійника № 3 Львівського полігону твердих побутових відходів під час культивування бактерій *Rhodopseudomonas yavorovii* IMB В-7620**

Показник	Вміст, мг/л				
	ГДК**	Контроль	Контроль + <i>R. yavorovii</i> IMB В-7620		
			Доба культивування		
			7	14	21
pH	6,5–9,0	7,00±0,01	6,95±0,01	6,75±0,01	6,50±0,02
Fe загальний	0,5	2,40±0,01	1,40±0,01	1,20±0,02*	0*
Ca <sup>2+</sup>	46,0	480,0±0,04	320,0±0,01	102,40±0,06*	13,80±0,03
Mg <sup>2+</sup>	50,0	315,20±0,04	125,70±0,05*	75,30±0,04	1,0±0,02*
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	12,5	1,20±0,04	0,50±0,05*	0,00±0,02*	0*
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	1,5	0,34±0,05	0*	0*	0*
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	500,0	160,0±0,02	92,0±0,04	23,0±0,03*	0,30±0,03*
Cl <sup>-</sup>	300,0	549,40±0,01	311,20±0,03	101,40±0,04*	10,20±0,04*
HS <sup>-</sup>	1,0	81,0±0,02	25,30±0,02*	7,90±0,05*	0,80±0,03
XСК	500,0	800,00±0,03	500,0±0,02	350,0±0,01*	275,0±0,01*

**Примітки:** x±SD, n = 3, \* – вірогідні зміни порівняно з контролем (p≤0,05); контроль – розведений у 10 разів фільтрат; \*\* – <https://omr.gov.ua/ua/projects/3776>

Отримані результати можуть стати основою для розроблення ефективних біотехнологій очищення стічних вод від сполук Хлору, Феруму, Нітрогену, Сульфуру й органічних речовин за участю бактерій *R. yavorovii* IMB В-7620.

**Екзоелектрогенні властивості *Rhodopseudomonas yavorovii* IMB В-7620.** Бактерії, що генерують електричний струм в МПЕ, зацікавили широке коло науковців. У цій роботі ми повідомляємо про те, що фототрофні ПНСБ *R. yavorovii* IMB В-7620 використовують натрій цитрат за концентрацій 42; 60; 90 мМ, що робить їх дуже перспективними для вивчення генерування електричного струму в однокамерному МПЕ.

За росту *R. yavorovii* ІМВ В-7620 у модельних середовищах із нітрит- і сульфід-іонами бактерії нагромаджували незначну біомасу. Найбільше нагромадження біомаси досліджуваними мікроорганізмами (рис. 14) й активне використання низки неорганічних і органічних субстратів виявили у розведеній стічній воді дріжджового заводу (табл. 3). Тому здатність до генерування електричного струму досліджуваними мікроорганізмами вивчали за росту в цій воді. Встановлено, що *R. yavorovii* ІМВ В-7620 генерували електричний струм з максимальною густиною потужності МПЕ (1463 мВт/м<sup>2</sup>) за росту в розведеній у 10 разів стічній воді дріжджового заводу (рис. 16).

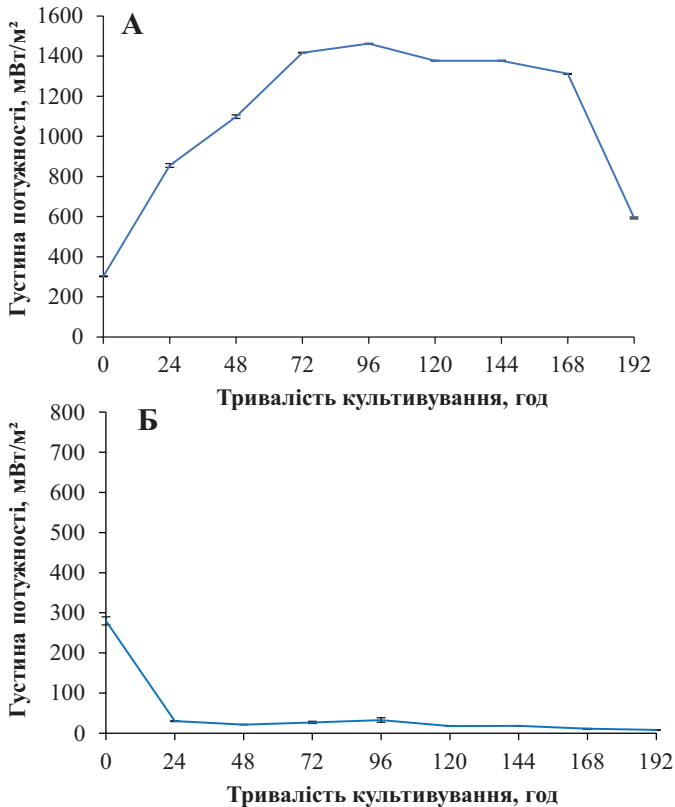


Рис. 16 – Густина потужності мікробного паливного елемента впродовж культивування *Rhodospseudomonas yavorovii* ІМВ В-7620 за внесення розведеної в 10 разів стічної води дріжджового заводу в анодну камеру,  $\bar{x} \pm SD$ ,  $n=3$  (А). Дані подано з урахуванням густини потужності контрольного дослідження за внесення розведеної в 10 разів стічної води дріжджового заводу в анодну камеру за відсутності бактерій,  $\bar{x} \pm SD$ ,  $n = 3$  (Б)

Отримані результати демонструють, що бактерії *R. yavorovii* IMB B-7620 можуть ефективно генерувати електричний струм в однокамерному МПЕ за росту як на модельному субстраті, так і на стічних водах із комплексним забрудненням.

На основі одержаних експериментальних даних пропонуємо узагальнену схему (рис. 17).

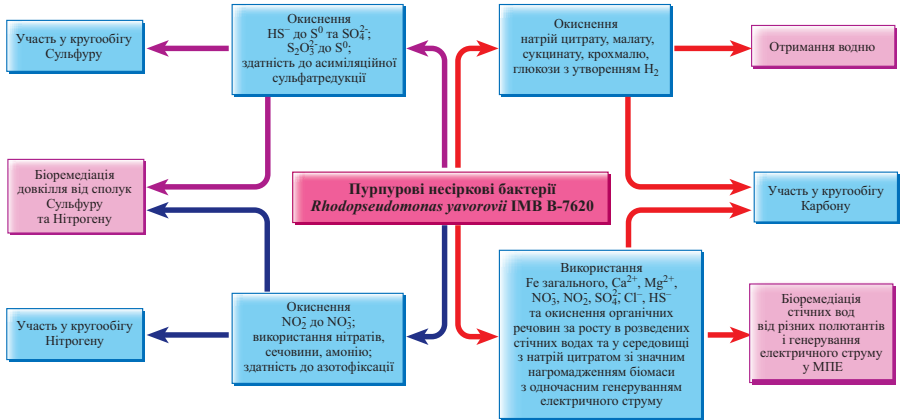


Рис. 17. – Фізіолого-біохімічні властивості *R. yavorovii* IMB B-7620 та можливість їхнього використання у біотехнологіях очищення стічних вод для продукування водню і генерування електричного струму

Схема відображає деякі фізіолого-біохімічні властивості *R. yavorovii* IMB B-7620 і можливість використання їх у біотехнологіях очищення стічних вод від органічних та неорганічних сполук, а також перспективи використання цих мікроорганізмів для продукування водню, генерування електричного струму в МПЕ та як джерела протеїнів і пігментів.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі досліджено закономірності використання сульфід-, тіосульфат- і нітрит-йонів у модельному середовищі та сульфід- і нітрит-йонів у стічних водах фототрофними пурпуровими несірковими бактеріями *R. yavorovii* IMB B-7620, виділеними з техногенно створеного озера Яворівське, та встановлено здатність цих бактерій генерувати електричний струм і продукувати водень за різних умов культивування. Основні результати проведених досліджень представлено у таких висновках:

1. Визначення чисельності фототрофних пурпурових бактерій продемонструвало, що фотосинтезувальні несіркові бактерії найінтенсивніше розвиваються на межі окисненної й аноксигеної зон, оскільки здатні рости як за аеробних, так і за анаеробних умов. Використовуючи кисень як кінцевий акцептор електронів, вони забезпечують кращі умови для розвитку фотосинтезувальних сіркових бактерій, чисельність яких є вищою у більш глибоких шарах водойми. Значне перевищення у воді озера Яворівське на деяких глибинах ГДК сульфат- і гідроген сульфід-йонів сприяє росту чисельності фототрофних пурпурових бактерій.
2. За морфологічними, фізіологічними, біохімічними властивостями, пігментним складом і за результатами секвенування нуклеотидної послідовності гена 16S рРНК виділений із мікробного угруповання води озера Яворівське штамп пурпурових несіркових бактерій ідентифіковано як *R. yavorovii* IMB B-7620.
3. Експериментально підтверджено здатність до використання сульфід-, тіосульфат- і нітрит-йонів бактеріями *R. yavorovii* IMB B-7620 у модельних середовищах та стічних водах. Встановлення здатності до використання нітрит-йонів як донорів електронів аноксигеного фотосинтезу дає змогу зробити висновок щодо ймовірного впливу фотоокиснення нітрит-йонів на глобальний цикл Нітрогену.
4. Встановлено метаболічну здатність до продукування водню бактеріями *R. yavorovii* IMB B-7620 за використання сукцинату, натрій цитрату, малату, глюкози, крохмалю як джерел Карбону й енергії. На основі отриманих кількісних параметрів утворення газу розраховано, що цей мікроорганізм протягом 7 діб утворює 1,1 л  $H_2$  за фотоферментації 1 кг сухої маси натрій цитрату.
5. Найбільшу біомасу *R. yavorovii* IMB B-7620 нагромаджують за росту у стічних водах. Встановлено здатність бактерій *R. yavorovii* генерувати електричний струм. За таких умов культивування максимальна густина потужності мікробного паливного елемента є в 1,6 раза вищою, ніж за росту *R. yavorovii* IMB B-7620 у модельних середовищах із натрій цитратом.



**СПИСОК ПРАЦЬ ЗДОБУВАЧА,  
ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ  
(\* – особистий внесок здобувача)**

1. **Тарабас, О. В.**, Гнатуш, С. О., Мороз, О. М., Василечко, В. О., Гришук, Г. В., Звір, Г. І., & Комплікевич, С. Я. (2017а). Використання сульфід- та тіосульфат-іонів пурпуровими несірковими бактеріями *Rhodopseudomonas yavorovii*. *Biosystems Diversity*, 25(3), 181–185. <https://doi.org/10.15421/011727> (\*проведено дослідження закономірностей окиснення сульфід- і тіосульфат-іонів бактеріями *Rhodopseudomonas yavorovii* Ya-2016, участь у написанні й оформленні публікації).
2. **Tarabas, O. V.**, Hnatush, S. O., & Moroz, O. M. (2019). The usage of nitrogen compounds by purple non-sulfur bacteria of the *Rhodopseudomonas* genus. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 10(1), 83–86. <https://doi.org/10.15421/021913> (\*проведено дослідження закономірностей використання нітрит-іонів, участь у написанні й оформленні публікації).
3. **Тарабас, О.**, Мороз, О., Гнатуш, С., Яворська, Г., Звір, Г., & Ковальчук, М. (2017б). Еколого-трофічні групи мікроорганізмів води озера Яворівське. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, (76), 166–178. <http://dx.doi.org/10.30970/vlubs.2017.76.21> (\*проведено дослідження фізико-хімічних властивостей води озера Яворівське та водойми заповідника Розточчя, визначено чисельність мікроорганізмів різних груп, участь у написанні й оформленні публікації).
4. **Тарабас, О.**, Гнатуш, С., Осташ, Б., Мутенко, Г., & Кошла, О. (2017в). Ідентифікація пурпурових несіркових бактерій *Rhodopseudomonas* sp. Ya-2016. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, (75), 140–145. <http://dx.doi.org/10.30970/vlubs.2017.75.15> (\*проведено дослідження морфо-фізіологічних характеристик бактерій, участь у виділенні сумарної ДНК та проведенні ПЛР, у написанні й оформленні публікації).
5. **Тарабас, О. В.**, Гнатуш, С. О., Галушка, А. А., & Мороз, О. М. (2018). Пігменти *Rhodopseudomonas yavorovii* ІМВ В-7620. *Мікробіологія і біотехнологія*, 1(41), 57–65. [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2018.1\(41\).120468](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2018.1(41).120468) (\*отримала зразки пігментів клітин, участь у їхній ідентифікації, у написанні й оформленні публікації).
6. **Тарабас, О. В.**, Гнатуш, С. О., Мороз, О. М., Ковальчук, М. М. (2019). Біоремедіація стічних вод за використання фототрофічних несіркових бактерій *Rhodopseudomonas yavorovii* ІМВ В-7620. *Екологія та ноосферологія*, 30(2), 63–67. <https://doi.org/10.15421/03193002> (\*проведено дослідження нагромадження біомаси бактеріями за росту у стічних водах, деяких хімічних характеристик цих вод, участь у написанні й оформленні публікації).
7. **Tarabas, O. V.**, Hnatush, S. O., Tashyrev, O. V., Novorukha, V. M., Navryliuk, O. A., Moroz, O. M., & Halushka, A. A. (2021). Production of hydrogen by purple non-

- sulfur bacteria *Rhodopseudomonas yavorovii* IMV B-7620. *Mikrobiologichnij Zhurnal*, 83(5), 19–29. <https://doi.org/10.15407/microbiolj83.05.019> (\*проведено дослідження нагромадження біомаси бактеріями за росту в середовищах із різними органічними сполуками і визначення окисно-відновного потенціалу та рН, участь у визначенні вмісту водню у складі газової фази, вмісту органічних кислот у культуральній рідині, у написанні й оформленні публікації).
8. **Тарабас, О. В.**, Гнатуш, С. О., Мороз, О. М., Осташ, Б. О. (2017). Свідоцтво про депонування штаму бактерій *Rhodopseudomonas yavorovii* Ya-2016 у Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України з наданням реєстраційного номеру ІМВ В-7620.
  9. Гнатуш, С. О., **Тарабас, О. В.**, Василів, О. М., Масловська, О. Д., Мороз, О. М. Пат. 132187 Україна, МПК Н01М 8/00; Н01М 8/16; Н01М 8/22. Спосіб одержання електричного струму у мікробному паливному елементі. Заявник і власник Львівський національний університет імені Івана Франка. № u201809830; заявл. 02.10.2018; опубл. 11.02.2019, Бюл. № 3.
  10. **Тарабас, О. В.**, Гнатуш, С. О. Оптимізація умов культивування пурпурових фототрофних бактерій. *Молодь і поступ біології: XII Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів* (Львів, 19–21 квітня 2016 р.). Львів, 2016. С. 230–231.
  11. **Тарабас, О. В.**, Гнатуш, С. О., Мороз, О. М. Використання донорів електронів пурпуровими фототрофними сіркобактеріями. *Досягнення та перспективи розвитку мікробіології: Міжнародна наукова конференція* (Львів, 12–14 жовтня 2016 р.). Львів: СПОЛОМ, 2016. С. 63.
  12. Шегинська, М. В., Мороз, О. М., Звір, Г. І., **Тарабас, О. В.**, Гнатуш С. О. Утилізація гідроген сульфід у фототрофними сіркобактеріями за різних його концентрацій у середовищі. *Молодь і поступ біології: XII Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів* (Львів, 19–21 квітня 2016 р.). Львів, 2016. С. 229–230.
  13. **Тарабас, О.**, Гнатуш, С., Мороз, О., Комплікевич, С., Захарко, С. Використання гідроген сульфід у пурпуровими несірковими бактеріями *Rhodopseudomonas* sp. Ya-2016. *Молодь і поступ біології: XIII Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів* (Львів, 25–27 квітня 2017 р.). Львів, 2017. С. 198–199.
  14. **Тарабас, О. В.**, Гнатуш, С. О., Осташ, Б. О., Мороз, О. М., Мутенко, Г. В., Іжовська, І. М. Визначення чутливості бактерій *Rhodopseudomonas* sp. Ya-2016 до антибіотиків. *XV з'їзд Товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського* (Одеса, 11–15 вересня 2017 р.). Одеса, 2017. С.150.
  15. **Tarabas, O.**, Moroz, O., Hnatush, S., Yavorska, G., Zvir, G., Borsukevych, B., Izhovska, I. Ecological trophic groups of microorganisms of Yavorivske lake water. *7<sup>th</sup> International Weigl Conference* (Lviv, 2017 September 26–29). Lviv, 2017. P.150.
  16. **Tarabas, O.**, Hnatush, S., Govorukha, V., Tashyrev, O., Moroz, O. Production of molecular hydrogen by purple non-sulfur bacteria *Rhodopseudomonas yavorovii*

- IMB B-7620. 7<sup>th</sup> International Weigl Conference (Lviv, 2017 September 26–29). Lviv, 2017. P. 188.
17. Комплікевич, С., **Тарабас, О.**, Верига, Л., Василів, О., Іжовська, І. Ріст бактерій *Rhodopseudomonas yavorovii* IMB B-7620 за впливу ферум (III) цитрату. *Біологія: від молекули до біосфери*: XI Міжнародна конференція молодих учених (Харків, 29 листопада – 1 грудня 2017 р.). Харків, 2017. С.79.
  18. Верига, Л., **Тарабас, О.**, Мороз, О., Звір, Г., Масловська, О., Комплікевич, С. Фототрофні бактерії води озера Яворівське. *Молодь і поступ біології*: XIV Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів (Львів, 10–12 квітня 2018 р.). Львів, 2018. С. 230–231.
  19. Гордій, Г., Павлюх, Х., Мороз, О., Яворська, Г., **Тарабас, О.** Сульфат- та сірко-відновлювальні бактерії води озера Яворівське. *Молодь і поступ біології*: XIV Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів (Львів, 10–12 квітня 2018 р.). Львів, 2018. С. 233.
  20. Горошок, Х., Василів, О., **Тарабас, О.**, Гнатуш, С. *Desulfuromonas acetoxidans* IMB B-7384 та *Rhodopseudomonas yavorovii* IMB B-7620 як анодні біокаталізатори однокамерної біоелектрохімічної системи. *Молодь і поступ біології*: XIV Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів (Львів, 10–12 квітня 2018 р.). Львів, 2018. С. 233–234.
  21. Кацюба, А., Мороз, О., Яворська, Г., **Тарабас, О.** Олігонітрофільні та нітрифікувальні бактерії води озера Яворівське. *Молодь і поступ біології*: XIV Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів (Львів, 10–12 квітня 2018 р.). Львів, 2018. С. 240–241.
  22. Комплікевич, С., **Тарабас, О.**, Гнатуш, С. Використання ферум (III) цитрату бактеріями *Rhodopseudomonas yavorovii* IMB B-7620. *Молодь і поступ біології*: XIV Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів (Львів, 10–12 квітня 2018 р.). Львів, 2018. С. 243–244.
  23. Павлишин, І., Мороз, О., **Тарабас, О.**, Борсукевич, Б. Сірководневодні та целюлозоруйнівні бактерії води озера Яворівське. *Молодь і поступ біології*: XIV Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів (Львів, 10–12 квітня 2018 р.). Львів, 2018. С. 247–248.
  24. Пастух, Н., Мороз, О., Яворська, Г., **Тарабас, О.** Чисельність актинобактерій у воді озера Яворівське. *Молодь і поступ біології*: XIV Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів (Львів, 10–12 квітня 2018 р.). Львів, 2018. С. 250–251.
  25. Тиндик, І., **Тарабас, О.**, Мороз, О., Звір, Г. Денітрифікувальні бактерії і ціанобактерії води озера Яворівське. *Молодь і поступ біології*: XIV Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів (Львів, 10–12 квітня 2018 р.). Львів, 2018. С. 257–258.
  26. Комплікевич, С., **Тарабас, О.**, Верига, Л., Масловська, О., Гнатуш, С. Використання ферум (III) цитрату бактеріями *Rhodopseudomonas yavorovii*

- ІМВ В-7620 упродовж культивування та іммобілізованими клітинами. *Шевченківська весна: досягнення біологічної науки. Bioscience advances: XVI* Міжнародна наукова конференція студентів та молодих вчених (Київ, 24–27 квітня 2018 р.). Київ, 2018. С. 95–96.
27. **Tarabas, O.**, Hnatysh, S., Vasylyv, O., Maslovska, O., Moroz, O. Electricity generation by *Rhodopseudomonas yavorovii* IMB В-7620. *International Conference: “Advances in Microbiology and Biotechnology”* (Lviv, 2018, October 29–31). Lviv, 2018. P.120.

## АНОТАЦІЯ

**Тарабас О. В. Перетворення сполук Сульфуру та Нітрогену фототрофними бактеріями, виділеними з техногенно зміненого середовища.** – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія. – Інститут біології клітини НАН України; Львів, 2023.

У дисертаційній роботі досліджено закономірності використання сульфід-, тиосульфат- і нітрит-йонів у модельному середовищі та сульфід- і нітрит-йонів у стічних водах фототрофними пурпуровими несірковими бактеріями *R. yavorovii* IMB В-7620, виділеними з техногенно створеного озера Яворівське, та встановлено здатність цих бактерій генерувати електричний струм і продукувати водень за різних умов культивування.

Уперше визначено кількість фотосинтезувальних несіркових бактерій у воді озера Яворівське та воді джерельного типу заповідника Розточчя. Виділено штам пурпурових несіркових бактерій. На основі фізіологічних, морфологічних і біохімічних властивостей, ідентифікації пігментів, а також на основі аналізу *in silico* нуклеотидної послідовності гена 16S рРНК ідентифіковано фототрофні несіркові бактерії роду *Rhodopseudomonas*. Цей штам бактерій отримав назву *Rhodopseudomonas yavorovii* і депонований у GenBank (номер доступу: OL711631) та зберігається в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України як *Rhodopseudomonas yavorovii* IMB В-7620.

Виявлено здатність бактерій *R. yavorovii* IMBВ-7620 продукувати водень у середовищах зі сукцинатом, цитратом натрію, малатом, глюкозою та крохмалем як джерелами Карбону й донорами електронів. Схарактеризовано закономірності окиснення сульфід-, тиосульфат- і нітрит-йонів у модельному середовищі та сульфід- і нітрит-йонів у стічних водах. Встановлено, що внаслідок окиснення бактеріями гідроген сульфід та натрій тиосульфату в середовищі нагромаджуються сульфат-йони, а елементна сірка є проміжним метаболітом у середовищі з гідроген сульфідом. Показано, що внаслідок окиснення бактеріями нітрит-йонів у середовищі нагромаджуються нітрат-йони.

Виявлено здатність бактерій до окиснення органічних сполук стічної води дріжджового заводу та води фільтрату відстійника № 3 Львівського полігону твердих побутових відходів. Найбільшу біомасу *R. yavorovii* IMB B-7620 нагромаджують за росту у стічних водах. За таких умов культивування максимальна густина потужності мікробного паливного елемента є в 1,6 раза вищою, ніж за росту *R. yavorovii* IMB B-7620 у модельних середовищах із натрій цитратом. Показано перспективність використання досліджуваних бактерій у процесах біоремедіації водного середовища.

**Ключові слова:** фототрофні пурпурові бактерії, *Rhodopseudomonas*, окиснення нітрит-, сульфід-, тіосульфат-іонів, утворення водню, мікробний паливний елемент, біоремедіація.

#### ANNOTATION

**Tarabas O. V. Transformation of sulfur and nitrogen compounds by phototrophic purple bacteria isolated from man-made environment.** – On manuscript rights.

Dissertation for obtaining the scientific degree of Candidate of Biological Sciences (Doctor of Philosophy) on the specialty 03.00.07 “Microbiology”. – Institute of Cell Biology of the National Academy of Sciences of Ukraine; Lviv, 2023.

In this dissertation it is investigated the peculiarities of using of sulfide, thiosulfate and nitrite ions in a model environment and sulfide-, nitrite- ions in wastewater by phototrophic purple non-sulfur bacteria *Rhodopseudomonas yavorovii* IMV B-7620, isolated from the man-made Lake Yavorivske, and it is established the ability of these bacteria to generate electric current and produce hydrogen under different cultivation conditions.

The content of photosynthetic non-sulfur bacteria in the water of Lake Yavorivske and the spring-type water of the Roztochya reserve was determined in this work for the first time. The strain of purple non-sulfur bacteria has been isolated. Based on physiological, morphological, and biochemical properties, pigment identification, and *in silico* analysis of the 16S rRNA gene nucleotide sequence, phototrophic non-sulfur bacteria of the genus *Rhodopseudomonas* were identified. This strain of bacteria was named as *Rhodopseudomonas yavorovii* and deposited in GenBank (accession number: OL711631) and now it is stored in the Depository of the D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the National Academy of Sciences of Ukraine as *Rhodopseudomonas yavorovii* IMV B-7620.

The ability of *R. yavorovii* IMV B-7620 bacteria to produce hydrogen in media with succinate, sodium citrate, malate, glucose, and starch as carbon sources and electron donors was revealed. The patterns of oxidation of sulfide, thiosulfate and nitrite ions in the model environment and sulfide and nitrite ions in wastewater were characterized. It was established that due to the oxidation of hydrogen sulfide and sodium thiosulfate

by bacteria, sulfate ions are accumulated in the environment, and elemental sulfur is an intermediate metabolite in the environment with hydrogen sulfide. It was established that nitrate ions are accumulated in the environment as a result the oxidation of nitrite ions by bacteria.

The ability of bacteria to oxidize organic compounds of the wastewater of the yeast factory and the filtrate water of the settling tank No. 3 LPTPV was revealed. The largest biomass of *R. yavorovii* IMV B-7620 is accumulated during growth in wastewaters. The highest value of the power density of the microbial fuel cell during the cultivation of *R. yavorovii* IMV B-7620 obtained under such cultivation conditions, which is 1.6 times higher than with the use of a model substrate with sodium citrate.

**Key words:** phototrophic purple bacteria, *Rhodospseudomonas*, oxidation of nitrite-, sulfide-, thiosulfate- ions, hydrogen production, microbial fuel cell, bioremediation.

Підписано до друку 27.10.2023 р. Папір офсетний. Друк на різогр.  
Формат 60 × 84/16. Ум. друк. арк. 1,63. Наклад 100 прим. Зам. №

Друк СПДФО Марусич М. М. Свідоцтво № 1252 від 30.12.1996  
м. Львів, пл. Осомисла, 5/11  
тел./факс: (032) 261-51-31  
e-mail: [interprint-m@ukr.net](mailto:interprint-m@ukr.net)

