

УДК 576.8:620.193

М.О. Борецька, І.П. Козлова

*Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Заболотного, 154, м. Київ МСП, Д 03680, Україна*

БІОПЛІВКА НА ПОВЕРХНІ МЕТАЛУ ЯК ФАКТОР МІКРОБНОЇ КОРОЗІЇ

Основну увагу приділено методам дослідження, етапам формування біоплівки, екзополімерним сполукам бактерій як основним чинникам формування біоплівки. Розглянуто мікробну корозію як результат взаємодії між біоплівкою і поверхнею металу, що проявляється в біомінералізації. Перспектива вивчення біоплівки пов'язана з дослідженням їхньої архітекτονіки, яка визначається структурою і функцією складових біоплівки: біополімерів і біомінералів.

Ключові слова: біоплівка, бактерії циклу сірки, екзополімерні сполуки, біомінералізація, мікробна корозія.

Визначення поняття біоплівки. На сучасному етапі розвитку мікробної корозії стає очевидним унікальність і значення біоплівкової моделі росту мікроорганізмів [54]. Особливої уваги потребує вивчення біоплівки, що сформована на поверхні металу, де ініціюються і прискорюються процеси мікробної корозії. Цей факт пояснює, чому стратегія дослідження мікробної корозії пов'язана саме з біоплівками. Незалежно від поверхні, де функціонує біоплівка, її основою є екзополімер [54], що обумовлює сучасні уявлення щодо визначення суті біоплівки.

Сучасний узагальнений термін «біоплівка» використовується для визначення сукупності бактерій і продуктів їх метаболізму на межі поділу фаз – твердої і рідкої, прикріплених до поверхні у водному або водонасиченому середовищі [44, 83]. Автори Characklis та Marshall визначають біоплівку як сукупність клітин, що іммобілізовані на субстраті та занурені у органічний полімерний матрикс мікробного походження. Більш широке визначення запропоновано Costerton [87], який описав біоплівку як популяцію бактерій, що занурені у матрикс і адгезовані одна до одної та/або до поверхні. Flemming [48] зазначає, що матрикс не є суцільним, а представляє собою грибоподібні структури з порожнинами для протоку рідини, тобто спостерігається формування гетерогенної структури біоплівки. За допомогою потоків відбувається транспорт поживних речовин, ацилгоссеринлактону, що обумовлює формування так званої quorum-sensing системи.

Рівень дослідження біоплівки різних мікроорганізмів дозволяє деяким авторам розглядати структуру та фізіологічну організацію біоплівки як аналог багатоклітинного організму [72]. Такий висновок було зроблено на основі вивчення фенотипової диференціації клітин у моно-видових біоплівках, дослідження спеціальних сигнальних молекул для комунікації у товщі біоплівки і спостереження спонтанних мутацій, навіть серед генетично ідентичних клітин. Отже, було зроблено висновок, що біоплівки являють собою баланс між конкуренцією та кооперацією мікроорганізмів.

Згідно з даними Ghigo [51], саме у товщі біоплівки відбувається більш активний горизонтальний перенос генів за допомогою кон'югативних плазмід, порівняно із аналогічними процесами у планктонних клітин. Цей зв'язок між кон'югацією та біоплівкою підтверджує, наприклад, факт формування резистентних до біоцидів біоплівки [56].

Методи дослідження біоплівки. Сучасне розуміння і уявлення щодо формування і функціонування біоплівки базується на результатах новітніх методів дослідження. Застосування методу конфокальної лазерної скануючої мікроскопії (КЛСМ) дозволяє досліджувати нативні біоплівки, а саме спостерігати динаміку розвитку живих клітин, виявляти присутність білків, вуглеводів, жирів, нуклеїнових кислот на різних шарах біоплівки, а за умов пошарового сканування кількісно їх характеризувати [65]. На відміну від звичайного світлового мікроскопу, КЛСМ дозволяє досліджувати зображення не тільки у площинах XY, але і XZ, © М.О. Борецька, І.П. Козлова, 2010

тобто робити вертикальні зрізи препарату та фіксувати їх [38]. Саме завдяки такому методу відбулась зміна уявлення відносно гомогенної моделі біоплівкового угруповання, якій було притаманне неупорядковане існування бактерій на твердій поверхні товщиною в один шар клітин, на гетерогенну модель, що являє собою комплексне, впорядковане угруповання мікроорганізмів, що оточені екзополімерними сполуками [34, 41].

Для дослідження рельєфу поверхні зразка використовується атомносилова мікроскопія, що видає результати сканування у трьохмірному зображенні [78] та метод растрової електронної мікроскопії (РЕММА) [21] для визначення структури біоплівки, її елементного складу. Для хімічного аналізу клітин, що локалізовані на неметалевому субстраті, де товщина зразка близько 2-5 нм, застосовується рентгенівська фотоелектронна спектроскопія [27].

Завдяки комбінованому використанню методів КЛСМ та РЕММА встановлено, що біоплівка бінарної культури *Thiobacillus thioarvus* 4М та *Stenotrophomonas maltophilia* 13М порівняно з монокультурами є більш структурованою і містить порожнини, клітини, оформлені у конгломерати та оточені екзополімерними сполуками (рис. 1). Сформована біоплівка бінарних культур сприяє більш активному розвитку корозійних процесів [21].

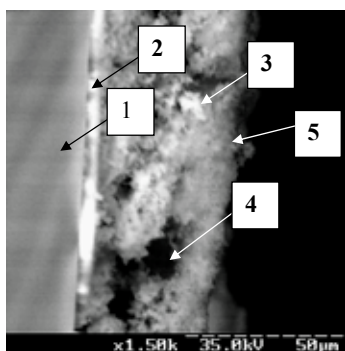


Рис. 1. Біоплівка бінарної культури *Thiobacillus thioarvus* 4М та *Stenotrophomonas maltophilia* 13М (профільне зображення РЕММА). 1 – товща скла; 2 – поверхня металу; 3 – конгломерати сірки; 4 – порожнини; 5 – біоплівка.

За даними Beech [29], для вивчення характеру адгезії клітин до поверхні, взаємодій між клітиною та поверхнею, їх фізико-хімічних властивостей застосовується атомносилова спектрометрія та біологічносилова мікроскопія. Для визначення фізичних властивостей екзополімеру на поверхні клітини або на поверхні металу використовується метод атомносилової спектроскопії [29, 31]. Для моніторингу та вивчення характеристик мікробних біоплівок перспективним є метод поверхнево-збільшеної лазерної десорбційної іонізації (surface-enhanced laser desorption ionization) [27].

Біохімічний склад екзополімерів на поверхні клітин без пошкодження самого біополімеру визначається за допомогою застосування Раман-мікроскопії [59].

Важливого значення набуває флуоресцентна гібридизація з використанням 16S РНК (FISH) [55]. Дослідження проводяться за допомогою флуоресцентних рРНК-мічених олігонуклеотидів та різноманітних мікросенсорів, дослідження в умовах online шляхом використання конфокального мікроскопіювання [37, 67].

Застосування нового підходу до вивчення мікробної корозії у біоплівках, що сформовані сульфатвідновлювальними бактеріями на тонких металевих матрицях, напилених на склі, дає змогу дослідити не тільки потужність біоплівки, а й агресивність компонентів відносно металу впродовж однієї доби. Руйнування металевої матриці як клітинами біоплівки, так і їх екзосполуками, дозволяє оцінити ступінь агресивності досліджуваної групи бактерій [15]. Агресивність корозійно небезпечних бактерій на поверхні металу залежить від адгезивних властивостей та здатності формувати потужну біоплівку [16].

Етапи формування біоплівок. Початку формування біоплівки передуює процес спрямованого руху бактерій до поверхні, який здійснюється завдяки наявності у мікроорганізмів хемо- або магнітотаксису. Основою таксису є сума тактильних сигналів, що отримує клітина

від рецепторів, які змінюються за допомогою спеціальних метилакцептувальних білків, локалізованих у периплазмі чи цитоплазматичній мембрані. Потім настає адаптація та прийом сигналу таксису базальним тілом джгутика, внаслідок чого відбувається реверсія напрямку кругіння останнього і зміна напрямку руху клітин [4].

Згідно з даними багатьох авторів, біоплівки різних видів характеризуються наступними етапами формування. Початковим етапом є адгезія клітин до поверхні та її колонізація, при чому мікроорганізми адгезуються до поверхні після стадії її модифікації [7, 18, 49]. Цей процес проявляється у різний спосіб: накопичення на твердій поверхні глікопротеїнів, або в утворенні шару, який складається з інших органічних та неорганічних речовин [70, 81].

Як зазначає Jacker [60], адгезія може відбуватися тільки за участі сил Ван дер Вальса або гідрофобної взаємодії між поверхневими полімерами бактерій та твердою поверхнею. Такої ж думки дотримується Курдіш [18], підкреслюючи, що важливе значення у процесі прикріплення мікроорганізмів до твердих поверхонь належить силам електростатичної та гідрофобної взаємодії. В сучасній літературі найбільша увага приділяється слизовим екзополімерним сполукам як адгезинам [23, 39, 57, 79, 91]. Екзополімери ініціюють прикріплення до широкого кола поверхонь.

Дані щодо біохімічного складу екзополімерів досить різноманітні та суперечливі. Згідно з результатами Beveridge [33, 50], для попередньої адгезії клітин до такої поверхні, як пірит або сірка, у екзополімері необхідна присутність ліпополісахаридів. O'Tool et al. [73], показали, що адгезинами в основному є екзополісахариди. Проте, як встановлено Dogsa [47], екзополімерний комплекс містить переважно полісахариди та 15 % білку від всієї маси, хоча Gehrke вважає [50], що екзополімер складається в основному з полісахаридів та ліпідів.

Згідно з даними деяких авторів [80, 82, 95], після адгезії різних видів клітин до поверхні (*P.aeruginosa*, *V.cholerae*, *E.coli*), відбувається вибіркова експресія більше ніж у 10 % геному клітин біоплівки порівняно з клітинами планктону. Дослідження експресії генів доводить, що біоплівка, сформована різними видами або штамами бактерій, може відрізнятися від такої, що сформована планктонними популяціями [32].

Наступним етапом формування біоплівки є колонізація поверхні. Як показали дослідження Grossant [52], колонізація поверхні клітинами та наступне формування біоплівки контролюється такими факторами, як гідродинаміка, хімія поверхні, фізіологія та генотип клітини.

Подальшим етапом формування біоплівки завдяки екзополімеру є утворення мікроколоній клітин – агрегатів, що сформовані бактеріями на поверхні. Як показали дослідження деяких авторів, саме екзополімерний матрикс грає вирішальну роль у формуванні біоплівкової структури, скріплюючи клітини біоплівки, формуючи порожнини та захищаючи клітини від зовнішніх факторів [40, 63, 74]. На основі таких досліджень Flemming et al. охарактеризували екзополімер як «будинок для клітини біоплівки» [48].

На наступному етапі формування, мікроколонії біоплівки утворюють макроколонії – більш агреговані і складні за структурою. Згідно з даними літератури [62], макроколонії клітин мають грибоподібну структуру з наявними порожнинами. Stoodley et al. [86], вважають, що у прокариот подібний комплекс взаємодій можна розцінювати як прототип багатоклітинного організму. Було визначено, що екзополімерний матрикс, який оточує клітини біоплівки і формує макроколонії, виконує різні функції: конструктивну (нейтральні полісахариди), сорбційну (заряджені чи гідрофобні полісахариди), сприяє взаємодії макроколонії з поверхнею (екстрацелюлярні ДНК), обміну генетичною інформацією [24].

Залежно від видового складу біоплівки її структура, біохімічний та хімічний склад можуть змінюватися [9, 10, 20]. Зокрема, структура біоплівки, що сформована бінарною культурою *T. thioparus* 7M та *Stenotrophomonas maltophilia* 14M, відрізнялась більш складною архітектонікою, вміст сірки у такому угрупованні був у 2 рази вищим порівняно з монокультурою *T. thioparus* 7M, екзополімер бінарної біоплівки містив екзополісахариди, що не зустрічаються у екзополімерах монокультур.

Екзополімери – основні чинники формування біоплівки.

Багаточисельні дослідження свідчать про те, що екзополімери містять не тільки екзополісахариди. До їхнього складу входять різні білки, глікопротеїни, гліколіпіди,

екстрацелюлярні ДНК. Згідно з даними деяких авторів, полісахариди у природних біоплівках зустрічаються у незначній кількості, не зважаючи на те, що вони відіграють значну роль у прикріпленні клітин до поверхні завдяки клейким властивостям [44, 45].

Екзополімерні комплекси можуть представляти собою різноманітні утворення залежно від характеру призначення: капсульні; біоплівкові; ті, що вивільняються у поживне середовище [28, 43, 88, 89]. Безпосередньо капсульні полімери відіграють важливу роль захисту клітини від висихання та атаки фагів. Подібні полімери можуть містити полісахариди, білки, ліпіди, нуклеїнові кислоти [46].

На певних етапах формування біоплівки може спостерігатися зміна співвідношення продукції різних полісахаридів, зміна синтезу та складу екзополімерів у товщі матриксу залежно від мікробного складу біоплівки [90]. Згідно з повідомленням Schembri [80], екзополісахариди мають різну конформацію – первинну, вторинну чи третинну структури, завдяки чому вони фізично взаємодіють між собою. У створенні структури біоплівки можуть відігравати роль такі екзополісахариди, як леван у *Pseudomonas* sp. [64].

Дослідження коланової кислоти, що є одним із компонентів екзополімеру *E.coli* K-12, показали, що вона є важливою у процесах формування архітектоники біоплівки та її товщини, при цьому не впливаючи на адгезію клітин до абіотичних субстратів [43]. Така складова екзополімеру як альгінат, за повідомленням Boyd, може відігравати значну роль у формуванні структури біоплівки [36]. Вплив присутності альгінату на формування біоплівки також спостерігали інші автори [64, 76, 77].

Як зазначалося вище, екзополімерні сполуки відіграють також і захисну функцію біоплівки проти атаки фагів. Протистояння біоплівкових бактерій фагам відбувається завдяки природним асоціаціям бактерій, які впродовж свого існування продукують не однотипові, а різноманітні асоціативні екзополімерні комплекси, які перешкоджають з'єднанню фагової деполімерази та проникненню фагів у середину біоплівкового матриксу [44, 93]. Однак бактеріофаг має здатність продукувати специфічні ферменти – полісахариддеполімерази, завдяки яким може руйнувати захисний шар екзополімеру і діставатися поверхні бактерій [94]. Згідно з Hughes [58], відбувається руйнація полімеру, протягом якої з'єднання деполімерази фага з клітиною за рахунок гліканази призводить до поєднання бактеріофага з первинним рецептором клітини. Процес призводить до ураження клітин біоплівки та їх загибелі.

Біохімічний склад екзополімеру може змінюватись залежно від виду бактерій, що формують біоплівку [10]. На прикладі моно- та бінарних культур *T. thioparus* 4M і *S. maltophilia* 13M було показано, що присутність гетеротрофного супутника суттєво впливає на моносахаридний склад екзополімеру біоплівки. Була відмічена присутність таких нейтральних моносахаридів, як рамноза, рибоза, ксилоза, галактоза в екзополімері бінарних культур на відміну від монокультури *T. thioparus* 4M і *S. maltophilia* 13M. Подібні дані були одержані Kives [61], що показав обов'язкову присутність рамнози та глюкози в екзополімері біоплівки *Pseudomonas fluorescens* B52.

Мікробна корозія як результат взаємодії між біоплівкою та поверхнею металу.

Мікроорганізми, що формують стійку до руйнування та міцну біоплівку на поверхні металу стимулюють біоелектрохімічний процес його руйнації, або мікробну корозію [4].

Як зазначено Hamilton [53], дослідження мікробної взаємодії з металом дозволили сформулювати уніфіковану електрон-транспортну гіпотезу, яка розглядає мікробну корозію металу як модельну систему. Згідно з цією гіпотезою, біокорозія є процесом, у якому мікроорганізми продукують нерозчинні біомінерали, які приймають електрони з металевої поверхні, що сприяє спрямованому потоку електронів від металевого аноду до акцептору електронів. Проте, за даними Beech [30], вищевказана гіпотеза приділяє мало уваги значенню екзополімерного матриксу. Ферменти, які активні у товщі біоплівкового матриксу, пов'язані з екзополімерними сполуками, мають здатність до каталізації катодних реакцій.

Участь бактерій циклу сірки у процесі корозії підземних споруд було показано ще 1930-ті роки Kuhn та Vlugt [92], які встановили, що швидка корозія газопроводу була обумовлена активним розвитком сульфатвідновлювальних бактерій, які виступали у ролі катодних

деполяризаторів у безпосередній близькості від металевої труби.

Мікробна корозія є одним з найбільш небезпечних і розповсюджених видів корозії. Вона вражає різноманітні трубопроводи, кабелі зв'язку, цистерни для зберігання палива і таке інше. Найбільш небезпечними в корозійному відношенні для підземних споруд є мікроорганізми, життєдіяльність яких пов'язана з процесами трансформації сірки та її сполук [2, 26]. Протягом останніх десятиріч метою дослідників було знайти специфічні реакції, які б могли визначити мікробну корозію та відділити цей процес від звичайної гальванічної корозії. Деякі автори вважають, що саме поняття «біомінералізація» – біогенне утворення сульфідів, елементної сірки та інших мінералів – може слугувати загальною назвою для мікробної корозії [68, 69].

Очевидно, що мінерали, які є продуктами корозії і акумулюються на металевій поверхні, відіграють важливу роль у взаємодії між мікроорганізмом та металом [68]. Мінеральна фаза, яка знаходиться в контакті з металом, впливає на його потенціал та слугує медіатором у процесі перенесення електронів між металом та планктонними клітинами. Присутність мікроорганізмів модифікує відкладання та швидкість розчинення цих мінералів, впливаючи таким чином на електрохімічні властивості металів [66, 68].

Результати мікробіологічних обстежень ґрунту, що прилягає до масиву підземних металевих споруд засвідчують існування зони активного розмноження сульфатвідновлювальних бактерій. Ця зона безпосередньо контактує з поверхнею металу підземної конструкції та отримала назву „феросфера” [3, 6]. Феросфера сприяє розвитку угруповання корозійно активних мікроорганізмів. Внаслідок руйнування металу у ґрунті, що прилягає до нього, відбувається накопичення іонів заліза. Залізовідновлювальні бактерії, які активно розвиваються в цій зоні, сприяють відновленню Fe (III) до Fe (II). Накопичення останніх призводить до зниження окисно-відновлювального потенціалу, що інтенсифікує життєдіяльність сульфатвідновлювальних бактерій. Крім того, Fe²⁺ -іони, що входять до складу активних центрів гідрогеназ мікроорганізмів, активують життєдіяльність усієї агресивної мікробної сукупності [19].

До корозійно небезпечних мікроорганізмів відносяться сульфатвідновлювальні бактерії роду *Desulfovibrio*, які є основними збудниками мікробної корозії підземних металевих споруд, та їх природні асоціанти – корозійно небезпечні бактерії роду *Thiobacillus*, що досить широко розповсюджені у природі. Їх знаходять у ґрунтах, гірських породах, сірчанних і сульфідних родовищах, відвалах і териконах вугільних розробок, морях, прісних і солоних озерах, термальних джерелах, стічних водах та ін. [13, 14, 17, 22, 25, 35].

Згідно з даними Postgate [75], сірка є одним із найважливіших і найпоширеніших елементів у природі. Вона входить до складу амінокислот, білків, вітамінів, у неорганічних сполуках сірка трапляється у вищих ступенях як відновлення так і окиснення. У біосфері сполуки сірки переважно представлені сірководнем, полісульфідами, сульфатами та елементною сіркою [11, 85]. Геохімічна діяльність тіонових бактерій тісно пов'язана з генезисом родовищ сірки під час окиснення біогенного сірководню, з окисненням елементної сірки в ґрунті та формуванням зон окиснення у сульфідних і кам'яновугільних родовищах [12].

У техно- та еконішах елементну сірку здатні продукувати ацидофобні бактерії *T. thioparus*. Постійним гетеротрофним супутником *T. thioparus* у природних угрупованнях є *Stenotrophomonas maltophilia*, що мають здатність до продукції значної кількості клейких екзополімерних сполук [5]. Завдяки присутності такого супутника, біоплівка, що формується на поверхні маловуглецевої сталі, більш стійка, структурована, містить у своєму складі близько 12 % сірки від загального числа визначених елементів [8]. Остання відкладається на металі та підсилює гетерогенність його поверхні, внаслідок чого виникають електрохімічні комірки [1]. Під твердими частинками сірки у біоплівці створюються анодні зони, в яких починається руйнування металу – пітингова корозія. Концентраційні комірки можуть виникати також внаслідок прикріплення клітин тіонових бактерій та їх супутників до поверхні металу.

Отже, дослідження біоплівок базуються на сучасних уявленнях, які розглядають біоплівку як звичайну мікронішу [42]. Бактерії біоплівки ростуть у матрикс-занурених мікроколоніях, які межують з менш щільними ділянками матриксу, що вміщує високопрониклі водні канали.

Вважають, що біоплівковий матрикс в основному складається з екзополісахаридів, які містять одну або більше уронових кислот і щільно концентруються навколо мікроколонії, які

їх продукують. Все це створює гетерогенність матриксу, яка ускладнює архітектуру самої біоплівки. Розкрити цю структуру можна, вивчаючи, по-перше, якісний склад біополімерів матриксу, і по-друге, якісний склад і структуру біомінералів, які відкладаються у біоплівці. У випадку формування біоплівок *T. thioarvus* на поверхні маловуглецевої сталі це – елементна сірка. Відомо, що вона має багато структурних форм: ланцюгові, кільцеві, у вигляді спіралі, в основі яких лежать S=S зв'язки [71]. Очевидно, що за умов взаємодії активних аніонних біополімерів матриксу із алотропами сірки формується міцна і потужна, якісно нова структура, подібна до надійного «будинку бактерій». Вивчення такої структури, механізмів її формування і функцій безумовно збагатить наші уявлення щодо ролі біоплівок у корозійному процесі.

М.А. Борецкая, И.А. Козлова

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев

БИОПЛЕНКА НА ПОВЕРХНОСТИ МЕТАЛЛА КАК ФАКТОР МИКРОБНОЙ КОРРОЗИИ

Резюме

Основное внимание уделено методам исследования, этапам формирования биопленок, экзополимерным соединениям бактерий как основным факторам формирования биопленки. Рассмотрели микробную коррозию как результат взаимодействия между биопленкой и поверхностью металла, которое проявляется в биоминерализации. Перспектива изучения биопленок связана с исследованиями их архитектуры, которая определяется структурой и функцией составляющих биопленки: биополимеров и биоминералов.

Ключевые слова: биопленка, бактерии цикла серы, экзополимерные соединения, биоминерализация, микробная коррозия.

М.О. Boretska, I.P. Kozlova

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

BIOFILM ON A METAL SURFACE AS A FACTOR OF MICROBIAL CORROSION

Summary

Main attention was given in the present review to the research methods, phases of biofilm's forming, exopolymer compounds of bacteria as main biofilm forming factor. A microbial corrosion as a result of interaction between the biofilm and metal surface was considered. The interaction was displayed in biomineralization. The future trends of biofilms study were bound with research of their architecture. That architecture was determined by the structure and function of biofilms compounds: biopolymers and biominerals.

The paper is presented in Ukrainian.

К е у в о р д s: biofilm, sulfur cycle bacteria, exopolymer's compound, biomineralization, microbial corrosion.

The author's address: *Boretska M.O., Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.*

1. *Андреюк Е.И., Бидай В.И., Коваль Э.З., Козлова И.А.* Микробная коррозия и ее возбудители. – Киев: Наук. Думка, 1980. – 288 с.
2. *Андреюк Е.И., Козлова И.А.* Литотрофные бактерии и микробиологическая коррозия. – Киев: Наук. Думка, 1977. – 167 с.
3. *Андреюк Е.И., Пиляшенко-Новохатный А.И., Антоновская Н.С., Козлова И.А.* Ферросфера – зона формирования коррозионно – активного сообщества микроорганизмов // Доповіді НАН України. – 2002. – № 3. – С 157–161.
4. *Андреюк К.И., Козлова I.P., Коптева Ж.П.* та ін. Микробна корозія підземних споруд – К.: Наук. думка. – 2005 – 259 с.
5. *Антоновская Н.С., Бойко О.И., Кирьянова Е.А.* *Xanthomonas maltophilia* – компонент коррозионно активного сообщества микроорганизмов // Микробиол. журн. – 1992. – 54, № 3. – С. 60–65.
6. *Антоновская Н.С., Козлова И.А., Андреюк Е.И.* *Thiobacillus thioarvus* – активный агент коррозии стали // Микробиол. журн. – 1986. – 48, №1. – С.36–41.
7. *Асаулєнко Л.Г., Пуриш Л.М., Козлова I.P.* Етапи формування біоплівки сульфатвідновлювальними

- бактеріями // Мікробіол. журн. – 2004. – **66**, № 3. – С. 72–79.
8. *Борецька М.О., Козлова І.П.* Вплив екзополімерів біоплівки на швидкість мікробної корозії маловуглецевої сталі // Мікробіол. журн. – 2007. – **69**, № 4. – С. 40–44.
 9. *Борецька М.О., Козлова І.П., Остапчук А.М.* Моносахаридний склад екзополімерного комплексу *Thiobacillus thioarparus* і *Stenotrophomonas maltophilia* // Укр. біохім. журн. – 2007. – **79**, № 5. – С. 25–29.
 10. *Борецька М.О., Остапчук А. М., Козлова І.П.* Дослідження екзополімеру моно- та бінарної культури *Thiobacillus thioarparus* та *Stenotrophomonas maltophilia* за різних моделей росту // Матеріали II міжнародної конференції «Біологія: від молекули до біосфери». – Харків, 2007. – 416 с.
 11. *Гриненко В.А., Иванов М.В.* Основы реакции глобального биогеохимического цикла серы // Глобальный биогеохимический цикл серы и влияние на него деятельности человека. – М.: Наука, 1983. – С. 12–28.
 12. *Иванов М.В.* Роль микробиологических процессов в генезисе месторождений самородной серы. – М.: Наука, 1964. – 367 с.
 13. *Исаченко Б.Л.* Микробиологические исследования над грязевыми озерами // Избр. Тр.: В 3 т. – М.; Л.: Изд-во АН СССР. – 1951. –2. – С. 26–142.
 14. *Козлова И.А.* Микробные ассоциации почвы и геологических отложений, трансформирующие серу // Микробные сообщества и их функционирование в почве. – К.: Наук. Думка, – 1981. – С. 120–127.
 15. *Козлова И.А., Коптева Ж.П., Пуриш Л.М., Занина В.В., Коптева А.Е., Асауленко Л.Г.* Таксис сульфатредуцирующих бактерий к ионам железа как начальная стадия формирования биопленки на металле // Вісник Одеського національного університету. – 2001. – **6**, №4. – С. 173–176.
 16. *Козлова І., Пилишенко-Новохатний А., Андрюк К.* Мікробно індуквана корозія в біоплівці як модельна система у вивченні метал-мікробної взаємодії // фіз.-хім. Механіка матеріалів. – 2004. – Спец. Вип. № 4. – С. 817–820.
 17. *Кузнецов С.И.* Микрофлора озер и ее геохимическая деятельность. – Л.: Наука, 1970. – 440 с.
 18. *Курдиш И.К.* Закономерности взаимодействия микроорганизмов с твердыми материалами // Мікробіол. журн. – 2001. – **63**, № 6. – С. 71–88.
 19. *Пилишенко-Новохатний А.И., Пуриш Л.М., Швец В.А., Козлова И.А., Андрюк К.И.* Влияние гидрогеназной активности безклеточного экстракта сульфатредуцирующих бактерий на скорость коррозии малоуглеродистой стали // Мікробіол. журн. – 1999. – **61**, №3. – С. 67–72.
 20. *Протасова М.О.* Вплив маловуглецевої сталі на моносахаридний склад екзополімерів бактерій циклу сірки // Матеріали II міжнародної конференції студентів та аспірантів «Молодь і поступ в біології». Зб. тез. – Львів, 2006. – 485 с.
 21. *Протасова М.О., Лазарев В.Г., Козлова І.П.* Дослідження структури біоплівок, сформованих бактеріями циклу сірки на металевих матрицях // Мікробіол. журн. – 2006. – **68**, № 5. – С. 80–86.
 22. *Соколова Г.А., Каравайко Г.И.* Физиология и геохимическая деятельность тионовых бактерий. – М.: Наука, 1964. – 333 с.
 23. *Allison D.G., Sutherland I.W.* Role of exopolysaccharides in adhesion of freshwater bacteria // J. Gen. Microbiol. – 1987. – **133**, N 60. – P. 1319–1327.
 24. *Allison D.G., Sutherland I.W., Neu T.R.* EPS: what's an acronym? / McBrain A., Allison D., Bradin M. Biofilm communities: order from chaos? – Bioline. – Cardiff, U.K., 2003. – P.381–387.
 25. *Baldensperger J.F.* Use of respirometry to evaluate sulfur oxidation in soils // Soil Biol. and Biochem. – 1976. – **8**, N 5. – P. 403–427.
 26. *Baumgartner A.W.* Microbiological corrosion – what causes it and how it be controlled // J. Petrol. Technol. – 1962. – **14**, N 58. – P. 1074–1078.
 27. *Beech I.B., Sunner J.A.* Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals // Curr. Opinion Biotechnol. – 2004. – **15**, N 59. – P.181–186.
 28. *Beech I., Hanjagis L.* Chemical and structural characterization of exopolymers produced by *Pseudomonas* sp. NCIMB 2021 in continuous culture // Microbiol. – 1999. – **145**, N 60. – P. 1491–1497.
 29. *Beech I., Sunner J.A., Hiraoka K.* Microbe-surface interactions in biofouling and biocorrosion processes // Int. Microbiol. – 2005. – **8**, N 2. – P. 157–168.
 30. *Beech I.B.* Corrosion of technical materials in the presence of biofilms – current understanding and state-of-the-art methods of study // Int. Biodet. and Biodegr. – 2004. – **53**, N 60. – P. 177–183.
 31. *Beech I.B., Smith J.R., Stelle A.A.* The use of atomic force microscopy for studying interactions of bacterial biofilms with surfaces // Coll Surf B: Biointerf. – 2002. – **23**, N 59. – P. 231–247.
 32. *Beloin C., Ghigo J.M.* Finding gene-expression patterns in bacterial biofilms // Trends Microbiol. – 2005. – **13**, N 3. – P. 16–19.
 33. *Beveridge J., Makin S.* Interaction between biofilms and the environment // FEMS Microbiol. Lett. – 1997. – **20**, N ¼. – P.291–303.
 34. *Beyenal H., Donovan C., Lewandowski Z., Harkin G.* Three-dimensional biofilm structure quantification // J. Microbiol. Meth. – 2004. – **59**, N 3. – P. 395–413.
 35. *Booth G.H.* Microbiological corrosion. – London: Mills and Boon Limited, 1971. – 63 p.

36. Boyd A., Chakrabarty A.M. Role of alginate lyase in cell detachment of *Pseudomonas aeruginosa* // Appl. Environ. Microbiol. – 1994. – **60**, N 7. – P. 2355–2359.
37. Caldwell D.E., Korber D.R., Lawrence J.R. Imaging of bacterial cells by fluorescence exclusion using scanning confocal microscopy // J. Microbiol. Methods. – 1992. – **15**, N 57. – P. 249–261.
38. Caldwell D.E., Korber D.R., Lawrence J.R. Confocal laser microscopy and digital image analysis in microbial ecology // Adv. Microb. Ecol. – 1992. – **12**, N 3. – P. 1–6.
39. Chao L., Ramsdell G. The effects of wall populations on coexistence of bacteria in the liquid phase of chemostat culture // J. Gen. Microbiol. – 1985. – **131**, N 55. – P. 1229–1236.
40. Cogan N.G., Keener J.P. The role of the biofilm matrix in structural development // Mathem. Med. And Biol. – 2004. – **21**, N 2. – P. 147–166.
41. Costerton J.W., Lewandowski Z., Caldwell D.E. et al. Microbial biofilms // Annu. Rev. Microbiol. – 1995. – **49**, N 6. – P. 711–745.
42. Costerton J.W., Lewandowski Z., deBeer D., Caldwell D. Biofilms, the customized microniche // J. Bacteriol. – 1994. – **176**, N 8. – P. 2137–2142.
43. Danese P.N., Leslie A.P., Kolter R. Exopolysaccharide Production is Required for Development of *Escherichia coli* K-12 Biofilm Architecture // J. of Bacteriol. – 200. – **182**, N 12. – P. 3593–3596.
44. Davey M.E., O'Tool G.O. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 2000. – **64**, N 9. – P. 847–867.
45. Davies D.G., Chakrabarty A.M., Gresey G.G. Exopolysaccharide production in biofilms: substratum activation of alginate gene expression by *Pseudomonas aeruginosa* // Appl. Environ. Microbiol. – 1993. – **59**, N 4. – P. 1181–1186.
46. de Beer D., Stoodley P., Lewandowski Z. Measurements of local diffusion coefficients in biofilms by microinjection and confocal microscopy // Biotech. Bioeng. – 1997. – **53**, N 11. – P. 151–158.
47. Dogsa I., Kriechbaum M., Stopar D. Structure of bacterial extracellular polymeric substances at different pH values as determined by SAXS // Biophys. J. – 2005. – **89**, N 50. – P. 2711–2720.
48. Flemming H.-C., Neu T.R., Wozniak D.J. The EPS matrix: the “house of biofilm cell” // J. Bacteriol. – 2007. – **189**, N 22. – P. 7945–7947.
49. Fletcher M., Pringle J.H. Influence of substratum hydration and absorbed macromolecules on bacterial attachment to surfaces // Appl. Environ. Microbiol. – 1986. – **51**, N 5. – P. 1321–1325.
50. Gehrke T., Telegdi J., Thierry D. Importance of Extracellular Polymeric Substances from *Thiobacillus ferrooxidans* for Bioleaching // Appl. And Environ. Microbiol. – 1998. – **64**, N 7. – P. 2743–2747.
51. Ghigo J.-M. Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development // Nature. – 2001. – **412**. – P. 26–34.
52. Grossant H.-P., Kiorboe T., Tang K., Ploug H. Bacterial colonization of particles: growth and interaction // Appl. Environ. Microbiol. – 2003. – **69**, N 6. – P. 3500–3509.
53. Hamilton W.A. Microbial influenced corrosion as model system for the study of metal microbe interaction: a unifying electron transfer hypothesis // Biofouling. – 2003. – **19**, N 3. – P. 65–76.
54. Hamilton W.A. Sulfat-reducing bacteria and anaerobic corrosion // Ann. Rev. Microbiol. – 1985. – **39**, N 58. – P. 195–217.
55. Harmsen H.J., Akkermans A.D., Stams A.J. Population dynamics of propionate-oxidizing bacteria under methanogenic and sulfidogenic conditions in anaerobic granular sludge // Appl. Environ. Microbiol. – 1996. – **62**, N 5. – P. 2163–2168.
56. Haunsner M., Wuertz S. High rates of conjugation in bacterial biofilms as determined by quantitative in situ analysis // Appl. Environ. Microbiol. – 199. – **65**, N 2. – P. 3710–3713.
57. Hentzer M., Teitzel G.M., Balzer G.J. Alginate overproduction affects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm structure and function // J. Bacteriol. – 2000. – **118**, N 3. – P. 5395–5401.
58. Hughes A.M., Sutherland I.W., Jones M.V. Biofilm susceptibility to bacteriophage attack: the role of phage-born polysaccharide depolymerase // Microbiol. – 1998. – **144**. – P. 3039–3047.
59. Ileva N., Wagner M., Horn H. Towards a nondestructive chemical characterization of biofilm matrix by Raman microscopy // Annal. Bioanal. – Chem. – 2009. – **393**, N 62. – P. 197–206.
60. Jacker B.A., Harms H., Zehnder A.J. Adhesion of the positively charged bacterium *Stenotrophomonas maltophilia* 70401 to glass and Teflon // J. Bacteriol. – 1996. – **178**, N 19. – P. 5472–5479.
61. Kives J., Orgaz B., SanJose C. Polysaccharide differences between planktonic and biofilm-associated EPS from *Pseudomonas fluorescens* B52 // Colloids and Surf. B: Biointer. – 1006. – **52**, N 2. – P. 123–127.
62. Klausen M. et al. Dynamics of development and dispersal in sessile microbial communities: examples from *Pseudomonas putida* and *P. aeruginosa* // FEMS Microbiol. Lett. – 2006. – **261**, N 20. – P. 1–11.
63. Kreft J.-U., Picioreanu C., Wimpenny J.W.T., van Loosdrecht M.C. Individual-based modeling of biofilms // Microbiol. – 2001. – **147**, N 10. – P. 2897–2912.
64. Laue H., Schtenk A., Hongqiao L. Contribution of alginate and levan to biofilm formation by *Pseudomonas seringa* // Microbiol. – 2006. – **152**, N 8. – P. 2909–2918.
65. Lawrence J.R., Korber D.R., Hoyle B.D. et al. Optical sectioning of microbial biofilms // J. Bacteriol. – 1991. – **173**, N 9. – P. 6558–6567.
66. Lee W., Lewandowski Z., Nilsen P.H., Hamilton W.A. Role of sulfate-reducing bacteria in corrosion of mild

- steel: a review // Biofouling – 1995. – **8**, N 11. – P. 165–194.
67. Lewandowski Z. Structure and function of bacterial biofilms // Corrosion '98 by NACE International. – 1998. N 296. – P. 1–15.
68. Lewandowski Z. The concept of heterogeneous biofilms MIK and biofilm heterogeneity // Ibid. – 2000. – N 435 by NACE Inter. – P. 14–20.
69. Little B., Wagner P., Hart K. The role of biomineralization in microbiologically influenced corrosion // Biodegradation. – 1998. – **10**, N 1. – P. 1–10.
70. Marshal K.C. Mechanisms of bacterial adhesion at solid-water interfaces // Bacterial adhesion. – New York, London: Plenum Press., 1985. – P. 133–161.
71. Meyer B. The structures of elemental sulfur // Acad. Press. – 1976. – 18< N 3. – P. 287–317.
72. Nadell C.D., Xavier J.B., Foster K.R. The sociobiology of biofilms // FEMS Microbiol. Rev. – 2009. – **144**, N 18. – 206–224.
73. T'ool G., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development // Annu. Rev. Microbiol. – 2000. – **54**, N 6. – P. 49–79.
74. Parise G., Mishra M., Itoh Y., Romeo T., Deora R. Role of a Putative Polysaccharide Locus in Bordetella Biofilm Development // J. Bacteriol. – 2007. – **189**, N 8. – P. 750–760.
75. Postgate J.R. The sulphate-reducing bacteria. – Cambridge: Cambridge. Unif. Press, 1070. – 149 p.
76. Preston L.A., Wong T.Y., Bender C.L., Schiller N.L. Characterization of Alginate Lyase from *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* // J. Bacteriol. – 2000. – **182**, N 5. – P. 6268–6271.
77. Ramsey D.R., Wozniak D.J. Understanding the control of *Pseudomonas aeruginosa* alginate synthesis and the prospects for management of chronic infections of cystic fibrosis // Mol. Microbiol. – 2005. – **56**, N 23. – P. 309–322.
78. Razatos A., Ong Y.-L., Sharma M.M. Molecular determinants of bacterial adhesion monitored by atomic force microscopy // Appl. Biol. Sci. – 1998. – **95**, N 19. – P. 11059–11064.
79. Schembri M., Dasglaard D., Klemm P. Capsule shields the function of short bacterial adhesions // J. Bacteriol. – 2004. – **186**, N 5. – P. 1249–1257.
80. Schembri M.A., Kjaergaard K., Klemm P. Global gene expression in *E. coli* biofilms // Mol. Microbiol. – 2003. – **48**, N 18. – P. 253–267.
81. Schie van Pl.M., Fletcher M. Adhesion of Biodegradative Anaerobic Bacteria to Solid Surface // Appl. Environ. Microbiol. – 1997. – **64**, N 7. – P. 2541–2548.
82. Schoolnik G.K., Voskuil M.I., Schnappinger D. Whole genome DNA microarray expression analysis of biofilm development by *V.cholerae* O1 El Tor. // Microb. Growth Biofilms. Pt A. – 2001. – **336**, N 12. – P. 3–18.
83. Shapiro J.A. Bacteria as multicellular organisms // Sci. Am. – 1988. – **256**, N 2. – P. 82–89.
84. Smith C.A., Mech F.J. Soil in corrosion process // Ibid. **28**, N 2. – P. 6–8.
85. Starkey R.L. Oxidation and reduction on sulphur compounds in soils // Soil Sci. – 1966. – **101**, N 35. – P. 297–306.
86. Stoodley P.K., Sauer K., Davies D.G., Costerton J.S. Biofilm as complex differentiated communities // Annu. Rev. Microbiol. – 2000. – **56**, N 5. – P. 1878–2009.
87. Stoodley P., Boyle J.D., Dodds I., Lapping-Scott H.M. Consensus Model of Biofilm Structure // Biofilms: Community Interactions and Control / Eds Wimpenny J.W.T., P.S.Handley, P.Gilbert, H.M.Lappin-Scott, and M.Jones – Cardiff, UK: BioLine, 1997. – P. 1–9.
88. Sutherland I.W. Microbial polysaccharides from Gram-negative bacteria // Inter. Dairy J. – 2001. – **11**, N 9. – P. 663–673.
89. Sutherland I.W. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework // Microbiol. – 1001. – **147**, N 9. – P. 3–9.
90. Sutherland I.W. Microbial exopolysaccharides-structural subtleties and their consequences // Pure. Appl. Chem. – 1997. – **69**, N 45. – P. 1911–1917.
91. Vandevivere P., Kirchman D.L. Attachment stimulates exopolysaccharide synthesis by a bacterium // Appl. Environ. Microbiol. – 1993. – **59**, N 9. – P. 3280–3286.
92. Von Volzogen Kurh C.A.H., Van der Vlugt L.S. Grafication of iron as an electrobiological process in anaerobic soils // Water. Res. – 1934. – **18**, N 2. – P. 147–165.
93. Webb J.S., Lau M., Kjelleberg S. Bacteriophage and Phenotypic Variation in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Development // J. Bacteriol. – 2004. – **186**, N 8. – P. 8066–8073.
94. Weiner R., Langille S., Quintero E. Structure, function and immunochemistry of bacterial exopolysaccharides // J. Ind. Microbiol. – 1993. – **15**, N 23. – P. 339–346.
95. Whiteley M., Gangera M.G., Gumgarner R.E. Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* // Nature. – 2001. – **413**. – P. 860–864.

Отримано 20.04.2009