

Nghiên cứu vi khuẩn ưu thế tham gia chu trình Fe trong các điều kiện môi trường khác nhau tại Việt Nam

Nguyễn Thị Tuyền¹, Nguyễn Minh Giảng², Đinh Thúy Hằng^{2,*}

¹Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN, 334 Nguyễn Trãi, Hà Nội, Việt Nam

²Viện Vi sinh vật và Công nghệ Sinh học, ĐHQGHN, 144 Xuân Thủy, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 8 tháng 10 năm 2009

Tóm tắt. Hai chủng vi khuẩn IN2 và IN12 được phân lập từ bùn đáy nước ngọt, đại diện cho hai nhóm vi khuẩn chính tham gia chu trình chuyển hoá sắt tại đây, bao gồm khử Fe(III) bằng các hợp chất hữu cơ và oxy hóa Fe(II) bằng nitrate. Hai chủng vi khuẩn nói trên có các đặc điểm sinh lý hoàn toàn khác biệt nhau. Chủng IN2 được phân lập từ mẫu bùn chân ruộng ngập nước là trực khuẩn, sinh trưởng kỵ khí bắt buộc bằng Fe(III) hoặc nitrate, thích hợp với môi trường có nồng độ muối cao hơn 1%. Chủng IN12 được phân lập từ mẫu bùn đáy ao nước ngọt là vi khuẩn kỵ khí tùy tiện, có tế bào hình oval và thích hợp với môi trường có nồng độ muối từ 0 – 3%. Chủng IN12 thể hiện hoạt tính khử nitrate, oxy hóa Fe(II) cao, do đó có tiềm năng ứng dụng thực tế trong việc xử lý các nguồn nước nhiễm nito và ion kim loại Fe(II). Giải trình tự 16S rADN và so sánh kết quả với ngân hàng dữ liệu đối với hai chủng IN2 và IN12 cho phép định danh các chủng này tương ứng là *Anaeromyxobacter* sp. IN2 (mã trình tự FJ939131) và *Paracoccus* sp. IN12 (mã trình tự GU084390).

Từ khóa: *Anaeromyxobacter*, *Paracoccus*, Vi khuẩn khử Fe(III), Vi khuẩn khử nitrate, oxy hóa Fe(II), 16S rADN.

1. Mở đầu

Trong tự nhiên sắt là một trong những nguyên tố có mặt với hàm lượng đáng kể, sau carbon, nito, phospho và lưu huỳnh [1]. Là một nguyên tố kim loại, sắt tồn tại ở các dạng ion với điện thế oxy hoá khử khác nhau, gồm Fe(II) và Fe(III). Trong hai dạng kể trên chỉ có Fe(II) tồn tại ở dạng hoà tan trong nước, tuy nhiên, do có tính khử cao, Fe(II) nhanh chóng bị oxy hoá thành Fe(III) trong phản ứng hoá học với oxy

không khí. Do vậy ion Fe(II) thường chỉ được tìm thấy trong các điều kiện môi trường không có oxy, ví dụ như ở đáy các thủy vực, các tầng nước ngầm hay môi trường có pH thấp [2,3].

Các vi sinh vật tham gia chu trình sắt gồm có (i) vi khuẩn oxy hoá Fe(II) bằng oxy như *Thiobacillus ferrooxydant* [1], bằng nitrate như một số loài *Chromobacterium*, *Klebsiella* [4] hay bằng quang hợp như *Chlorobium*, *Rhodobacter* [5] và (ii) vi khuẩn khử Fe(III) như các loài *Geobacter*, *Sewanella*, *Anaeromyxobacter* [6-8]. Trong khi oxy hoá Fe(II) bằng oxy theo con đường sinh học chỉ diễn ra ở môi trường có pH thấp thì oxy hoá

* Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-437547694
E-mail: dthang@vnu.edu.vn

Fe(II) thành Fe(III) bằng nitrate và khử Fe(III) thành Fe(II) bằng một số hợp chất hữu cơ là hai quá trình diễn ra ở điều kiện pH trung tính, khép kín chu trình chuyển hoá sắt tại đây [1]. Nhiều công trình nghiên cứu cho thấy sự có mặt khá phổ biến của hai nhóm vi khuẩn này ở nhiều điều kiện môi trường khác nhau, bao gồm cả nước ngọt, nước lợ và nước mặn và tại nhiều vị trí địa lý khác nhau trên thế giới [7, 9].

Trong bài báo này chúng tôi trình bày nhưng kết quả nghiên cứu thực hiện đối với hai chủng vi khuẩn đại diện cho nhóm vi khuẩn oxy hoá Fe(II) bằng nitrate và khử Fe(III), được phân lập từ môi trường thiếu oxy trong bùn đáy nước ngọt tại Việt Nam.

2. Nguyên liệu và phương pháp

2.1. Nguồn vi sinh vật

Các chủng vi khuẩn được phân lập từ thí nghiệm nuôi tích lũy trên mẫu bùn tự nhiên trong môi trường kỵ khí sử dụng Fe(II) và NO_3^- làm chất cho và nhận điện tử tương ứng [4]. Mẫu bùn tự nhiên được thu thập ở đáy ao nước ngọt và chân ruộng ngập nước ở ngoại thành Hà Nội.

2.2. Nghiên cứu các đặc điểm sinh lý

Đặc điểm sinh trưởng của các chủng vi khuẩn được tiến hành nghiên cứu trên môi trường kỵ khí dịch thể, sử dụng các chất cho và nhận điện tử khác nhau (bao gồm cả oxy) và có nồng độ muối khác nhau. Sự sinh trưởng của vi khuẩn tại các điều kiện nuôi cấy khác nhau được đánh giá thông qua thay đổi về độ đục của môi trường so với đối chứng không có vi khuẩn.

2.3. Nghiên cứu hình thái

Hình thái của các chủng vi khuẩn được xác định đối với tế bào ở pha sinh trưởng lũy tiến. Dịch tế bào được ly tâm 10.000 vòng/phút trong 5 phút, sau đó sinh khối được hòa trong 200 μl nước muối 0,9% và dùng làm tiêu bản trên lam kính phủ agar. Ảnh tế bào được chụp dưới kính hiển vi đối pha, độ phóng đại 1000 lần.

2.4. Tách ADN tổng số, nhân gen 16S rADN và xác định vị trí phân loại

ADN tổng số từ các chủng vi khuẩn được tách chiết theo phương pháp của Marmur (1961) [10] với một số thay đổi để tối ưu hóa. Gen mã hóa cho 16S rARN (1500 bp) được khuếch đại trong phản ứng PCR sử dụng cặp mồi 27F (AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG) và 1492R (GGT TAC CTT GTT ACG ACT T). Sản phẩm PCR được tinh sạch và giải trình tự với ABI Prism BigDye Terminator cycle sequencing kit và đọc trình tự trên máy tự động 3110 Avant Applied Biosystems. Trình tự gen sau đó được phân tích so sánh với trình tự 16S rADN của các loài có liên quan hiện đã công bố trên Database DDBJ/EMBL/GenBank sử dụng phần mềm BLAST Search. Cây phân loại được dựng theo phương pháp neighbour-joining [11], trong đó định dạng cây được tiến hành dựa trên 1000 phép so sánh đa chiều [12].

2.5. Đánh giá hoạt tính sinh học của các chủng vi khuẩn

Chủng vi khuẩn khử nitrate được nuôi cấy trên môi trường kỵ khí dạng dịch thể chứa nitrate (5 mM) làm chất nhận điện tử và Fe(II) hoặc Mn (II) (10 mM mỗi loại) làm chất cho điện tử trong bình huyết thanh thể tích 120 ml đầy kín bằng nút cao su. Mẫu dịch nuôi cấy (5 ml) được thu thập sau mỗi 24 h và xác định

nồng độ các nguồn cho và nhận điện tử trong môi trường. Nồng độ nitrate được xác định bằng phương pháp so màu sử dụng thuốc thử axit desulfofemic [13]. Nồng độ Fe(II) được xác định bằng phương pháp so màu ở bước sóng 510 nm, sử dụng thuốc thử phenanthroline [14]. Nồng độ Mn (II) được xác định theo phương pháp formaldoxime [15].

Vi khuẩn khử Fe(III) được nuôi cấy trong môi trường kỵ khí dịch thể, chứa Fe(III) ở dạng phức hợp với citrate (tan trong nước) làm chất nhận điện tử (15 mM) và Na-acetate (10 mM) làm chất cho điện tử. Sinh trưởng của vi khuẩn được nhận biết thông qua sự mất màu của môi trường (màu xanh lá cây đậm do Fe(III)-citrate tạo ra).

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Phân lập vi khuẩn

Hai chủng IN2 và IN12 được phân lập từ thí nghiệm làm giàu bùn đáy thủy vực nước ngọt và chân ruộng ngập nước qua dãy MPN sử dụng môi trường kỵ khí dịch thể chứa Fe(II) và NO_3^- làm chất cho và nhận điện tử tương ứng. Nghiên cứu đa dạng về đặc điểm di truyền gen 16S rADN bằng phương pháp DGGE và ARDRA đối với nhóm vi khuẩn oxy hoá Fe(II) khử NO_3^- tại hai môi trường sinh thái kể trên ở Việt nam cho thấy chủng IN2 đại diện cho nhóm vi khuẩn luôn có mặt ở cả 2 môi trường đã nghiên cứu, trong khi đó chủng IN12 chỉ tìm thấy ở bùn đáy thủy vực nước ngọt [16]. Dựa trên tính đại diện đối với hai nhóm vi khuẩn chính tham gia chu trình chuyển hoá sắt tại các môi trường nghiên cứu, hai chủng này được lựa chọn để tìm hiểu sâu về các đặc tính sinh học cũng như khả năng ứng dụng thực tế.

3.1. Nghiên cứu các đặc điểm sinh lý của hai chủng vi khuẩn IN2 và IN12

Bảng 1. Đặc điểm sinh lý của hai chủng vi khuẩn IN2 và IN12

Đặc điểm sinh lý	IN2	IN12
Hô hấp bằng oxy (sinh trưởng hiếu khí)	—	+++
Sinh trưởng phụ thuộc độ mặn của môi trường (% NaCl)		
0%	—	+++
1%	+++	+++
2%	+++	+++
3%	+++	+++
4%	+++	++
5%	+++	+
Chất cho điện tử (khử nitrate)		
Lactate	+++	+++
Acetate	+++	+++
Ethanol	+++	+++
Benzoate	+++	+
Chất nhận điện tử (oxy hoá lactate)		
NO_3^-	+++	+++
Fe(III)	+++	—
SO_4^{2-}	—	—

Kết quả nghiên cứu cho thấy hai chủng IN2, IN12 rất khác nhau về đặc điểm sinh lý (bảng 1). Trong khi chủng IN2 là vi khuẩn kỵ khí bắt buộc thì chủng IN12 là vi khuẩn kỵ khí tùy tiện, có khả năng hô hấp bằng oxy (sinh trưởng hiếu khí). Ngoài NO_3^- được sử dụng làm chất nhận điện tử cuối cùng, chủng IN2 còn có khả năng sử dụng Fe(III) làm chất nhận điện tử còn chủng IN12 không có khả năng này. Cả hai chủng đều không sinh trưởng bằng khử SO_4^{2-} .

Đối với các nguồn điện tử khác nhau phục vụ cho quá trình khử nitrate, ngoài Fe(II) đã được sử dụng để phân lập và nuôi cấy từ ban đầu, lactate, acetate, benzoate và ethanol đều được oxy hoá bởi hai chủng IN2 và IN12. Trong trường hợp benzoate, một axit hữu cơ chứa vòng thơm và thường khó bị oxy hoá hơn các hợp chất còn lại, chủng IN12 thể hiện khả năng oxy hoá kém hơn hẳn so với chủng IN2.

Độ mặn là một trong các yếu tố môi trường quan trọng ảnh hưởng đến sinh lý của vi sinh vật trong tự nhiên, do vậy ở đây chúng tôi tiến

hành nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ muối trong môi trường đối với khả năng sinh trưởng của hai chủng vi khuẩn quan tâm. Kết quả nghiên cứu cho thấy chủng IN2 có nhu cầu về muối để sinh trưởng, chủng IN12 thì không. Trong khi chủng IN12 có thể sinh trưởng trong môi trường không cần bổ sung NaCl thì chủng IN2 chỉ phát triển khi NaCl có mặt ở nồng độ 1% trở lên. Tuy nhiên, chủng IN2 lại có khả năng chịu muối cao hơn IN12, chủng này vẫn phát triển tốt ở nồng độ muối 5% trong khi đó tốc độ sinh trưởng của IN12 bị ảnh hưởng đáng kể ở các nồng độ muối cao hơn 3%. Điều này cũng phù hợp với đặc điểm phân bố của hai chủng vi khuẩn trong tự nhiên, cụ thể là chủng IN2 đại diện cho nhóm vi khuẩn được tìm thấy ở nhiều dạng môi trường khác nhau, bao gồm cả nước ngọt và nước lợ, trong khi đó chủng IN12 đại diện cho nhóm chỉ tìm thấy ở bùn đáy thủy vực nước ngọt [16].

3.2. Nghiên cứu hình thái tế bào và giải trình tự gen 16S rADN của hai chủng vi khuẩn IN2 và IN12

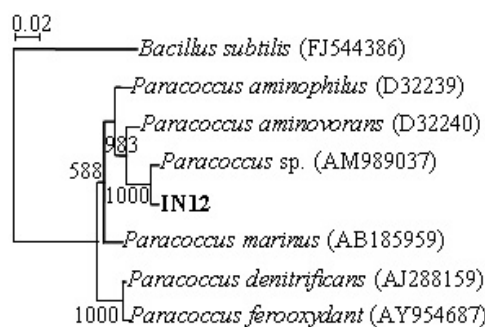
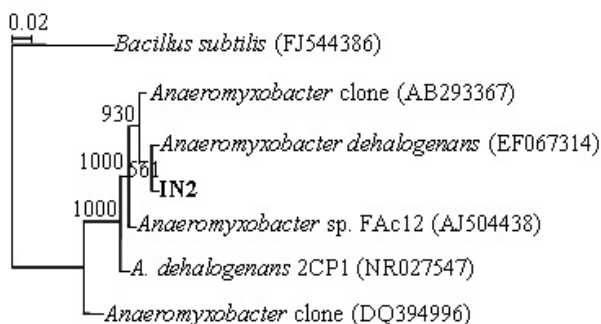
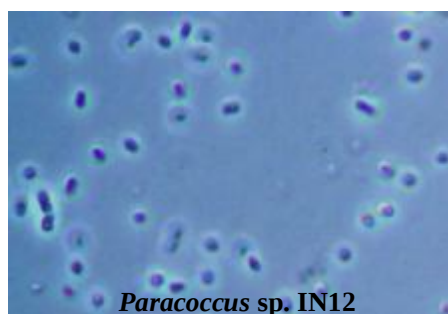
Chủng IN2 gồm những tế bào dạng trực khuẩn, kích thước $1 \times 4-5 \mu\text{m}$, chuyển động tích cực (hình 1); chủng IN12 gồm những tế bào hình oval có kích thước $1,5 \times 1,5-2 \mu\text{m}$, chuyển động chậm (hình 1).

Giải trình tự gần đủ gen mã hóa cho 16S rARN (1300 bp) của hai chủng IN2 và IN12 và so sánh với ngân hàng dữ liệu GenBank cho phép chúng tôi xếp chủng IN2 vào chi

Anaeromyxobacter (loài gần gũi nhất là *A. dehalogenans*, 99% tương đồng) và chủng IN12 vào chi *Paracoccus* (loài gần gũi nhất là *P. aminovorans*, 98% tương đồng).

Anaeromyxobacter là một chi thuộc phân lớp δ -*Proteobacteria*, được biết đến với các đại diện sinh trưởng kỵ khí bắt buộc bằng oxy hoá các hợp chất hữu cơ để khử Fe(III) [8]. Trong ngân hàng dữ liệu về gen 16S rADN của chi này hiện mới có loài *A. dehalogenans* và một số các chủng chưa được định danh đến tên chi. Chủng IN2 được bổ sung vào danh sách chi *Anaeromyxobacter* với tên khoa học là *Anaeromyxobacter* sp. IN2 và mã trình tự gen 16S rADN trong GenBank là FJ939131 (hình 1C). Trong nghiên cứu này, lần đầu tiên vi khuẩn *Anaeromyxobacter* mà đại diện là chủng IN2 thể hiện khả năng sinh trưởng bằng oxy hoá Fe(II), khử nitrate, tuy nhiên hình thức sinh trưởng này không vượt trội so với sinh trưởng kỵ khí khử Fe(III).

Paracoccus là chi vi khuẩn nằm trong phân lớp α -*Proteobacteria*, gồm nhiều loài có khả năng hô hấp bằng oxy (sinh trưởng hiếu khí), đồng thời hô hấp bằng khử nitrate [17]. Nhiều đại diện của chi *Paracoccus* được tìm thấy trong các điều kiện tối ưu cho khử nitrate, như đáy các thủy vực [17] hay trong các hệ thống xử lý nước thải loại bỏ nitơ, ví dụ như *P. denitrificans*, *P. ferrooxydans* [18]. Chủng IN12 được định danh khoa học là *Paracoccus* sp. IN12 và có mã trình tự gen 16S rADN trong GenBank là GU084390 (hình 1D).



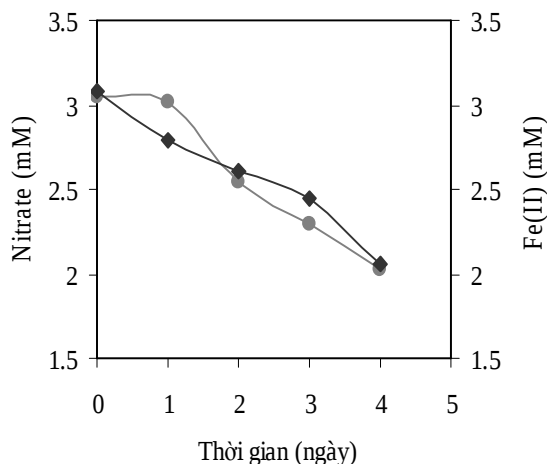
Hình 1. Hình thái tế bào và vị trí phân loại của hai chủng IN2 và IN12. Hình thái tế bào được quan sát trên kính hiển vi quang học, độ phóng đại 1000 lần (đơn vị = 5 μm). Cây phân loại được dựng theo phương pháp neighbor-joining, đơn vị = 0,02 K_{nuc} trong trình tự nucleotide. Các số hiển thị ở các vị trí phân nhánh là kết quả phân tích bootstrap đối với 1000 phép so sánh (chỉ có các giá trị trên 500 được trình bày trên hình). *B. subtilis* là loài vi khuẩn được chọn làm outgroup.

3.3. Nghiên cứu hoạt tính sinh học và khả năng ứng dụng của chủng vi khuẩn IN12

Trong nghiên cứu về đa dạng vi khuẩn khử nitrate, oxy hoá Fe(II) ở Việt Nam, *Paracoccus* sp. với đại diện là chủng IN12 chiếm ưu thế trong điều kiện nước ngọt [16]. Chủng vi khuẩn này thể hiện khả năng sinh trưởng trong nhiều điều kiện môi trường khác nhau như có mặt hay không có mặt oxy, thích nghi với nhiều loại nguồn điện tử khác nhau (như Fe(II), các axit hữu cơ, rượu) và sinh trưởng tốt trong môi trường có độ mặn dao động trong dải 0-3% (đặc trưng cho cả môi trường nước ngọt và nước lợ). Đây cũng là lý do để chúng tôi tiến hành tìm

hiều khả năng ứng dụng của chủng vi khuẩn này trong việc loại bỏ nitơ và Fe(II) trong các nguồn nước thải ô nhiễm.

Hoạt tính oxy hóa Fe(II) và khử nitrate của chủng IN12 được xác định ở điều kiện kỵ khí với Fe(II) là chất cho điện tử và nitrate làm chất nhận điện tử cuối cùng. Kết quả xác định nồng độ các chất cho và nhận điện tử trong môi trường biến đổi theo thời gian cho thấy sự giảm nồng độ Fe(II) và nitrate diễn ra song song với tốc độ đáng kể (hình 2).



Hình 2. Loại bỏ Fe(II) (●) và NO_3^- (□) trong môi trường do tác động của chủng vi khuẩn IN12.

Bên cạnh đó khả năng sử dụng Mn(II) làm chất cho điện tử để khử nitrate cũng được kiểm tra, tuy nhiên chủng IN12 không thể hiện sinh trưởng rõ rệt trong điều kiện nuôi cấy này. Theo một số nghiên cứu đã công bố, hoạt tính oxy hoá Mn(II), khử nitrate bằng con đường sinh học được xác định trong một số quần thể vi sinh vật ở đáy các thủy vực, nhưng cho đến nay chưa có chủng vi sinh vật nào được phân lập trong phòng thí nghiệm với hoạt tính kể trên [19, 20].

4. Kết luận

Hai chủng vi khuẩn IN2 và IN12 đại diện cho hai nhóm tham gia chu trình chuyển hoá sắt tại một số môi trường sinh thái khác nhau ở Việt nam, trong đó chủng IN2 tham gia khử Fe(III) thành Fe(II) bằng các hợp chất hữu cơ và chủng IN12 tham gia oxy hoá Fe(II) thành Fe(III) bằng nitrate. Vai trò sinh thái của hai chủng này được khẳng định thông qua các đặc điểm sinh lý của chúng, cụ thể là khả năng sinh trưởng với các chất cho và nhận điện tử khác

nhau và mức độ sinh trưởng tại các nồng độ muối khác nhau trong môi trường.

So sánh trình tự gần đủ của gen 16S rADN với các loài đã công bố trên GenBank cho phép định danh hai chủng vi khuẩn này là *Anaeromyxobacter* sp. IN2 (mã trình tự đăng ký trên GenBank là FJ939131) và *Paracoccus* sp. IN12 (mã trình tự đăng ký trên GenBank là GU084390).

Với hoạt tính cao trong việc oxy hoá Fe(II) và khử nitrate, chủng IN12 có tiềm năng ứng dụng thực tế trong việc xử lý các nguồn nước nhiễm nitơ và ion kim loại Fe(II).

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được thực hiện nhờ sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài QG.07.23. Tác giả xin chân thành cảm ơn Viện Vi sinh vật và Công nghệ sinh học, ĐHQGHN đã tạo điều kiện trong quá trình thực hiện đề tài.

Tài liệu tham khảo

- [1] H.L. Ehrlich, *Geomicrobiology*, 3rd Ed, revised and expanded, Marcel Dekker Inc., New York, 1996.
- [2] K.H. Nealson and D. Saffarini, Iron and manganese in anaerobic respiration: environmental significance, physiology and regulation, *Annu. Rev. Microbiol.* 48 (1994) 311.
- [3] K.O. Konhauser, Bacterial iron biomineralisation in nature, *FEMS Microbiol. Rev.* 20 (1997) 315.
- [4] K.L. Straub, M. Benz, B. Schink, F. Widdel, Anaerobic, nitrate-dependent microbial oxidation of ferrous iron. *Appl. Environ. Microbiol.* 62 (1996) 145
- [5] F. Widdel, S. Schnell, S. Heising, A. Ehrenreich, A. Assmus, B. Schink, Ferrous iron oxydation by anoxygenic phototrophic bacteria, *Nature* 362 (1993) 834.
- [6] D.R. Lovley, Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction, *Microbiol. Rev.* 55 (1991) 259.

- [7] D.R. Lovley, Microbial Fe(III) reduction in subsurface environments, *FEMS Microbiol. Rev.* 20 (1997) 305.
- [8] N. Treude, D. Rosencrantz, W. Liesack, S. Schnell, Strain FAc12, a dissimilatory iron-reducing member of the *Anaeromyxobacter* subgroup of *Myxococcales*, *FEMS Microbiol. Ecol.* 44 (2003) 261.
- [9] K.L. Straub, B.E.E. Buchholz-Cleven, Enumeration and detection of anaerobic ferrous iron-oxidizing, nitrate-reducing bacteria from diverse European sediments, *Appl. Environ. Microbiol.* 64 (1998) 4846.
- [10] J. Marmur J, A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms, *J. Mol. Biol.* 3 (1961) 208.
- [11] N Saitou, M. Nei, The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees, *Mol. Biol. Evol.* 4 (1987) 406.
- [12] J. Felsenstein, Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap, *Evolution* 39 (1985) 783.
- [13] Lê Đức, *Một số phương pháp phân tích môi trường*, NXB ĐHQGHN, 2004.
- [14] DIN 38406-E1-1, German standard methods for the examination of water, waste water and sludge; cation (group E); determination of iron (E1), 1983.
- [15] P.G. Brewer, D.W. Spencer, American Society of Limnology and Oceanography, Colorimetric determination of manganese in anoxic water, 16 (1971) 107.
- [16] Nguyễn Thị Tuyền, Đinh Thúy Hằng, Đa dạng vi khuẩn oxy hoá Fe(II), khử NO_3^- tại một số môi trường sinh thái ở Việt Nam, *Tạp chí Công nghệ sinh học*, 7 (2009) 371.
- [17] J.P. Shapleigh, *The Denitrifying Prokaryotes*. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.H. Schleifer, E. Stackbrandt, eds. *The prokaryotes: an evolving electronic resource for the microbiological community*, Springer-Verlag, New York, 2000.
- [18] G. Bitton, *Wastewater Microbiology*, Wiley-Liss, Inc. Toronto, Canada, 1999.
- [19] A.M. Gounot, Microbial oxidation and reduction of manganese: Consequences in groundwater and applications, *FEMS Microbiology Review* 14 (1994) 339.
- [20] J. Vandenebeele, D. De Beer, R. Germonpre, R. Van De Sande, W. Verstraete, Influence of nitrate on manganese removing microbial consortia from sand filters, *Wat. Res. Vol.* 29 (2) (1995) 579.

Study bacteria of the iron cycle that dominate in different environments in Vietnam

Nguyen Thi Tuyen¹, Nguyen Minh Giang², Dinh Thuy Hang²

¹*Faculty of Biology, College of Science, VNU, 334 Nguyen Trai, Hanoi, Vietnam*

²*Institute of Microbiology and Biotechnology, Vietnam National University Hanoi, 144 Xuan thuy, Hanoi*

Two bacterial strains IN2 and IN12 were isolated from fresh water sediments and represented for two major groups of the iron cycle in these environments, including the reduction of Fe(III) with organic compounds and oxydation of Fe(II) with nitrate. These two strains possessed different physiological characteristics. Strain IN2 was isolated from flooded rice paddy soil, consisted of rod-shaped cells, grown strictly anaerobically with Fe(III) or nitrate and best growth was observed at the concentration of NaCl in the medium above 1%. Strain IN12 was isolated from sediment of a fresh water aquifer, contained oval cells that were facultatively anaerobic, grown best at the concentration of NaCl in the medium in the range of 0 – 3%. Strain IN12 showed a high activity of Fe(II) oxidation with nitrate, therefore would have application potential in treatment of waters contaminated with nitrogen and metal ion Fe(II). Sequencing of 16S rDNA and comparative alignment with database allowed to designate these strains with the names *Anaeromyxobacter* sp. IN2 (sequence number FJ939131) and *Paracoccus* sp. IN12 (sequence number GU084390).

Keywords: *Anaeromyxobacter*, *Paracoccus*, Fe(III) reducing bacteria, nitrate reducing bacteria, Fe(II) oxydation, 16S rDNA.