

УДК 579.243; 262

Д.Р. Абдуліна, асп.,  
Л.Г. Асауленко, канд. біол. наук  
Інститут мікробіології  
і вірусології ім. Д.К. Заболотного  
НАН України  
В.М. Гавриш, магістрант  
Національний університет  
харчових технологій

## КІНЕТИЧНІ ПАРАМЕТРИ РОСТУ КОРОЗІЙНО-АКТИВНИХ БАКТЕРІЙ

Визначено ростові характеристики окремих мікробних популяцій сульфідогенного мікробного угруповання, до якого входять сульфатвідновлювальні бактерії та їх асоціативні супутники. Асоціативні супутники, бактерії *P. aeruginosa* 27 та *B. subtilis* 36, характеризуються високими питомими швидкостями поділу ( $0,552 \text{ год}^{-1}$  та  $0,472 \text{ год}^{-1}$  відповідно), які перевищують швидкість поділу клітин сульфатвідновлювальних бактерій *Desulfovibrio* sp. 10 у 7–8 разів. Висловлено припущення, що різниця у швидкостях росту може слугувати однією з умов для суцесії при формуванні корозійно-активного угруповання.

**Ключові слова:** сульфідогенне мікробне угруповання, сульфатвідновлювальні бактерії, параметри росту

Мікробна корозія металевих конструкцій є одним з найбільш небезпечних та поширених видів корозії. Понад 50 % пошкоджень металевих споруд і трубопроводів можуть бути пов'язані з життєдіяльністю мікроорганізмів. Мікробній корозії піддаються численні установки підприємств різних галузей промисловості [1]. У зв'язку з перерахованими фактами дослідження біокорозійних процесів представляють собою актуальну задачу і мають істотне значення для розробки ефективних методів боротьби з мікробною корозією. Великою проблемою є корозія металевих споруд, яка викликається за функціонування біоплівки, утвореної сульфідогенним мікробним угрупованням, домінуючими компонентами у якому є сульфатвідновлювальні (СВБ), залізвідновлювальні, денітрифікувальні та амоніфікувальні бактерії [2, 3]. Бактерії корозійно-активного мікробного угруповання можуть бути використані як модельні мікроорганізми для дослідження корозійних процесів на сталі і створення модельних мікробних угруповань в лабораторних умовах, щоб вивчити механізми взаємодії бактерій з металом з подальшим підбором ефективних інгібіторів процесу мікробної корозії.

Кожна складова угруповання володіє індивідуальними кінетичними характеристиками, які відіграють важливу роль у заселенні металевих поверхонь. Проте, на сьогодні недостатньо даних, які б характеризували динаміку росту популяцій сульфідогенних мікробних угруповань.

Метою нашої роботи було визначення кінетичних параметрів росту складових сульфідогенного мікробного угруповання: сульфатвідновлювальних бактерій роду *Desulfovibrio* та їх асоціативних супутників — бактерій родів *Pseudomonas* і *Bacillus*.

Об'єктами досліджень були бактеріальні штами *Desulfovibrio* sp. 10 та їх супутники *Pseudomonas aeruginosa* 27 і *Bacillus subtilis* 36, ідентифіковані співробітниками відділу загальної та ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України [2].

Серед різноманіття мікроорганізмів, що утворюють корозійно-активні біоплівки, найактивнішу участь у процесі мікробної корозії відіграють СВБ, тому щоб досягнути однакових умов для порівняння ростових характеристик мікроорганізмів, домінантних

представників сульфідогенного мікробного угруповання, ми використовували середовище Постгейта «В», яке є селективним для СВБ.

Сульфатвідновлювальні бактерії *Desulfovibrio* sp. 10 культивували упродовж 336 год (14 діб) в мікроаерофільних умовах при температурі 28 °С. У флакони на 50 мл вносили інокулят, концентрація якого становила 10 % від об'єму середовища. Показники знімали з наступною періодичністю: 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 10, 12, 14 діб. Після закінчення певного терміну експозиції культуральну рідину відбирали та визначали титр клітин та накопичення білку у клітинах.

Асоціативні супутники, *P. aeruginosa* 27 та *B. subtilis* 36, культивували у 50 мл середовища Постгейта «В» у колбах об'ємом 500 мл за частоти обертання качалки 240 об/хв при температурі 28 °С. Концентрація інокуляту становила 5 % від об'єму середовища. Показники знімали з періодичністю 6, 12, 24, 48, 72, 96 год. Визначали титр клітин та накопичення білку у клітинах.

Концентрацію клітин визначали методом граничних десятикратних розведень [4]. Накопичення біомаси аналізували за вмістом білка в клітинах методом Лоурі [3].

За визначеними показниками будували логарифмічні криві росту та визначали параметри росту [5]: константу швидкості поділу ( $\nu$ ), питому швидкість росту культур ( $\mu$ ), час генерації ( $g$ ), час подвоєння клітин ( $T_d$ ).

Ріст СВБ *Desulfovibrio* sp. 10 характеризувався наявністю трьох фаз росту, як видно з побудованої кривої росту культури (рис. 1).

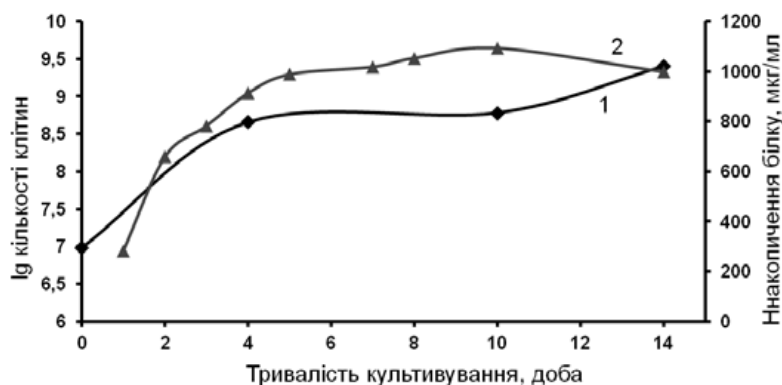


Рис. 1. Крива росту (1) та накопичення білку клітинами (2) штаму *Desulfovibrio* sp. 10

Відмічено відсутність лаг-фази, а фаза експоненційного росту тривала протягом 4-ох діб. На 5-у добу спостерігали сповільнення росту та вихід на стаціонарну фазу. Втім на 14-у добу знову було помітно збільшення кількості клітин на 7 %. На 10-у годину культивування відмічено максимальне накопичення білку у клітинах (1090 мкг/мл), що за часом співпадало з максимальною кількістю клітин в стаціонарній фазі росту.

За культивування штаму *P. aeruginosa* 27 спостерігали деяке зниження концентрації клітин на 6-у годину культивування, що в умовах використання середовища не оптимального для розвитку цих бактерій є цілком зрозумілим, крім того це можна пояснити негативним впливом сірководню присутнього у середовищі на ріст культури. Експоненційна фаза росту тривала 18 годин, вихід на стаціонарну фазу росту припав на 25-у годину. Найбільшу кількість білку, що накопичували клітини бактерій *P. aeruginosa* 27 (до 730 мкг/мл) відмічено на 10—24-у години культивування (рис. 2).

Ріст *B. subtilis* 36 характеризувався відсутністю лаг-фази, на відміну від попередньо розглянутого штаму. Фаза експоненційного росту тривала упродовж 6-и годин. Вихід на стаціонарну фазу росту, як і у випадку *P. aeruginosa* 27, відбувся на 25-у годину. Клітини штаму *B. subtilis* 36 повільніше накопичували білок — максимальні значення (644 мкг/мл) спостерігались на 18—24-у години культивування (рис. 3). Максимальні

значення вмісту білку в клітинах штамів асоціативних супутників в часі співпадають з експоненційною фазою росту цих культур, яка характеризується значним вмістом ферментів, що пов'язано з інтенсивними процесами росту на даній стадії.

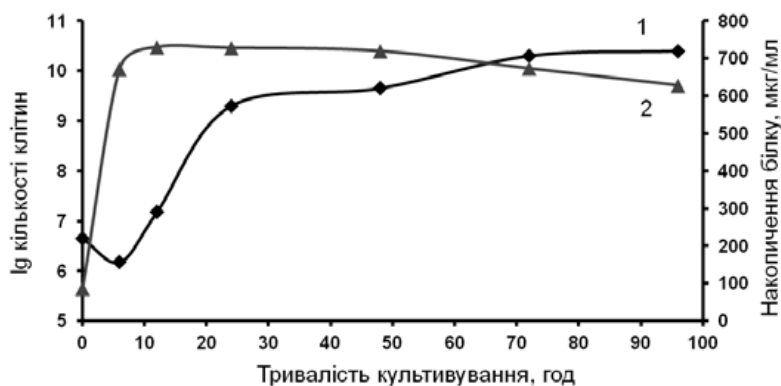


Рис. 2. Крива росту (1) та накопичення білку клітинами (2) штаму *P. aeruginosa* 27

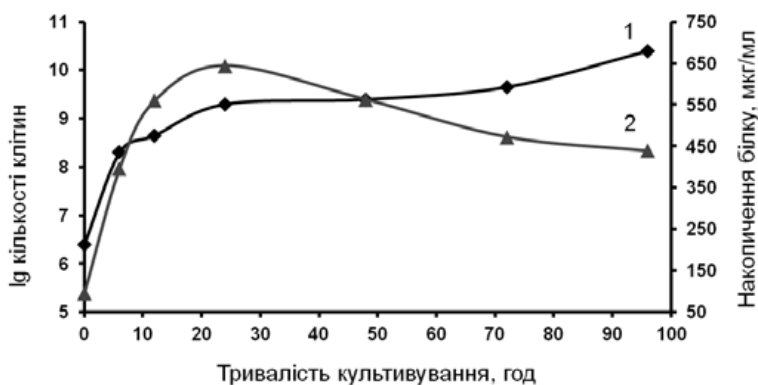


Рис. 3. Крива росту (1) та накопичення білку клітинами (2) штаму *B. subtilis* 36

Вибір середовища Постгейта «В» для культивування досліджуваних штамів дав змогу оцінити та співставити ростові характеристики членів сульфідогенного угруповання.

Параметри росту представників сульфідогенного мікробного угруповання

Штам	Константа швидкості поділу $\nu$ , год <sup>-1</sup>	Час генерації $g$ , год	Швидкість росту $\mu$ , год <sup>-1</sup> за білком	Час подвоєння $t_d$ , год
<i>Desulfovibrio</i> sp. 10	0,069	14,49	0,021	33,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27	0,552	1,81	0,344	2,01
<i>Bacillus subtilis</i> 36	0,472	2,11	0,236	2,94

При порівнянні питомих швидкостей росту членів сульфідогенного мікробного угруповання (табл.) очевидно, що питомі швидкості росту асоціативних супутників *P. aeruginosa* 27 та *B. subtilis* 36 є на порядок вищими порівняно з клітинами штаму *Desulfovibrio* sp. 10. Тому, супутники можуть першими заселяти металеві поверхні, а СВБ, яким властива нижча питома швидкість росту, очікувано будуть переважати на пізніх стадіях розвитку сульфідогенного мікробного угруповання.

Наведені константи швидкості поділу досліджуваних штамів корелюють зі значеннями питомої швидкості росту. Асоціативні супутники СВБ *Pseudomonas*

*aeruginosa* 27 та *Bacillus subtilis* 36 характеризуються високими швидкостями поділу ( $0,552 \text{ год}^{-1}$  та  $0,472 \text{ год}^{-1}$ , відповідно), які перевищують швидкість поділу штаму *Desulfovibrio* sp. 10 у 7—8 разів. Отже, можна припустити, що різниця у швидкостях росту може слугувати передумовою для сукцесійних змін при формуванні корозійно-активного мікробного угруповання.

Ці припущення узгоджуються з даними попередніх досліджень [3], де було показано, що домінування асоціативних бактерій в сульфидогенному угрупованні сформованому в біоплівці на сталі припадало на 3—9-ту години. Розвиток СВБ відмічено лише на 24-ту годину, а максимальна їх кількість була зафіксована на 10-ту добу культивування асоціації.

**Висновки.** 1. Визначено ростові характеристики окремих мікробних популяцій сульфидогенного мікробного угруповання, до якого входять сульфатвідновлювальні бактерії та їх асоціативні супутники, на середовищі Постгейта «В».

2. Показано, що асоціативні супутники сульфатвідновлювальних бактерій *P. aeruginosa* 27 та *B. subtilis* 36 пристосовані до функціонування у даному сульфидогенному угрупованні, свідченням чого є інтенсивне накопичення білку цими штамми на середовищі Постгейта «В» (730 та 644 мкг/мл).

3. Встановлено, що бактерії *P. aeruginosa* 27 та *B. subtilis* 36 характеризуються високими швидкостями поділу ( $0,552 \text{ год}^{-1}$  та  $0,472 \text{ год}^{-1}$ , відповідно), які перевищують швидкість поділу штаму *Desulfovibrio* sp. 10 у 7—8 разів.

4. Визначені ростові характеристики представників корозійно-активного сульфидогенного мікробного угруповання, свідчать про значні адаптаційні можливості асоціативних супутників сульфатвідновлювальних бактерій, що дозволить застосувати ці знання на практиці в подальших дослідженнях по вивченню явищ мікробної корозії.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Андреев К.И., Козлова И.П., Коптєва Ж.П. та ін. Микробна корозія підземних споруд. — К.: Наук. думка, 2005. — 258 с.
2. Асауленко Л.Г., Абдуліна Д.Р., Пуриш Л.М. Таксономічне положення окремих представників сульфидогенного корозійно-агресивного мікробного угруповання // Мікробіол. журнал. — 2010. — Т. 72, № 4. — С. 3 — 10.
3. Пуриш Л.М., Асауленко Л.Г. Динаміка сукцесійних змін у сульфидогенній мікробній асоціації за умов формування біоплівки на поверхні сталі // Мікробіол. журнал. — 2007. — Т. 69, № 6. — С. 19 — 25.
4. Методы общей бактериологии: В 3 т. / Под ред. Ф. Герхардта. — М.: Мир, 1983. — Т.1. — 536 с.
5. Шлегель Г. Общая микробиология. М.: Мир, 1987. 567с.

Д.Р. Абдуліна, Л.Г. Асауленко,  
В.М. Гавриш

#### Кинетические параметры роста коррозионно-активных бактерий

Определены ростовые характеристики отдельных микробных популяций сульфидогенного микробного сообщества, в состав которого входят сульфатвосстанавливающие бактерии, а также их ассоциативные спутники, на среде Постгейта «В». Ассоциативные спутники, бактерии *P. aeruginosa* 27 и *B. subtilis* 36, характеризуются высокими удельными скоростями деления ( $0,552 \text{ час}^{-1}$  и  $0,472 \text{ час}^{-1}$  соответственно), превышающими скорость деления клеток сульфатвосстанавливающих бактерий *Desulfovibrio* sp. 10 в 7—8 раз. Высказано предположение, что разница в скоростях роста может служить одним из условий для сукцессии при формировании коррозионно-активного микробного сообщества.

**Ключевые слова:** сульфидогенное микробное сообщество, сульфатвосстанавливающие бактерии, параметры роста

D. Abdulina, L. Asaulenko,  
V. Gavrish

**Kinetic growth parameters of the corrosive-active bacteria**

*It has obtained growth characteristics in Postgate B medium of the separate microbial populations of the sulfidogenic microbial community, which consists of sulfate-reducing bacteria and their associative satellites. Associative bacteria P. aeruginosa 27 and B. subtilis 36, are characterized by the high specific division rates ( $0,552 \text{ h}^{-1}$  and  $0,472 \text{ h}^{-1}$  respectively). They are having higher specific division rates in 7—8 times more than Desulfovibrio sp. 10 cells. It has been expressed, that the difference in growth rates could be one of a factor for succession changes during the formation of the corrosive-active microbial community.*

**Key words:** sulfidogenic microbial community, sulfate-reducing bacteria, growth parameters

---

e-mail: adara@ukr.net

Надійшла до редколегії 17.04.2012 р.