

В. О. Іваниця, М. Д. Штеніков, А. М. Остапчук

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: v_ivanit@ukr.net

ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЕРОБНІ СПОРОУТВОРЮВАЛЬНІ БАКТЕРІЇ ГЛИБОКОВОДНИХ ВІДКЛАДЕНЬ ЧОРНОГО МОРЯ

Мета. Виявити в глибоководних осадах сірководневої батіалі Чорного моря факультативно-анаеробні спороутворювальні бактерії (ФАСБ), здатні рости за аеробних умов, та визначити їх таксономічну різноманітність.

Методи. Для роботи були використані проби донних відкладень з різних горизонтів (0–50 см) з глибини 888–2080 м Чорного моря, відібрані в ході експедиції М84/2 Бременського університету на судні Meteor. Ідентифікацію виділених штамів проводили шляхом визначення спектру жирних кислот на газовому хроматографі «BioRad» з використанням автоматичної системи ідентифікації мікроорганізмів MIDI Sherlock на базі газового хроматографа з полум'яно-іонізаційним детектором Agilent 7890 (Agilent Technologies, США). **Результати.** У ході досліджень у глибоководних осадах сірководневої батіалі Чорного моря на горизонтах до 50 см виявлено факультативно-анаеробні бактерії, здатні рости за аеробних умов. Було отримано 202 ізоляти грампозитивних бактерій, які утворюють ендоспори. За спектром жирних кислот з використанням автоматичної системи ідентифікації мікроорганізмів MIDISherlock встановлено, що отримані ізоляти належать до 18 видів 4-х родів ФАСБ: *Vacillus*, *Raenibacillus*, *Lysinibacillus*, *Brevibacillus*. Не ідентифіковані ізоляти (25) потребують додаткових досліджень і можуть відноситися до нових ще не відомих для науки таксонів бактерій. **Висновки.** Вперше в донних відкладеннях на горизонтах до 50 см анаеробної сірководневої та метанової батіалі Чорного моря на глибинах 888–2080 м виявлено факультативно-анаеробні спороутворювальні бактерії, визначено їх таксономічну різноманітність, та зроблено припущення про їх алохтонне походження.

Ключові слова: *Vacillus*, *Raenibacillus*, *Lysinibacillus*, *Brevibacillus*, склад жирних кислот, Чорне море, донні відкладення.

Глибоководні райони батіалі Чорного моря насичені сірководнем і метаном і характеризуються повною відсутністю кисню. Тому в них можуть мешкати лише облигатні анаероби, такі як сульфатредукувальні і метанутворювальні бактерії. Важко передбачити, що такі екстремальні умови в цій зоні можуть бути сприятливими для життєдіяльності аеробних організмів, які отримують енергію за рахунок процесів дихання.

Ю.П. Зайцев передбачив, що відсутність у сірководневій зоні умов для життя оксидантів, не заперечує можливість попадання аеробних організмів на



дно батіалі Чорного моря, де вони можуть довгий термін зберігатися. Проведені Ю.П. Зайцевим з колегами дослідження виявили в сірководневій зоні представників оксидантів – спори грибів та цисти діатомових водоростей [1]. Результати цих досліджень і послугували авторам цієї роботи поштовою для пошуку аеробних бактерій у донних відкладеннях сірководневої зони Чорного моря.

Про виявлення спороутворювальних анаеробів у океанічних відкладеннях повідомлялось в декількох роботах. А. Johannsen [5] вважає, що спори *Clostridium botulinum* вимивалися в Балтійське море з сусідньої суші. С. Е. Dolman і Н. Ixda [4] припустили, що спори цього організму були перенесені на великі відстані в північній частині Тихого океану та півночі Атлантичного океану, а G. J. Vonde [3] зроблено висновок, що спори *Clostridium perfringens* винесені в море каналізацією та могли транспортуватися на відстань 100 км.

Бактеріальне населення глибоководних донних осадів Чорного моря вивчене мало. Мікробіологічне дослідження осадів L. Smith і E. Sato, отриманих з глибини 150 м Чорного моря, виявили, що більше 1000 бактерій на грам є життєздатними у верхньому шарі осадів, більше 600 кл/г – на 5 см нижче поверхні, більше 700 кл/г у шарі 10 см, 700 кл/г на рівні 20 см [7]. Багато з ізолятів належали до відомих клостридіальних видів. Виявлений переважальний організм був аеротолерантною клостридією *Clostridium durum*, sp. nov.. На поверхні осадів виявлено також поодинокі *Lactobacillus brevis*, *Bacillus pasteurii*.

Взагалі відносно небагато відомо про прив'язку певних видів факультативно-анаеробних спороутворювальних бактерій (ФАСБ) до анаеробних біотопів морського середовища. Традиційно вважається, що вони попадають в морське середовище із ґрунту, але є штами адаптовані до самих різних умов, в тому числі і до морських. Так, *Bacillus megaterium* традиційно вважається за мезофільний ґрунтовий організм з максимальною температурою росту близько 50 °С, але відомий штам з термального джерела, що росте за 68 °С [2, 6].

Метою роботи було виявити в глибоководних осадах сірководневої батіалі Чорного моря факультативно-анаеробні спороутворювальні бактерії, здатні рости за аеробних умов, та визначити їх таксономічну різноманітність.

Матеріали та методи

Для роботи були використані проби донних відкладень Чорного моря, відібрані в ході експедиції М84/2 Бременського університету на судні Meteor у березні 2011 року та передані ОНУ для мікробіологічних досліджень Ю.П. Зайцевим та Б.Г. Александровим (Інститут біології моря НАНУ). Проби були відібрані з 4 точок на глибинах від 888 до 2080 метрів (Табл. 1). Проби були відібрані з горизонтів циліндричних кернів з інтервалом 5 см, поміщені в стерильні, герметично упаковані пластикові пробірки та зберігалися при температурі 0 °С.

Для мікробіологічного дослідження зразок осаду стерильно зважували, суспендували в 0,2% розчині NaCl за допомогою vortex mixer, розводили до співвідношення 1:10 (w/w) і використовували для приготування розведень для подальшого посіву.



Таблиця 1

Координати та глибини станцій відбору проб

Table 1

Coordinates and depths of the sampling stations

Станція	Глибина (метр)	Координати	
		Широта	Довгота
233	1537	41°32.670'N	37°37.460'E
242	1499	41°31.162'N	37°37.337'E
258	888	44°37.243'N	35°42.286'E
269	2080	44°17.329'N	35°00.081'E

Для виявлення факультативно-анаеробних спороутворювальних бактерій (ФАСБ) підготовлену як описано вище суспензію донного осаду в 0,2% розчині NaCl прогрівали 10 хв за температури 90 °С, висівали на МПА, культивували за 25 °С впродовж двох діб. Кількість повторів при усіх посівах була не меншою за п'ять.

Бактерії із найбільш типових колоній, що виростили на середовищі МПА із пастеризованих суспензій, відсівали на МПА та отримували чисті культури. У результаті досліджень було отримано 202 ізоляти, які утворювали ендоспори і були грампозитивними. Очищені культури зберігали у пробірках на скошеному агарі за температури +5 °С.

Ідентифікацію виділених штамів проводили шляхом визначення спектру жирних кислот на газовому хроматографі «BioRad», за стандартною методикою [Raineu, Oren, 2011] з використанням автоматичної системи ідентифікації мікроорганізмів MIDI Sherlock на базі газового хроматографа з полум'яно-іонізаційним детектором Agilent 7890 (Agilent Technologies, США), колонка капілярна 25м×0,2мм×0,33мкм Ultra 2, швидкість потоку 3 мл/хв, газ-носії водень, градієнт температури від 150 °С до 300 °С впродовж 6 хв. Перед визначенням ЖК-спектру досліджувані бактерії двічі пересівали на щільному живильному середовищі TSA (TrypticSoyAgar) та вирощували впродовж 24 год при 28 °С. Послідовно проводили: омилення ліпідів клітинної стінки бактерій після додавання метанольного розчину NaOH, метилювання вивільнених солей жирних кислот в присутності кислого розчину метанолу, екстракцію органічним розчинником методом рідинно-рідинної екстракції та нейтралізацію проби з додаванням 0,1 М розчину NaOH. Отримані метилові ефіри аналізували на хроматографі фірми «BioRad».

Інтерпретацію даних системи MIDI Sherlock виконували за значенням найвищого індексу подібності (sim-індекс) з запропонованих системою для кожного штаму, за виключенням випадків, коли він був низьким (<0.500). У такому випадку штаму вважався за такий, вид якого не визначено.

Результати та їх обговорення

У процесі досліджень із різних горизонтів глибоководних відкладень сірководневої зони Чорного моря було виділено 202 ізоляти, які за морфологічними і фізіолого-біохімічними ознаками віднесені до широкої групи фа-



культативно-анаеробних спороутворювальних бактерій.

Ідентифікацію виділених ізолятів проводили шляхом визначення спектру жирних кислот на газовому хроматографі Agilent 7890 «BioRad» з використанням автоматичної системи ідентифікації мікроорганізмів MIDISherlock.

Із станції 233, що знаходиться в південно-східній частині Чорного моря біля берегів Туреччини, досліджено проби з кернів, взятих з глибини 1537 м та отримано 59 ізолятів бактерій (31 – із горизонту 0–5 см, 15 – із горизонту 5–10 см, 2 – із 10–15 см, 6 – із 15–20 см, 2 – із 20–25 см, 2 – із 25–30 см та 1 – із 30–35 см).

В таблиці 2 наведено результати хемотаксономічної ідентифікації ізольованих бактерій за спектром жирних кислот. На всіх досліджених горизонтах виявлено представників 11 видів ФАСБ: *Bacillus megaterium* GC subgroup A, *Brevibacillus reuszeri*, *Bacillus viscosus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* GC subgroup B, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus luciferensis*, 9 ізолятів за використаною методикою не були ідентифіковані, оскільки індекси подібності їх жирнокислотних спектрів були нижчими 0.500, а у деяких випадках і близько 0.200.

Таблиця 2

Видова різноманітність ФАСБ ґрунту Чорного моря на станції 233

Table 2

Species diversity of the FASB in the bottom sediments of Black sea on station 233

Горизонт	Кількість штамів	Індекс подібності	Вид (кількість штамів)
0-5	31	від 0.500 до 0.933	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A (6 шт) <i>Brevibacillus reuszeri</i> (6 шт) <i>Bacillus viscosus</i> (5 шт) <i>Bacillus licheniformis</i> (2 шт) <i>Bacillus subtilis</i> (1 шт) <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup B (1 шт) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (1 шт) <i>Bacillus luciferensis</i> (1 шт) Не визначено (6)
5-10	15	від 0.500 до 0.925	<i>Bacillus subtilis</i> (6 шт) <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A (3 шт) <i>Bacillus viscosus</i> (2 шт) <i>Brevibacillus reuszeri</i> (2 шт) <i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A (1 шт) <i>Bacillus atrophaeus</i> (1 шт)
10-15	2	0.623	<i>Bacillus atrophaeus</i> (1 шт) Не визначено (1 шт)
15-20	6	від 0.500 до 0.837	<i>Bacillus licheniformis</i> (3 шт) <i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup A (1 шт) <i>Brevibacillus reuszeri</i> (1 шт) Не визначено (1 шт)
20-25	2	0.778 0.547	<i>Bacillus atrophaeus</i> (1 шт) <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A (1 шт)
25-30	2	0.637	<i>Bacillus licheniformis</i> (1 шт) Не визначено (1 шт)
30-35	1	0.554	<i>Bacillus licheniformis</i> (1 шт)



Станція 242 розташована неподалік від 233 і представлена в нашій роботі 87 ізолятами ФАСБ. З них 65 виділено з горизонту 0–5 см, 2 – із горизонту 5–10 см, 4 – із горизонту 10–15 см, 3 – із горизонту 15–20 см та 13 із горизонту 25–30 см. Результати ідентифікації ізолятів наведено у таблиці 3. Серед ізолятів виявлено представників 13 видів: *Bacillus megaterium* GC subgroup A, *Bacillus agaradhaesren*, *Bacillus pumilus* GC subgroup A, *Bacillus subtilis*, *Brevibacillus reuszeri*, *Bacillus viscosus*, *Bacillus pumilus* GC subgroup B, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus luciferensis*, *Bacillus oleronius*, *Bacillus atrophaeus*, *Paenibacillus macerans*, *Bacillus cereus* GC subgroup A.

Таблиця 3

Видова різноманітність ФАСБ ґрунту Чорного моря на станції 242

Table 3

Species diversity of the FASB in the bottom sediments of Black sea on station 242

Горизонт	Кількість штамів	Індекс подібності	Вид (кількість штамів)
0-5	65	від 0.500 до 0.949	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A (11 шт) <i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup A (9 шт) <i>Bacillus subtilis</i> (9 шт) <i>Brevibacillus reuszeri</i> (8 шт) <i>Bacillus viscosus</i> (6 шт) <i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B (4 шт) <i>Bacillus licheniformis</i> (3 шт) <i>Bacillus luciferensis</i> (2 шт) <i>Bacillus oleronius</i> (1 шт) <i>Bacillus atrophaeus</i> (1 шт) <i>Paenibacillus macerans</i> (1 шт) Не визначено (10 шт)
5-10	2	0.834	<i>Bacillus subtilis</i> (1 шт) Не визначено (1 шт)
10-15	4	від 0.500 до 0.871	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A (1 шт) <i>Bacillus subtilis</i> (1 шт) <i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup A (1 шт) Не визначено (1 шт)
15-20	3	від 0.537 до 0.778	<i>Bacillus subtilis</i> (2 шт) <i>Bacillus licheniformis</i> (1 шт)
20-25	13	від 0.539 до 0.922	<i>Bacillus licheniformis</i> (5 шт) <i>Bacillus subtilis</i> (2 шт) <i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A (2 шт) <i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B (2 шт) <i>Bacillus sp.</i> GC group 22 (1 шт) <i>Bacillus agaradhaesren</i> (1 шт)

Кількість не ідентифікованих ізолятів у поверхневому найбільш вивченому горизонті сягала 19% (10 штамів з 65), а для відповідного горизонту станції 233 цей показник дорівнював 15% (6 штамів з 31). З 5 ізолятів-лідерів за таксономічною представленістю в зібраній колекції на горизонті 0–5 станції 242 – чотири були схожі – це *Bacillus megaterium* GC subgroup A (11



шт), *Bacillus subtilis* (9 шт), *Brevibacillus reuszeri* (8 шт), та *Bacillus viscosus* (6 шт). *Bacillus pumilus* GC subgroup A (9 шт), який на станції 233 представлений лише одним штамом, на станції 242 виділений з проб трьох горизонтів (0–5, 10–15 та 25–30 см). На даній станції виявлено рідкі для цієї колекції штами видів *Bacillus agaradhaerens* та *Bacillus oleronius*, 12 ізолятів з 87 не були ідентифіковані.

Аналогічні тенденції виявляють ізоляти з проб станцій 258 та 269, що розташовані біля узбережжя Кримського півострову. Станція 258 (неподалік від південного узбережжя Криму) з глибиною 2080 м представлена в колекції 42 штамами та 12 видами (табл. 4): *Bacillus megaterium* GC subgroup A (8 шт), *Bacillus subtilis* (6 шт), *Bacillus megaterium* GC subgroup B (5 шт, які виділені з проб горизонту 0–5 см), *Bacillus viscosus* (4 шт) та *Bacillus sp.* GC group 22 (3 шт), *Bacillus licheniformis* (2 шт), *Bacillus pumilus* GC subgroup A (1 шт), *Bacillus pumilus* GC subgroup B (1 шт), *Bacillus cereus* GC subgroup A (1 шт), *Bacillus cereus* GC subgroup B (1 шт), *Paenibacillus larvae pulvifaciens* (1 шт), *Brevibacillus choshinensis* (1 шт).

Таблиця 4

Видова різноманітність ФАСБ ґрунту Чорного моря на станції 258

Table 4

Species diversity of the FASB in the bottom sediments of Black sea on station 258

Горизонт	Кількість штамів	Індекс подібності	Вид (кількість штамів)
0-5	23	від 0.500 до 0.830	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A (6 шт) <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup B (5 шт) <i>Brevibacillus reuszeri</i> (2 шт) <i>Bacillus subtilis</i> (2 шт) <i>Bacillus sp.</i> GC group 22 (1 шт) <i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup A (1 шт) <i>Bacillus cereus</i> GC subgroup B (1 шт) <i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A (1 шт) <i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B (1 шт) <i>Bacillus viscosus</i> (was <i>Arthrobacter</i>) (1 шт) Не визначено (2 шт)
5-10	7	від 0.500 до 0.776	<i>Bacillus subtilis</i> (2 шт) <i>Bacillus viscosus</i> (2 шт) <i>Paenibacillus larvae pulvifaciens</i> (1 шт) Не визначено (2 шт)
10-15	3	від 0.606 до 0.819	<i>Bacillus subtilis</i> (2 шт) <i>Bacillus atrophaeus</i> (1 шт)
15-20	3	0.864 0.726	<i>Bacillus licheniformis</i> (1 шт) <i>Brevibacillus choshinensis</i> (1 шт) Не визначено (1 шт)
20-25	1	0.561	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A (1 шт)
25-30	1	0.647	<i>Bacillus licheniformis</i> (1 шт)
30-35	4	від 0.622 до 0.749	<i>Bacillus sp.</i> GC group 22 (2 шт) <i>Bacillus viscosus</i> (1 шт) <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A (1 шт)



З проб розташованої біля Керченської протоки станції 269 виділено 14 штамів ФАСБ (табл.5), серед яких виявлено зокрема *Bacillus megaterium* GC subgroup A (7 шт), *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus* GC subgroup A (1 шт), *Bacillus subtilis* (1 шт), *Brevibacillus parabrevis* (1 шт), *Bacillus amyloliquefaciens* (1 шт), *Bacillus viscosus* (1 шт) та *Lysinibacillus sphaericus* GC subgroup B (1 шт).

Таблиця 5

Видова різноманітність ФАСБ ґрунту Чорного моря на станції 269

Table 5

**Species diversity of the FASB in the bottom sediments of Black sea
on station 269**

Горизонт	Кількість штамів	Індекс подібності	Вид (кількість штамів)
0-5	6	від 0.500 до 0.846	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A (4 шт) <i>Lysinibacillus sphaericus</i> GC subgroup B (1 шт) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (1 шт)
5-10	1	0.745	<i>Bacillus viscosus</i> (1 шт)
45-50	7	від 0.500 до 0.891	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A (3шт) <i>Bacillus licheniformis</i> (1 шт) <i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup A (1 шт) <i>Bacillus subtilis</i> (1 шт) <i>Brevibacillus parabrevis</i> (1 шт)

Проведений аналіз показав, що більшість ізольованих представників (177) ФАСБ, виділених з глибоководних донних відкладень Чорного моря, належать до відомих видів (*Bacillus cereus* GC subgroup A, *Bacillus cereus* GC subgroup B, *Bacillus megaterium* GC subgroup A, *Bacillus megaterium* GC subgroup B, *Bacillus pumilus* GC subgroup A, *Bacillus pumilus* GC subgroup B, *Bacillus agaradhaerens*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus luciferensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus sp.* GC group 22, *Bacillus oleronius*, *Bacillus viscosus*, *Brevibacillus parabrevis*, *Brevibacillus reuszeri*, *Brevibacillus choshinensis*, *Paenibacillus macerans*, *Paenibacillus larvae pulvifaciens*, *Lysinibacillus sphaericus* GC subgroup B), що мешкають у ґрунті чи мають космополітичне поширення. Отримані результати потребують подальшого підтвердження та уточнення молекулярно-біологічними методами. Значна частина ізолятів (25) не була ідентифікована за спектром жирних кислот з використанням автоматичної системи ідентифікації мікроорганізмів MIDI Sherlock. Ці ізоляти представляють особливий інтерес для подальшого дослідження та ідентифікації молекулярно-біологічними методами шляхом порівняння послідовностей нуклеотидів ДНК, оскільки серед них цілком можуть бути представники ще невідомих для науки видів ФАСБ.

Цілком природно постає питання про мікробіологічну чистоту дослідження. Чи не могли виявлені мікроорганізми бути занесені в проби при відборі кернів, зразків та їх транспортуванні? В цілому виключити таке неможливо,



хоча під час досліджень були дотримані усі необхідні заходи, що мінімізують можливі ризики, які піддаються контролю. Проби зберігалися при температурі близькій до 0 °С, яка є несприятливою для росту ФАСБ, навіть якщо вони і попали в зразки під час відбору чи транспортування. Те, що вони виявлялися в значній кількості (від десятків до мільйонів спор на грам відкладень), може слугувати непрямим підтвердженням чистоти мікробіологічного дослідження і об'єктивності отриманих результатів.

Цікавим є питання про автохтонне чи алохтонне походження виявлених ФАСБ у глибоководних донних відкладеннях Чорного моря, що знаходяться у зоні насиченій сірководнем і метаном. Представники цієї групи прокариот мають широкий спектр енергетичних шляхів, що дає їм можливість достатньо ефективно здійснювати метаболізм, і за відсутності кисню можуть дихати використовуючи інші акцептори електронів. Але основним способом отримання енергії у них є дихання з використанням кисню. Попри те, що ФАСБ здатні до анаеробного дихання за відсутності кисню наявність високих концентрацій сірководню та метану у воді та донних відкладеннях не дають нам підстав вважати, що такі стаціонарні суворі анаеробні умови можуть бути сприятливими для нормального функціонування представників видів бактерій, що традиційно мешкають і виявляються в великій кількості в природних для них біотопах в ґрунті на суходолі.

Цілком ймовірно, що притаманні для суші бактерії змиваються в море річковими, талими і стічними водами та переносяться в морі на великі відстані [1, 3]. В верхніх шарах Чорного моря за присутності кисню вони цілком можуть брати участь у процесах утилізації відмерлих органічних решток. Бактерії повільно осідають разом з детритом, формуючи так званий "морський сніг", із верхніх шарів води на дно, де накопичуються і природно консервуються завдяки наявності ендоспор, які довгий час зберігають здатність проростати за появи сприятливих умов. Вивчення характеру алохтонної мікробіоти донних відкладень, її просторового розподілу та часової динаміки може дати цікаві дані щодо кліматичних та біоценотичних змін у водоймах у хронологічному вимірі часу, за умови наявності точних даних щодо швидкості седиментації. Як визначили L. Smith і E. Cato [7] швидкість накопичення таких донних осадів в Чорному морі може оцінюватися в 0,5 мм за рік. То ж, бактерії, що ізольовані нами із осадів могли зберігатися природно законсервованими, не розмножувалися і таким чином зберегли свій генетичний апарат без змін впродовж тисяч років. У зв'язку з цим такі мікроорганізми особливо цікаві як матеріал для наукових досліджень, так і цінні як невичерпне джерело для пошуку продуцентів і біотехнологічних розробок.

Таким чином, в донних відкладеннях на горизонтах до 50 см анаеробної сірководневої батіалі Чорного моря на глибинах 888–2080 м вперше виявлено факультативно-анаеробні спороутворювальні бактерії, визначено їх таксономічну різноманітність та зроблено припущення про їх алохтонне походження.

Вдячність: *Автори висловлюють вдячність Ю. П. Зайцеву та Б. Г. Александрову за передачу проб кернів ґрунту з Чорного моря, які були відібрані під час експедиції М84/2 Бременського університету на судні Meteor.*



V. O. Ivanytsia, M. D. Shtenikov, A. M. Ostapchuk

Odessa National University after I. I. Mechnikov

Dvorianska str., 2, Odesa, 65082, Ukraine, e-mail: v_ivanit@ukr.net

FACULTATIVELY-ANAEROBIC ENDOSPOREFORMING BACTERIA OF DEEP WATER BOTTOM SEDIMENTS OF BLACK SEA

Summary

***Aim** of the work was to detect in deep-sea sediments of the hydrogen sulfide bathyal zone of the Black Sea the facultative-anaerobic spore-forming bacteria (FASB) capable of grow under aerobic conditions, and to determine their taxonomic diversity. **Methods.** For the work were used samples of bottom sediments from different horizons (0-50 cm) from the depth of 888-2080 m of the Black Sea, collected during the expedition of the M84/2 of the University of Bremen to the Meteor ship. Identification of isolated strains was carried out by determining the spectra of fatty acids on a BioRad gas chromatograph using an automatic microorganism identification system MIDI Sherlock based on a gas chromatograph with Agilent 7890 flame ionization detector (Agilent Technologies, USA). **Results.** In the course of research in deep-sea sediments of the hydrogen sulfide bathyal zone of the Black Sea on horizons up to 50 cm were found facultative anaerobic bacteria, capable of grow under aerobic conditions. Were obtained 202 isolates of endosporeforming gram-positive bacteria. According to the spectra of fatty acids using the automatic identification system for microorganisms, MIDI Sherlock found that the resulting isolates belong to 18 Species of 4 genera (FAEB): *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Lysinibacillus*, *Brevibacillus*. About 20 unidentified isolates require additional research and can refer to new bacteria that are not known for science yet. **Conclusions.** For the first time in the bottom sediments on the horizons up to 50 cm of anaerobic hydrogen sulfide and methane bathyal zone of the Black Sea at depths 888-2080 m, were identified the facultative anaerobic spore-forming bacteria, their taxonomic diversity was determined, and were made assumptions about their alochtonous origin.*

Key words: Black sea, bottom sediments, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Lysinibacillus*, *Brevibacillus*, fatty acids content.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Зайцев Ю. П., Поликарпов Г. Г., Егоров В. Н., Александров Б. Г., Гаркуша О. П., Копытина Н. И., Курилов А. В., Нестерова Д. А., Нидзвецкая Л.М., Никонова С. Е., Поликарпов И. Г., Поповичев В. Н., Руснак Е. М., Стокозов Н. А., Теплинская Н. Г., Теренько Л. М. Средоточие останков оксибионтов и банк живых спор высших грибов и диатомовых в донных отложениях сероводородной батииали Черного моря. // Доповіді НАН України. – 2007. – N 7. – С. 159–164.
2. Ammini P., Kiran K., Jiya J., Neetha J., Santha N. Biochemical and molecular characterization of *Bacillus pumilus* isolated from coastal environment in Cochin, India. // Braz. J. Microbiol. – 2009. – 40, №2. – P. 269–275.



3. Bonde G. J. Studies on the dispersion and disappearance phenomena of enteric bacteria in the marine environment. // Rev. Int. Oceanogr. Med. – 1968. – 9. – P. 17–44.

4. Dolman C. E., Ixda H. Type E botulism: its epidemiology, prevention and specific treatment. // Can. J. Public Health. – 1963. – 54, № 7. – P. 293–308.

5. Johannsen A. *Clostridium botulinum* in Sweden and the adjacent waters. // J. Appl. Bacteriol. – 1963. – 26, № 1. – P. 43–47.

6. Logan N.A., De Vos P. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria Ed Whitman WB. John Wiley & Sons, Inc, 2015 Режим доступу: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118960608.gbm00530/abstract>

7. Smith L.D.S., Cato E. *Clostridium durum*, sp. nov., the predominant organism in a sediment core from the Black Sea. // Canadian Journal of Microbiology. – 1974. – 20, № 10. – P. 1393–1397.

References

1. Zaitsev Yu.P., Polikarpov G.G., Egorov V.N., Aleksandrov B.G., Garkusha O.P., Kopytina N.I., Kurilov A.V., Nesterova D.A., Nidzvetskaya L.M., Nikonova S.E., Polikarpov I.G., Popovichev V.N., Rusnak E.M., Stokozov N.A., Teplinskaya N.G., Teren'ko L.M. Sredotochie ostankov oksibiontov i bank zhivykh spor vysshikh gribov i diatomovykh v donnykh otlozheniyakh serovodorodnoi batiali Chernogo morya. // Dopovidi NAN Ukrainy. – 2007. – N 7. – С. 159–164.

2. Ammini P., Kiran K., Jiya J., Neetha J., Santha N. Biochemical and molecular characterization of *Bacillus pumilus* isolated from coastal environment in Cochin, India. // Braz. J. Microbiol. – 2009. – 40, №2. – P. 269–275.

3. Bonde G. J. Studies on the dispersion and disappearance phenomena of enteric bacteria in the marine environment. // Rev. Int. Oceanogr. Med. – 1968. – 9. – P. 17–44.

4. Dolman C. E., IIDA H. Type E botulism: its epidemiology, prevention and speciiic treatment. // Can. J. Public Health. – 1963. – 54, № 7. – P. 293–308.

5. Johannsen A. *Clostridium botulinum* in Sweden and the adjacent waters. // J. Appl. Bacteriol. – 1963. – 26, № 1. – P. 43–47.

6. Logan N.A., De Vos P. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria Ed Whitman WB. John Wiley & Sons, Inc, 2015 Режим доступу: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118960608.gbm00530/abstract>

7. Smith L.D.S., Cato E. *Clostridium durum*, sp. nov., the predominant organism in a sediment core from the Black Sea. // Canadian Journal of Microbiology. – 1974. – 20, № 10. – P. 1393–1397.

Стаття надійшла до редакції 12.12.2017 р.

