

О.М. Мороз

*Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна*

РЕГУЛЯЦІЯ РІВНЯ СІРКОВОДНЮ АЦИДОФОБНИМИ БАКТЕРІЯМИ РОДУ *THIOBACILLUS* У ТЕХНОГЕННИХ ВОДОЙМАХ СІРКОВИДОБУВНИХ РЕГІОНІВ

*Показано зростання чисельності ацидофобних тіонових бактерій у водоймах Роздільського та Яворівського сірковидобувних регіонів впродовж 2005-2009 років, яка корелює із зниженням вмісту сірководню у поверхневих шарах води. Виявлено здатність ацидофобних бактерій роду *Thiobacillus*, виділених з озера "Яворівське", ефективно окиснювати сірководень, внесений до середовища Бейєринка замість тіосульфату. Встановлено, що ефективність окиснення сірководню штамами *Thiobacillus sp. Yav-8, Yav-11 та Yav-14* є найвищою (78,48–84,56 %) у разі збільшення у середовищі культивування його вмісту вдвічі: до 2584 мг/л. Збільшення кількості сірки у формі натрію сульфідру у чотири і шість разів, порівняно із її стандартним вмістом у формі тіосульфату натрію у середовищі Бейєринка, не приводило до зростання ефективності окиснення сірководню клітинами.*

К л ю ч о в і с л о в а: Thiobacillus sp., сірководень, Яворівська (озеро "Яворівське") та Роздільська техногенні водойми.

Промислова розробка Яворівського та Роздільського сіркових родовищ на Прикарпатті істотно порушила природні процеси мікробної трансформації сірки, які підтримували рівновагу її сполук у цьому регіоні. Відкритий спосіб видобутку сірки змінив умови життєдіяльності бактерій, які метаболізують сірку, зробив її доступною для впливу атмосферного кисню і створив сприятливі умови для активного розвитку аеробних сіркоокиснювальних бактерій. Наслідком цих процесів стало нагромадження у довкіллі великої кількості сульфатів, які в анаеробних умовах за наявності органічних сполук інтенсивно відновлюються сульфатвідновлювальними бактеріями до високотоксичного для живих організмів та людини сірководню. Безбарвні сіркоокиснювальні або тіонові бактерії – літотрофні сіркозалежні прокариоти, отримують енергію внаслідок окиснення мінеральних відновлених сполук сірки, і, зокрема, сірководню. Акцептором електронів є вільний кисень, в окремих видів – кисень нітратів [3, 12]. Сірка як проміжний продукт окиснення сірководню, тіосульфату або сульфїту відкладається поза клітиною.

Сьогодні концентрація сірководню у Яворівському озері, що виникло на місці найбільшого у світі сірковидобувного кар'єру, сягає 4–6 г/м³, що значно перевищує його гранично допустиму концентрацію (ГДК) у воді (0,3 г/м³) [5, 13, 15]. У тварин сірководень може спричиняти порушення у багатьох системах та загибель, у людей – різноманітні респіраторні, очні, неврологічні, серцево-судинні, метаболічні та репродуктивні ефекти. Доведено, що сірководень виявляє генотоксичну та канцерогенну дію [2].

Хімічні методи очистки вод енерговитратні, потребують численних органічних речовин-окисників, а нагромадження внаслідок їх використання нових побічних продуктів робить їх малоефективними, тому слід шукати принципово нові біотехнологічні шляхи зниження вмісту сірководню у природних водних екосистемах [1]. Роль сіркометаболізуючих бактерій у процесах відновлення біоценозів і можливе використання їх для біоремедіації забруднених сірководнем водних ресурсів на території сіркових родовищ недостатньо вивчена [2, 3]. Фотосинтезувальні сіркобактерії, котрі населяють освітлені глибинні шари водойм, використовують сірководень як донор електронів у процесі аноксигенного фотосинтезу [9]. Тіонові бактерії здійснюють біологічну очистку води від цієї отруйної речовини, розвиваючись у мікроаерофільних умовах верхніх шарів води, збагачених киснем та сірководнем, де відновлені сіркові сполуки є основним джерелом електронів, а у середовищі мало органічних сполук або вони відсутні [3].

Метою даної роботи було проаналізувати зміну чисельності ацидофобних тіонових бактерій у техногенних водоймах сірковидобувних регіонів впродовж останніх років, вивчити процес окиснення сірководню ацидофобними бактеріями роду *Thiobacillus*, виділеними з озе-

© О.М. Мороз, 2010

ра “Яворівське”, та з’ясувати вплив різних концентрацій цієї сполуки на здатність бактерій до її утилізації.

Матеріали і методи. В роботі використовували штам *Thiobacillus thioarvus* 4M з колекції відділу загальної та ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України та 3 штами *Thiobacillus* sp.: *Yav-8*, *Yav-11* і *Yav-14*, виділені з водойми затопленого кар’єру Яворівського сіркового родовища (озера “Яворівське”), які за морфологічними особливостями ідентифіковано як ацидофобні бактерії роду *Thiobacillus* [10, 12, 14].

Бактерії вирощували у рідкому середовищі Бейеринка [8] за температури 28 °С. Культивування проводили у колбах, об’ємом 100 мл, загальний об’єм живильного середовища становив 20 мл.

Чисельність ацидофобних тіонових бактерій визначали після висіву десятикратних розведень проби води, відібраної у літній період із поверхневого шару техногенних водойм та водойми джерельного типу заповідника “Розточчя” (контроль), на агаризовані середовища Бейеринка для *T. thioarvus* та Баалсруда для *T. denitrificans* [8]. Підрахунок кількості клітин мікроорганізмів у 1 мл води здійснювали безпосередньо на чашках Петрі, враховуючи розведення [16].

Вивчали закономірності окиснення сірководню клітинами отриманих штамів та *T. thioarvus*. Бактерії культивували (для засіву використовували суспензію добової культури мікроорганізмів концентрацією 10^8 КУО/мл) впродовж 9 діб у рідкому середовищі Бейеринка, яке замість $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot x \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ (5,00 г/л) містило $\text{Na}_2\text{S} \cdot x \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ у різних концентраціях (г/л): 9,71 (контроль: вміст сірки у формі сульфідів натрію еквімолярний вмісту сірки у формі тіосульфату натрію у середовищі Бейеринка і становить 1292 мг/л), 19,42 (2584 мг/л), 38,84 (5168 мг/л), 58,26 (7752 мг/л). Тобто вміст сірки у формі сульфідів натрію у два, чотири і шість разів перевищував її стандартний рівень у формі тіосульфату натрію у середовищі Бейеринка. Для врахування випаровування сірководню у стерильне середовище вносили $\text{Na}_2\text{S} \cdot x \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ у зазначених вище концентраціях (контрольний тест на випаровування).

Після 1, 2, 4, 6 та 9 діб росту у контрольному та дослідних середовищах визначали біомасу та вміст сірководню. Біомасу визначали нефелометрично на фотоелектроколориметрі КФК – 3 ($\lambda = 350$ нм, $l = 3$ мм) з використанням гравіметричного калібрування і виражали у міліграмах сухої маси у 1 мл культуральної рідини. Коефіцієнт перерахунку залежності екстинкції від маси сухих клітин становив 0,030 [12]. Концентрацію сірководню у культуральній рідині, відокремленій від клітин осадженням при 8 тис. об/хв впродовж 15 хв, а також у стерильному середовищі визначали йодометричним методом [11].

Ефективність окиснення сірководню клітинами штамів сіркоокиснювальних бактерій із врахуванням його випаровування розраховували за формулою: $E_{\text{ан}} = [\text{S}_{\text{окисн}}^{2-}] \times 100 \% / [\text{S}_0^{2-}] - [\text{S}_{\text{ан}}^{2-}]$, де $E_{\text{ан}}$ – ефективність окиснення сірководню з врахуванням випаровування, %; $[\text{S}_{\text{окисн}}^{2-}]$ – концентрація сірководню, окисненого клітинами, мг/л; $[\text{S}_0^{2-}]$ – вихідна концентрація сірководню у середовищі на початку культивування, мг/л; $[\text{S}_{\text{ан}}^{2-}]$ – концентрація сірководню, який випарував із культуральної рідини, мг/л. Вважали, що $[\text{S}_{\text{окисн}}^{2-}] = [\text{S}_0^{2-}] - [\text{S}_t^{2-}] - [\text{S}_{\text{ан}}^{2-}]$, де $[\text{S}_t^{2-}]$ – концентрація сірководню, визначена у культуральній рідині у певний момент часу t , мг/л [14].

Статистичну обробку результатів проводили як описано [7].

Результати та їх обговорення. Безбарвні сіркоокиснювальні бактерії поширені в морях, прісних водоймах, ґрунті, у сірчаних джерелах, сульфідних і сірчаних родовищах, місцях очистки стічних вод і місцях утворення газоподібних сполук сірки у придонних осадах або в анаеробних зонах ґрунтів. У водоймах ці бактерії розвиваються на межі кисневого і сірководневого водних шарів. Метаболічні процеси, здійснювані бактеріями циклу сірки, є суттєвим фактором оцінки екологічного стану техногенних водойм [5, 6, 13]. У штучних водоймах сірководобувних регіонів найбільший інтерес представляє дослідження розповсюдження хемолітотрофних мікроорганізмів, зокрема, ацидофобних тіонових бактерій, у зв’язку з забрудненням в першу чергу неорганічними речовинами, особливо сполуками сірки. Мікробіологічний контроль за розвитком сіркоокиснювальних бактерій у Роздільській та Яворівській водоймах здійснюється з 2001 року з урахуванням змін хімічного складу води і глибини затоплення [1,

5, 6, 13]. Згідно з результатами багаторічних досліджень, можна стверджувати, що концентрація сульфатів (їх ГДК – 0,500 г/л) у придонних шарах техногенних водойм постійно зростає: від 0,249 до 0,305 г/л (Роздільська водойма) і від 0,784 до 1,725 г/л (озеро “Яворівське”). Вміст сірководню (ГДК < 0,3 мг/л) у поверхневих шарах суттєво знижується: від 3,52 до 1,61 мг/л (Роздільська водойма) і від 12,10 до 4,72 мг/л (озеро “Яворівське”) [1, 4, 5, 6, 13]. Наразі глибина затоплення Роздільської водойми сягає 43 м, Яворівської – 72 м. Оскільки влітку чисельність бактерій всіх фізіологічних груп є найвищою [13], визначали кількість ацидофобних тіонових бактерій саме у цей період. Впродовж 2005–2009 років чисельність ацидофобних представників бактерій роду *Thiobacillus* у поверхневих шарах техногенних водойм сірководобувних регіонів зростала і у 2009 році у озері “Яворівське” становила $6,17 \cdot 10^5$ кл/мл, у Роздільській водоймі – $3,62 \cdot 10^5$ кл/мл (контроль: $2,82 \cdot 10^4$ кл/мл) (табл. 1). Як у Роздільській водоймі, так і у озері “Яворівське” чисельність бактерій цієї фізіологічної групи впродовж досліджуваного періоду часу значно перевищувала їх чисельність у контрольній пробі води, можливо, у зв’язку з підвищеним вмістом у штучних водоймах відновлених сіркових сполук. Дещо нижча кількість ацидофобних тіонових бактерій у Роздільській водоймі порівняно з їх чисельністю у воді озера “Яворівське” може бути наслідком ефективних рекультиваційних заходів (затоплення і тривале відкачування у річку Дністер мінералізованої сірководневої води), проведених на території меншого за площею та глибиною кар’єру Роздільського родовища сірки. Свідченням цьому є нижчий, ніж у Яворівській водоймі, вміст у воді як сульфатів, так і сірководню.

Таблиця 1

Чисельність ацидофобних тіонових бактерій у поверхневих шарах техногенних водойм сірководобувних регіонів (літній період)

Водойма	Кількість мікроорганізмів, кл/мл води				
	2005 рік	2006 рік	2007 рік	2008 рік	2009 рік
Озеро “Яворівське”	$(0,90 \pm 0,05) \cdot 10^5$ *	$(2,50 \pm 0,03) \cdot 10^5$ *	$(5,11 \pm 0,02) \cdot 10^5$ *	$(5,98 \pm 0,46) \cdot 10^5$ *	$(6,17 \pm 0,39) \cdot 10^5$ *
Затоплений кар’єр Роздільського сірководобного родовища	$(2,00 \pm 0,03) \cdot 10^5$ *	$(2,40 \pm 0,04) \cdot 10^5$ *	$(2,50 \pm 0,05) \cdot 10^5$ *	$(2,94 \pm 0,09) \cdot 10^5$ *	$(3,62 \pm 0,12) \cdot 10^5$ *
К**	$(3,90 \pm 0,15) \cdot 10^4$	$(2,23 \pm 0,15) \cdot 10^4$	$(2,41 \pm 0,26) \cdot 10^4$	$(3,16 \pm 0,36) \cdot 10^4$	$(2,82 \pm 0,19) \cdot 10^4$

Примітки. * - $p \leq 0,05$, ** - Контроль: проба води, відібрана з поверхні водойми джерельного типу заповідника “Розточчя”

Вивчено кінетику окиснення сірководню (1292 мг/л) штамми *Thiobacillus* sp.: *Yav-8*, *Yav-11* і *Yav-14*, виділених з озера “Яворівське”, які за морфологією та фізіологічними особливостями ідентифіковано як ацидофобні бактерії роду *Thiobacillus* [12], і штаму *T. thioparus* під час росту впродовж 9 діб у середовищі Бейеринка з $\text{Na}_2\text{S} \times 9 \text{H}_2\text{O}$ (рис. 1). Після 9 діб культивування біомаса штамів *Yav-8*, *Yav-11* і *Yav-14* тіонових бактерій становила 2,23–2,39 г/л, *T. thioparus* – 2,23 г/л (рис. 1, А). В культурах досліджених штамів виявлено лише 205,9–267,3 мг/л сірководню, *T. thioparus* – 250,4 мг/л (рис. 1, Б). Враховуючи випаровування сірководню, розрахували концентрацію сірководню, окисненого клітинами на 9 добу росту: *Yav-8*: 920,5; *Yav-11*: 944,0 і *Yav-14*: 981,9 мг/л (*T. thioparus*: 937,4 мг/л). Таким чином, виявлено, що здатність виділених штамів *Thiobacillus* sp. ефективно окиснювати сірководень практично не відрізнялася від окиснювальної спроможності штаму *T. thioparus*.

Вивчали здатність штамів *Thiobacillus* sp., виділених з озера “Яворівське”, окиснювати сірководень у різних концентраціях. Вміст сірки у формі сульфиду натрію у два, чотири і шість разів перевищував її стандартний рівень у формі тіосульфату натрію у середовищі Бейеринка.

При внесенні у середовище 2584 мг/л сірководню ріст всіх штамів *Thiobacillus* sp. і штаму *T. thioparus* не відрізнявся від росту бактерій у середовищі, яке містило 1292 мг/л сірководню. Біомаса виявилася незначно вищою, ніж у середовищі з 1292 мг/л сірководню. Ріст бактерій у середовищі Бейеринка з сірководнем у вищих концентраціях: 5168 і 7752 мг/л, виявився пригніченим, на 9 добу біомаса досліджуваних штамів і штаму *T. thioparus* виявилася відповідно

у 1,5–2,5 рази нижчою від біомаси бактерій, вирощених у присутності 1292 мг/л сірководню (рис. 2). Таким чином, не дивлячись на досить високу стійкість досліджуваних штамів до сірководню (нормальний ріст при 1292–2584 мг/л сірководню), дана сполука у концентраціях понад 2584 мг/л різко негативно впливає на їхній ріст. Можливо, зростання концентрації сірководню у середовищі теж негативно впливає і на метаболічну активність клітин, зокрема, на їхню здатність окиснювати відновлені сполуки сірки.

При додаванні у середовище 1292 мг/л сірководню штами *Yav-8*, *Yav-11*, *Yav-14* за 9 діб росту окиснювали (з врахуванням випаровування) 70,82–75,87 % сірководню (*T. thioparus*: 71,99 %) (табл. 2). У присутності 2584, 5168, 7752 мг/л сірководню у середовищі Бейєринка бактерії окиснювали відповідно 72,19–77,78; 54,95–57,86; 34,57–36,39 % сірководню (*T. thioparus*: 76,97; 57,01; 36,00 %). Найбільш ефективно всі штами окиснювали сірководень при внесенні у середовище 2584 мг/л сірководню. Найбільше сірководню, порівняно з іншими штамми, окиснював штам *Yav-14*: 77,78 % (*T. thioparus*: 76,97 %), ефективність окиснення сірководню клітинами цього штаму була найвищою і становила 84,56 % (*T. thioparus*: 83,69 %). Хоча найвищі кількісні показники вмісту сірководню у культуральній рідині всіх штамів *Thiobacillus* sp. і штаму *T. thioparus* спостерігали при внесенні у середовище 5168 мг/л сірководню, ефективність його окиснення бактеріями виявилася нижчою у 1,3–1,4 рази, ніж при внесенні у середовище 2584 мг/л сірководню. Отже, виявлено здатність ацидофобних бактерій роду *Thiobacillus* ефективно окиснювати сірководень у концентрації 2584 мг/л. Як і припускали, при вищих концентраціях сірководню у середовищі пригнічується не лише ріст бактерій, але і їх спроможність окиснювати сірководень.

Таблиця 2

Окиснення сірководню штамми *Thiobacillus* sp. у середовищі Бейєринка з $\text{Na}_2\text{S} \times 9 \text{H}_2\text{O}$

Вихідна концентрація сірководню, $[\text{S}_0^{2-}]$, мг/л	Концентрація сірководню, який випарував, $[\text{S}_{\text{вип}}^{2-}]$, мг/л	Концентрація сірководню у культуральній рідині, $[\text{S}_r^{2-}]$, мг/л	Концентрація сірководню, окисненого клітинами, $[\text{S}_{\text{окисн}}^{2-}]$		Ефективність окиснення сірководню з врахуванням випаровування, $E_{\text{вип}}^*$, %
			мг/л	% від $[\text{S}_0^{2-}]$	
<i>T. thioparus</i>					
1292	104,2±0,1	257,7±0,7	930,1±0,4	71,99	78,30
2584	207,1±0,3	387,7±0,1	1989,2±0,2	76,97	83,69
5168	413,3±0,1	1808,4±0,2	2946,3±0,1	57,01	61,97
7752	620,0±0,4	4340,9±0,3	2791,1±0,5	36,00	39,13
<i>Thiobacillus</i> sp. <i>Yav-8</i>					
1292	104,2±0,1	272,7±0,2	915,1±0,3	70,82	77,04
2584	207,1±0,3	511,5±0,7	1865,4±0,1	72,19	78,48
5168	413,3±0,1	1914,3±0,1	2840,4±0,6	54,95	59,74
7752	620,0±0,4	4451,9±0,6	2680,1±0,8	34,57	37,58
<i>Thiobacillus</i> sp. <i>Yav-11</i>					
1292	104,2±0,1	241,6±0,3	946,2±0,4	73,23	79,66
2584	207,1±0,3	431,2±0,3	1945,7±0,1	75,30	81,86
5168	413,3±0,1	1860,9±0,1	2893,8±0,6	55,99	60,86
7752	620,0±0,4	4387,8±0,2	2744,2±0,5	35,40	38,48
<i>Thiobacillus</i> sp. <i>Yav-14</i>					
1292	104,2±0,1	207,5±0,5	980,3±0,2	75,87	82,53
2584	207,1±0,3	367,0±0,1	2009,9±0,1	77,78	84,56
5168	413,3±0,1	1764,4±0,7	2990,3±0,5	57,86	62,89
7752	620,0±0,4	4310,7±0,2	2821,3±0,9	36,39	39,56

Таким чином, ацидофобні тіонові бактерії є активними окиснювачами сірководню у техногенних водоймах сірковидобувних регіонів. Встановлено високу стійкість бактерій до його підвищених концентрацій. Метаболічна активність ацидофобних бактерій роду *Thiobacillus* може бути основою розробок ефективних біотехнологічних проектів, спрямованих на очищення довкілля від токсичного для живих організмів сірководню та інших відновлених сполук сірки.

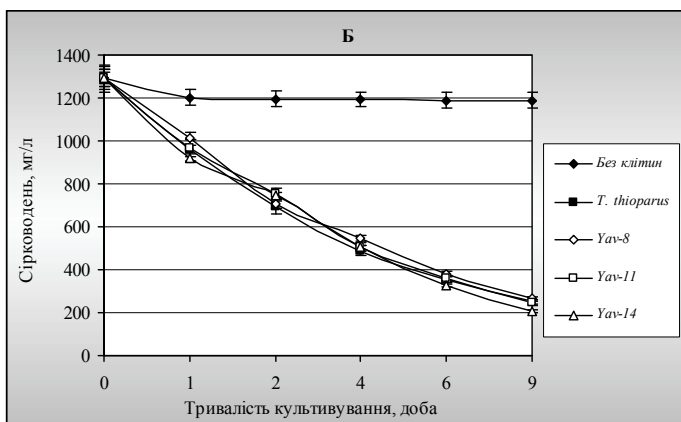
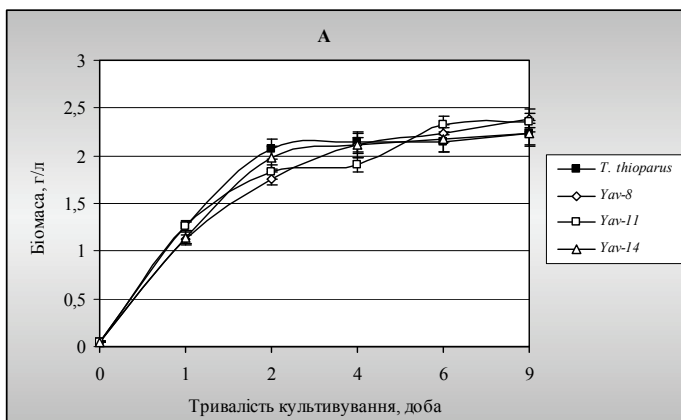


Рис. 1. Біомаса (А) та вміст сірководню (Б) під час росту ацидофобних тіонових бактерій у середовищі Бейєринка з $\text{Na}_2\text{S} \times 9 \text{H}_2\text{O}$.

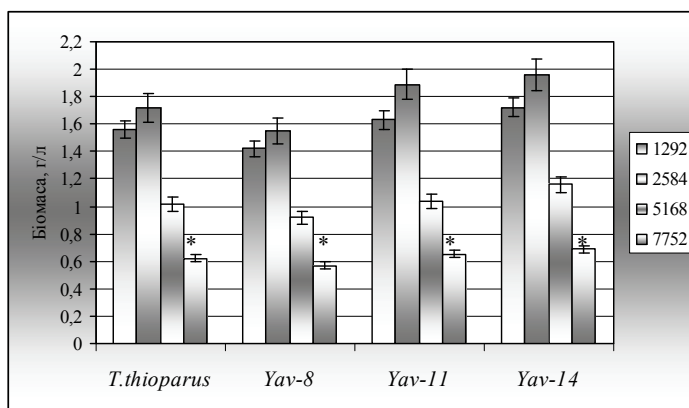


Рис. 2. Біомаса штамів *Thiobacillus* sp. і *T. thioparus* на 9-ту добу росту у середовищі Бейєринка, в яке вносили різну кількість сірки у формі натрію сульфіді (1292, 2584, 5168 та 7752 мг/л). * - $p \leq 0,05$.

**РЕГУЛЯЦИЯ УРОВНЯ СЕРОВОДОРОДА АЦИДОФОБНЫМИ
БАКТЕРИЯМИ РОДА *THIOBACILLUS* В ТЕХНОГЕННЫХ ВОДОЁМАХ
СЕРОДОБЫВАЮЩИХ РЕГИОНОВ**

Резюме

Показано увеличение численности ацидофобных тионовых бактерий в водоёмах Роздольского и Яворовского серодобывающих регионов на протяжении 2005–2009 годов, что коррелирует со снижением содержания сероводорода в поверхностных слоях воды. Выявлена способность ацидофобных бактерий рода *Thiobacillus*, выделенных из озера “Яворовское”, эффективно окислять сероводород, внесённый в среду Бейеринка вместо тиосульфата. Установлено, что эффективность окисления сероводорода штаммами *Thiobacillus* sp. *Yav-8*, *Yav-11* и *Yav-14* является наивысшей (78,48–84,56 %) при условии увеличения в среде культивирования его содержания вдвое: до 2584 мг/л. Увеличение количества серы в форме натрия сульфида в четыре и шесть раз по сравнению с её стандартным содержанием в форме тиосульфата натрия в среде Бейеринка, не приводило к возрастанию эффективности окисления сероводорода клетками.

К л ю ч е в ы е с л о в а: *Thiobacillus* sp., сероводород, Яворовский (озеро “Яворовское”) и Роздольский техногенные водоёмы.

Moroz O.M.

Ivan Franko National University of L'viv

**REGULATION OF HYDROGEN SULFIDE LEVEL BY ACIDOPHOBIC
BACTERIA OF *THIOBACILLUS* GENUS IN TECHNOGENIC RESERVOIRS
OF SULFUR MINING REGIONS**

S u m m a r y

An increase of acidophobic thione bacteria quantity in Rozdil and Yavoriv reservoirs of sulfur mining regions during 2005–2009 years, which correlates with a decrease of hydrogen sulfide content in water surface layers, was shown. The ability of acidophobic bacteria of *Thiobacillus* genus, isolated from “Yavorivske” lake, to oxidize effectively hydrogen sulfide added into Beijerinck medium instead of thiosulfate, was discovered. It was established, that hydrogen sulfide oxidizing efficiency by *Thiobacillus* sp. *Yav-8*, *Yav-11* and *Yav-14* strains is the highest (78.48–84.56 %) when its content in cultivation medium was increased twice: to 2584 mg/l. An increase of sulfur quantity in sodium sulfide form from to six times as compared with its standard content in sodium thiosulfate form in the Beijerinck medium does not lead to the increase of hydrogen sulfide oxidizing efficiency by cells.

К е у w o r d s: *Thiobacillus* sp., hydrogen sulfide, Yavoriv (“Yavorivske” lake) and Rozdil technogenic reservoirs.

The a u t h o r ’ s a d d r e s s: Moroz O.M., Ivan Franko National University of L'viv, 4 Hrushevsky St., L'viv, 79005, Ukraine.

1. Баран І.М., Подопрігора О.І., Гришук Г.В., Бондар Л.С., Кім Л.Я., Клим І.Р., Гнатуш С.О., Гудзь С.П. Екологічний моніторинг водойм Яворівського сіркового родовища; мікробіологічний контроль // Довкілля та здоров'я. - 2003. - 27, № 4. - С. 56–62.
2. Галушка А., Перетятко Т., Гудзь С. Бактерії циклу сірки та їхня роль у природі // Вісник Львів. Ун-ту. Серія біологічна. - 2007. - 43. - С. 61–77.
3. Грабович М.Ю. Участие прокариот в круговороте серы // Соросовский образовательный журнал. - 1999. - № 12. - С. 16–20.
4. Грушко Я.М. Вредные неорганические соединения в промышленных сточных водах. - Ленинград: Химия, 1979. - 161 с.
5. Гудзь С., Гнатуш С., Перетятко Т., Паляниця Б., Коструба М., Подопрігора О., Клим І. Динаміка змін титру сульфатвідновлювальних бактерій та вмісту сульфатів і сірководню у водах кар'єру Яворівського сіркового родовища в процесі його затоплення // Вісн. Львів. ун-ту. Сер.біол. - 2004. - 37. - С. 185–189.
6. Гудзь С.П., Гнатуш С.О., Подопрігора О.І., Клим І.Р., Мороз О.М. Сіркометаболізуючі бактерії Роздільського сірковидобувного кар'єру в процесі його затоплення // Науковий вісник Ужгородського ун-ту. Серія біологія. - 2007. - 20. - С. 230–233.
7. Деркач М.П., Гумецький Р.Я., Чабан М.Є. Курс варіаційної статистики. - Київ: Вища школа, 1977. - 208 с.

8. *Каравайко Г.И., Кузнецов С.И., Голомзик А.И.* Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд. – Москва: Наука, 1972. – С. 190–221.
9. *Кіт Л.Я., Гудзь С.П.* Пурпурові сіркобактерії з водойм Яворівського родовища сірки // Мікробіол. журн. – 2007. – **69**, № 1. – С. 12–19.
10. *Козут О.С., Мороз О.М., Клим І.Р., Борсукевич Б.М.* Окиснення сірководню культурами сіркоокиснюючих бактерій, виділених з озера "Яворівське" // V Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів "Молодь та поступ біології". – Львів, ЛНУ імені Івана Франка, 12-15 травня 2009 р. – **2**. – С. 184.
11. *Крешков А. П.* Основы аналитической химии. – М.: Госхимиздат, 1961. – **2**. – С. 252–253.
12. *Кулачковський О.Р., Паляниця Б.Ю., Мороз О.М.* Сіркоокиснюючі бактерії водойм Яворівського сіркового родовища // Мікробіологічний журнал. – 2007. – **69**, № 6. – С. 33–41.
13. *Мороз О.М., Колісник Я.І., Подопрігора О.І., Клим І.Р., Гудзь С.П., Борсукевич Б.М., Гнатуш С.О.* Мікрофлора води озера "Яворівське" // Науковий вісник Ужгородського ун-ту. Серія біологія. – 2008. – **24**. – С. 131–138.
14. *Паляниця Б.Ю., Мороз О.М., Кулачковський О.Р., Гудзь С.П.* Окиснення сульфідів бактеріями роду *Thiobacillus* // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія біологія. – 2006. – **18**. – С. 124–128.
15. *Перетятко Т.Б., Гнатуш С.О., Гудзь С.П.* Сульфатвідновлювальні бактерії водойм Яворівського сіркового родовища // Мікробіол. журн. – 2006. – **68**. – № 5. – С. 87–93.
16. *Теплер Е. З., Шильникова В. К., Переверзева Г. И.* Практикум по микробиологии. – М.: Дрофа, 2004. – 256 с.

Отримано 20.09.2009