



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 409–418
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 409–418
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-409-418>, EDN: ORDMDO

Научная статья
УДК 579.6:574.24

Изучение марганцеоксилирующих микроорганизмов, выделенных из микробоценозов высокомагнитных почв



Е. В. Плешакова¹✉, М. А. Касаткина¹, К. Т. Нгун², М. В. Решетников¹

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

²Национальный исследовательский университет ИТМО, Россия, 191002, г. Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, д. 9

Плешакова Екатерина Владимировна, доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии и биофизики, plekat@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3836-0258>

Касаткина Милена Александровна, студент кафедры биохимии и биофизики, milena.kasatkina22@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3057-1341>

Нгун Клемент Такон, кандидат биологических наук, доцент факультета биотехнологии, clementngun@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0002-8969-1041>

Решетников Михаил Владимирович, кандидат географических наук, старший научный сотрудник отделения геологии НИИ ЕН, rmv85@list.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8298-029X>

Аннотация. Изучение микроорганизмов, способных удалять из водной среды такие опасные загрязнители, как тяжёлые металлы, имеет большое значение с точки зрения возможного использования микроорганизмов в биотехнологиях очистки воды. Были проведены скрининговые исследования среди микроорганизмов, выделенных из микробоценозов высокомагнитных почв г. Медногорска (Оренбургская область, Россия), для оценки уровня их устойчивости к ионам марганца (II). Объектами исследований являлись девять штаммов марганцеоксилирующих микроорганизмов и два штамма железооксилирующих микроорганизмов: *Bacillus megaterium* 69.3 и *B. megaterium* 69.5. Установлено, что для большинства из исследованных микроорганизмов характерна повышенная устойчивость к ионам марганца (II) при росте на агаризованной среде. Максимальная устойчивость к Mn (II) обнаружена у микробных штаммов: 55.2 и *B. megaterium* 69.5. Максимально толерантная концентрация (МТК) Mn (II) для этих микроорганизмов составила 300 и 350 ммоль/л; минимальная ингибирующая концентрация (МИК) – 350 и 450 ммоль/л соответственно. При изучении роста двух микробных штаммов: 55.2 и *B. megaterium* 69.5 в жидких средах в течение 5 сут определено, что устойчивость микроорганизмов к Mn (II) при культивировании их в селективной среде выше, чем при культивировании их в питательной LB-среде. Результаты показали высокую резистентность микроорганизмов к диапазону концентраций Mn (II): от 0,5 до 250 ммоль/л в жидкой среде. Максимальный рост исследованных микробных штаммов наблюдался при концентрации Mn (II) в среде культивирования 10 ммоль/л. Выявленные нами микробные штаммы с высокой устойчивостью к Mn (II) открывают перспективу практического использования данных микроорганизмов в биотехнологиях очистки питьевых и сточных вод от повышенного содержания марганца.

Ключевые слова: ионы марганца (II), марганцеоксилирующие микроорганизмы, устойчивость, максимальная толерантная концентрация, минимальная ингибирующая концентрация

Для цитирования: Плешакова Е. В., Касаткина М. А., Нгун К. Т., Решетников М. В. Изучение марганцеоксилирующих микроорганизмов, выделенных из микробоценозов высокомагнитных почв // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 409–418. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-409-418>, EDN: ORDMDO

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

A study of manganese-oxidizing microorganisms isolated from microbiocenoses of highly magnetic soils

E. V. Pleshakova¹✉, M. A. Kasatkina¹, C. T. Ngun², M. V. Reshetnikov¹

¹Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

²ITMO University, 9 Lomonosova St., room 2426, St. Petersburg 191002, Russia

Ekaterina V. Pleshakova, plekat@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3836-0258>

Milena A. Kasatkina, milena.kasatkina22@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3057-1341>

Clement T. Ngun, clementngun@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0002-8969-1041>

Mikhail V. Reshetnikov, rmv85@list.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8298-029X>



Abstract. From the stand point of the possible use of microorganisms in water purification biotechnologies, studying microorganisms capable of removing dangerous pollutants such as heavy metals from the aquatic environment is of great importance. Microbial screening was conducted on isolates from microbiocenoses of highly magnetic soils of the city Mednogorsk (Orenburg region, Russia), to assess their resistance to manganese (II) ions. The objects of this research were nine strains of manganese-oxidizing microorganisms and two strains of iron-oxidizing microorganisms: *Bacillus megaterium* 69.3 and *B. megaterium* 69.5. It was observed that, most of the studied microorganisms were characterized by increased resistance to manganese (II) ions when grown on an agar medium. Maximum resistance to Mn (II) was observed in microbial strains: 55.2 and *B. megaterium* 69.5. The maximum tolerant concentration (MTC) of Mn (II) for these microorganisms was 300 and 350 mmol/L; the minimum inhibitory concentration (MIC) was 350 and 450 mmol/L, respectively. When studying the growth of the two microbial strains: 55.2 and *B. megaterium* 69.5 in liquid media for 5 days. It was discovered that, when cultured in a selective medium, microbial resistance of the strains to Mn (II) was higher compared to when cultured in a nutrient LB medium. The results showed high resistance of microorganisms to a range of Mn (II) concentrations: from 0,5 to 250 mmol/L in a liquid medium. Maximum growth of the studied microbial strains was observed at Mn (II) concentration of 10 mmol/L. These microbial strains with high resistance to Mn (II) open up the prospect of their practical use for biotechnological purposes involving the purification of drinking and wastewater from high manganese content.

Keywords: manganese (II) ions, manganese-oxidizing microorganisms, resistance, maximum tolerant concentration, minimum inhibitory concentration

For citation: Pleshakova E. V., Kasatkina M. A., Ngun C. T., Reshetnikov M. V. A study of manganese-oxidizing microorganisms isolated from microbiocenoses of highly magnetic soils. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 409–418 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-409-418>, EDN: ORDMDO

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Марганец – элемент, играющий значительную роль в биологическом круговороте вещества и энергии, поэтому любые отклонения в содержании данного элемента в тех или иных составляющих биосферы приводят к значительным изменениям состояния окружающей среды, что, в свою очередь, оказывает влияние и на состояние здоровья человека. Это обусловлено тем, что тяжёлые металлы (ТМ) обладают свойствами: персистентностью, общетоксичностью, способностью к геоаккумуляции и биоаккумуляции, биомагнификации, канцерогенному и мутагенному воздействию на все системы органов человека [1, 2].

Многие водные объекты различных урбо-экосистем постоянно подвергаются сильной техногенной нагрузке, в них нередко наблюдается превышение ПДК тяжёлых металлов, в том числе марганца [3–5]. Марганец входит в перечень приоритетных поллютантов, поступающих в организм человека с питьевой водой [6]. Известно, что при экзогенном поступлении марганца в организм человека при его избытке в питьевой воде проявляется общерезорбтивное и специфическое повреждающее действие марганца на ЦНС, желудочно-кишечный тракт, почки, иммунную, кровяную и костную систему, снижается активность антиоксидантной системы и обменных процессов [7].

В условиях антропогенеза предъявляются повышенные требования к качеству воды и содержанию в ней допустимых концентраций ТМ, что требует модернизации уже существующих или поиска новых экологически безопасных и экономически выгодных способов очистки.

Необходимо отметить, что большая часть солей ТМ хорошо растворима в воде, из этого следует, что их удаление с помощью физико-химических методов является не выгодным, когда речь идет о невысоких концентрациях металла в среде [8, 9]. ТМ в растворимой форме не задерживаются большинством песчаных фильтров, которые установлены на очистных сооружениях. Хорошей альтернативой физико-химическим способам очистки воды от ТМ являются более доступные и инновационные биологические методы, например, биосорбция и биоаккумуляция [10–13].

Способность окислять двухвалентные соединения марганца, а также и другие металлы, и осаждают оксиды элементов на поверхности собственной клетки характерно для многих микроорганизмов родов *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, а также актинобактерий [14–18]. Установлено, что главный путь бактериального окисления Mn (II) – энзиматический, с использованием медь-зависимых оксидаз, которые были обнаружены у пресноводных грамотрицательных бактерий *Leptothrix discophora*, *Pseudomonas putida* и морской грамположительной бактерии *Bacillus* sp. SG-1 [19]. Микробное преобразование растворимого Mn (II) в нерастворимую форму Mn (IV) происходит при скоростях, которые на несколько порядков выше абиотического окисления марганца в природных водах [15, 17, 20]. Поэтому биологический потенциал марганцеоксилирующих микроорганизмов целесообразно использовать для снижения избыточного содержания данного элемента в водных экосистемах, в очищаемых сточных водах и в питьевой воде [21].



Цель настоящей работы состояла в оценке уровня устойчивости микроорганизмов, выделенных из микробсообществ высокомагнитных почв, к марганцу (II) для выявления микробных штаммов с максимальной устойчивостью и ростом в присутствии повышенных концентраций металла.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовались марганцеоксиляющие микроорганизмы (9 штаммов) и два штамма железооксиляющих микроорганизмов (*Bacillus megaterium* 69.3 и *B. megaterium* 69.5), выделенные нами ранее из почвенных микробсообществ г. Медногорска (Оренбургская область, Россия) [22, 23]. В городе Медногорске, расположенном в зоне разнотравно-типчаково-ковыльных степей, сложилась сложная экологическая ситуация, обусловленная загрязнением выбросами промышленных предприятий, главным образом, ООО «Медногорским медно-серным комбинатом». Приоритетные загрязнители – медь, железо, марганец, соединения серы. Почвы – чернозёмы типичные и чернозёмы обыкновенные с нейтральной реакцией среды. По результатам проведённых нами анализов определения магнитных, механических, физико-химических свойств почв и степени антропогенной трансформации почвенного покрова мы охарактеризовали почвы, которые отличались максимально высокими значениями магнитной восприимчивости и максимальной степенью антропогенной нагрузки, как урбанозёмы. Из микробсообществ урбанозёмов на агаризованной селективной среде [24, 25] нами были изолированы марганцеоксиляющие и железооксиляющие микроорганизмы, которые хранились при 4 °С на столбиках 6 %-ной агаризованной селективной среды под стерильным вазелиновым маслом с регулярными пересевами. Два штамма железооксиляющих микроорганизмов *B. megaterium* 69.3 и *B. megaterium* 69.5 ранее [23] были идентифицированы нами, последовательности 16S рРНК данных штаммов приняты в GenBank NCBI под регистрационными номерами MK764545 и MK764687 соответственно.

Для определения максимальной толерантной концентрации (МТК) и минимальной ингибирующей концентрации (МИК) Mn (II) для исследуемых микроорганизмов (11 штаммов) оценивали их способность к росту на агаризованной LB-среде [26], содержащей Mn (II) в диапазоне концентраций: 0; 0,2; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 5,0; 7,5; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0; 50,0; 100,0; 150,0; 200,0; 250 ммоль/л. Для двух штаммов

(55.2 и *B. megaterium* 69.5) концентрационный ряд был продолжен: 300,0; 350,0; 400,0; 450,0; 500,0.

При приготовлении селективной среды жидкую агаризованную LB-среду (в биологических пробирках по 20 мл) и раствор металла (использовали соль $MnSO_4 \times 5H_2O$) автоклавировали отдельно при 1 атм. После автоклавирования в каждую из пробирок с неостывшей LB-средой добавляли раствор металла в необходимой концентрации и разливали в стерильные чашки Петри. Затем по 5 мкл суспензии суточной культуры исследуемых микроорганизмов наносили точечно на поверхность агаризованной LB-среды в чашках Петри с различными концентрациями марганца. Чашки Петри концентрационного ряда с исследуемыми микроорганизмами в нескольких повторностях инкубировали в термостате при 28 °С. Ежедневно визуально оценивали рост микроорганизмов в течение 10 суток. МТК определяли как концентрацию металла в среде в той последней чашке Петри, где еще наблюдался рост микроорганизмов. МИК определяли как концентрацию металла в той первой чашке Петри, где рост микроорганизмов был меньше, чем в предыдущей [27–29].

У отобранных по результатам оценки МИК и МТК микробных штаммов (55.2 и *B. megaterium* 69.5) изучали динамику роста в жидких средах: питательной LB-среде и селективной среде для марганцеоксиляющих микроорганизмов [24, 25], содержащих возрастающие концентрации Mn (II): 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0; 100,0; 150,0; 200,0; 250,0 ммоль/л. В качестве посевного материала использовали смыв суточной микробной культуры с агаризованной питательной среды стерильным физиологическим раствором. Оптическая плотность исходной посевной дозы, измеренной на фотоколориметре КФК-2 в кювете с длиной оптического пути 1,0 см, составляла 0,2 ед. при $\lambda = 440$ нм. В качестве абиотического контроля использовали жидкие среды для культивирования без микроорганизмов. Каждый вариант был изучен в 3 повторностях. Показатели роста определяли спектрофотометрически на спектрофотометре LEKI SS2107UV («MEDIORA OY», Финляндия) через 5 сут культивирования микроорганизмов при 28 °С.

Для всех полученных данных вычисляли средние значения, для сравнения которых использовали показатели стандартного отклонения и наименьшей существенной разницы. Статистическую обработку результатов проводили при $p < 0,05$ с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2010.



Результаты и их обсуждение

В ходе проведенных экспериментов мы определили устойчивость одиннадцати микробных штаммов к действию диапазона концентраций Mn (II) по способности исследуемых микроорганизмов к росту на агаризованной LB-среде, содержащей Mn (II). Результаты эксперимента продемонстрировали, что большинство из исследованных нами микроорганизмов отличались повышенной устойчивостью к марганцу (табл. 1).

На рис. 1 представлена визуальная оценка роста ряда исследуемых микроорганизмов на агаризованной LB-среде, содержащей Mn (II) в концентрациях от 7,5 до 25,0 ммоль/л.

Для оценки уровня индивидуальной металлоустойчивости микробных штаммов мы рассчитали МТК и МИК Mn (II) (табл. 2). Максимальной устойчивостью к Mn (II), как показали эксперименты, обладали микробные штаммы 55.2 и *V. megaterium* 69.5. МТК Mn (II) для этих микроорганизмов составила 300,0 и 350,0 ммоль/л; МИК – 350,0 и 450,0 ммоль/л соответственно.

Микробный штамм *V. megaterium* 69.5 был выделен нами из почвенного микробоценоза на селективной среде для железooksисляющих микроорганизмов [22].

Ранее нами было установлено, что МТК Fe (II) для *V. megaterium* 69.5 составила 1200 мг/л, МИК – 1800 мг/л, была продемонстрирована способность данного микробного штамма окислять железо в жидкой среде в чрезвычайно высокой концентрации [23]. Тот факт, что *V. megaterium* 69.5 проявил максимально высокую устойчивость к марганцу по сравнению с другими исследованными микроорганизмами, согласуется с литературными данными о наличии нередко встречающейся у бактерий перекрестной резистентности к ТМ [30, 31].

Итак, по результатам оценки МТК и МИК микробных штаммов мы отобрали для дальнейших исследований два штамма с максимальной резистентностью к марганцу: 55.2 и *V. megaterium* 69.5. Результаты изучения роста микробного штамма 55.2 в жидкой питательной LB-среде и в селективной среде, содержащей возрастающие концентрации Mn (II) от 0,5 до 250,0 ммоль/л, представлены на рис. 2. Как видно из данного рисунка, наиболее активный рост штамма 55.2 происходил в LB-среде при концентрации Mn (II) 5,0 ммоль/л, в селективной среде для марганецокисляющих микроорганизмов – 10,0 ммоль/л. Значение оптической плотности

Таблица 1 / Table 1

**Оценка роста микроорганизмов на агаризованной среде в присутствии Mn (II)
Evaluation of the growth of microorganisms on an agar medium in the presence of Mn (II)**

Штаммы / Isolate No	Концентрация Mn (II), ммоль/л / Concentration of Mn (II), mmol/L																								
	0	0,2	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	4,0	5,0	7,5	10,0	15,0	20,0	25,0	50,0	100,0	150,0	200,0	250,0	300,0	350,0	400,0	450,0	500,0
55.2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
55.7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
55.8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
55.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
55.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13.4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13.2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13.3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
69.3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
69.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание. «-» – отсутствие роста; «±» – слабый рост; «+» – хороший рост.
Note. «-» – no growth; «±» – slight growth; «+» – good growth.

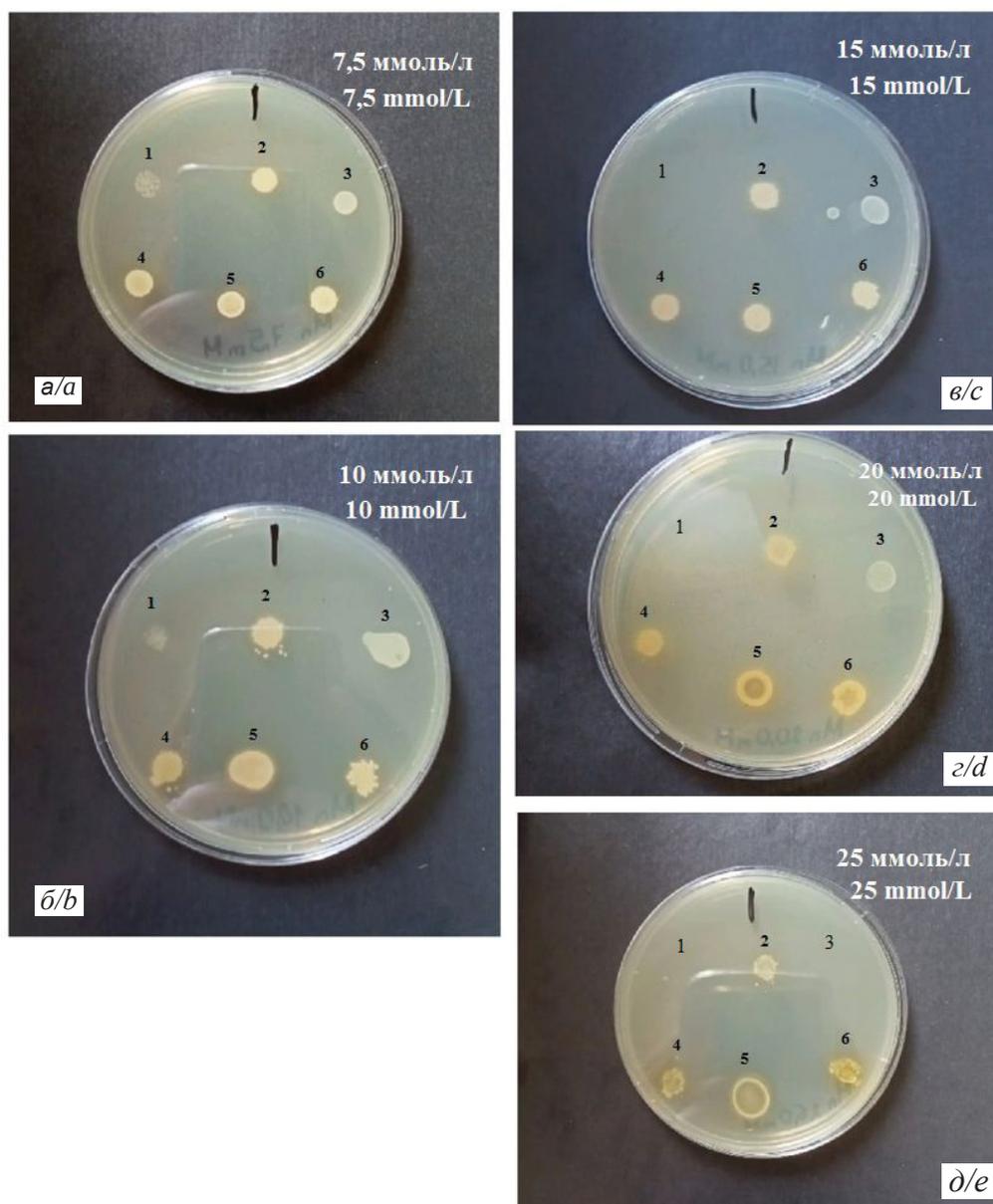


Рис. 1. Оценка роста микробных штаммов: а – 13.3; б – 13.2; в – 13.1; г – 55.1; д – 55.2; на агаризованной LB-среде, содержащей Mn (II) в различных концентрациях
 Fig. 1. Assessment of the growth of microbial strains No: a – 13.3; b – 13.2; c – 13.1; d – 55.1; e – 55.2; on agar LB medium containing Mn (II) in various concentrations

Таблица 2 / Table 2

**МТК и МИК исследованных микробных штаммов
 MTC and MIC for the studied microbial strains**

Показатель / Indicator	Микробные штаммы / Microbial strains										
	55.1	55.2	55.7	55.5	55.8	13.1	13.2	13.3	13.4	69.3	69.5
МТК, ммоль/л / MTC, mmol/L	150,0	300,0	3,0	1,5	0,2	20,0	200,0	15,0	200,0	200,0	350,0
МИК, ммоль/л / MIC, mmol/L	200,0	350,0	4,0	2,0	0,5	25,0	250,0	20,0	250,0	250,0	400,0

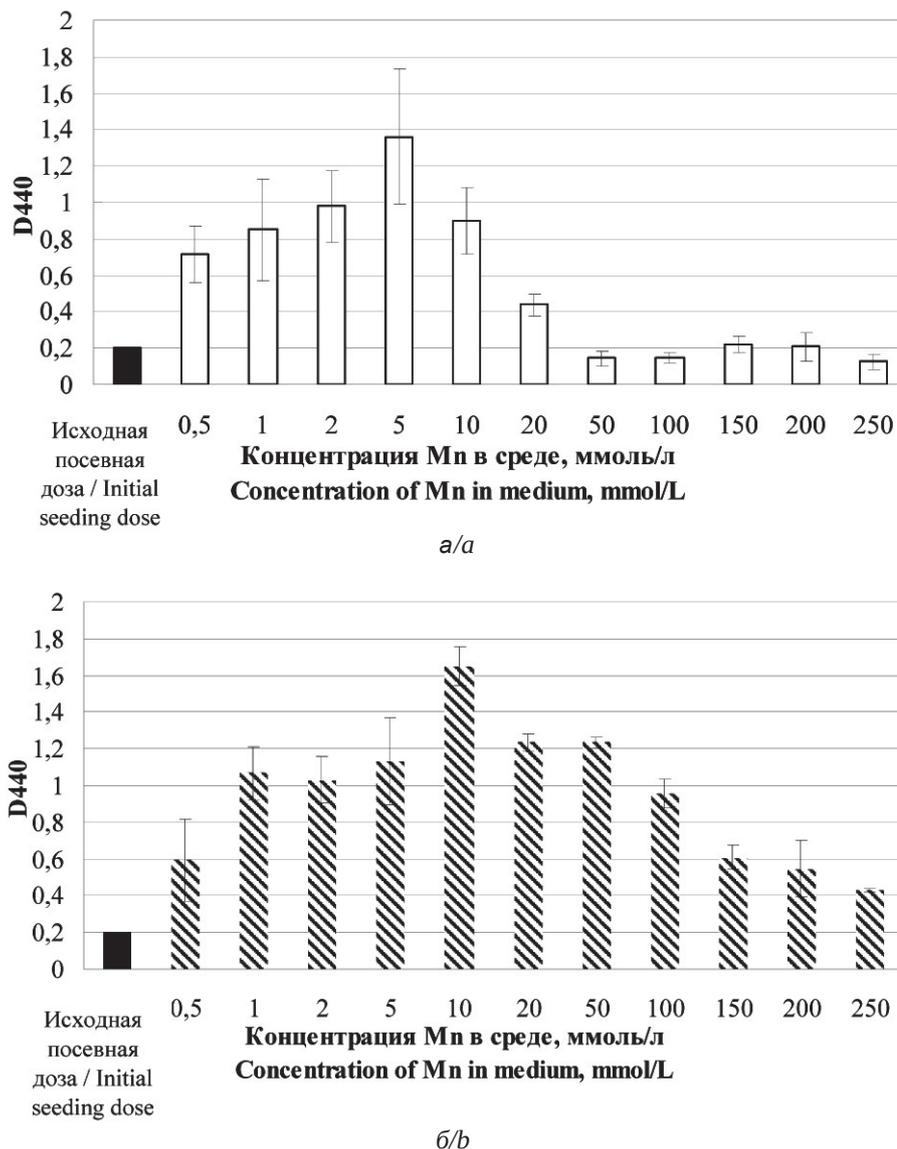


Рис. 2. Абсолютный прирост биомассы микробного штамма 55.2 при культивировании в жидкой среде с Mn (II): а – в LB-среде; б – в селективной среде [24, 25]

Fig. 2. Absolute biomass increase of microbial strain 55.2 when cultured in a liquid medium with Mn (II): a – in LB-medium; b – in selective medium [24, 25]

культуральной среды увеличилось в 6,8 и 8,2 раза соответственно (см. рис. 2, а и б). При культивировании штамма 55.2 в LB-среде, содержащей марганец в концентрации 50,0 ммоль/л и выше, развития микроорганизма не наблюдалось, значения оптической плотности культуральной среды соответствовали значениям исходной посевной дозы или были ниже. В то же время рост микробного штамма 55.2 в селективной среде, содержащей Mn (II) во всех изученных концентрациях (от 0,5 до 250,0 ммоль/л), превышал исходную оптическую плотность (в 2 раза и более), свидетельствуя об отсутствии лимитации роста микроорганизма под действием ионов марганца.

Наиболее активный рост *B. megaterium* 69.5 в LB-среде обнаруживался при концентрации Mn (II) 0,5 ммоль/л (рис. 3, а). Оптическая плотность культуральной среды увеличилась в этом варианте в 10,4 раза.

При культивировании данного штамма в LB-среде, содержащей марганец в возрастающей концентрации до 250,0 ммоль/л, наблюдалась тенденция к плавному снижению роста микроорганизма с увеличением концентрации Mn (II).

При концентрации марганца от 1,0 до 150,0 ммоль/л рост был существенным, в 1,8–7,8 раз превышая исходную оптическую плотность. При концентрации ионов марганца в среде

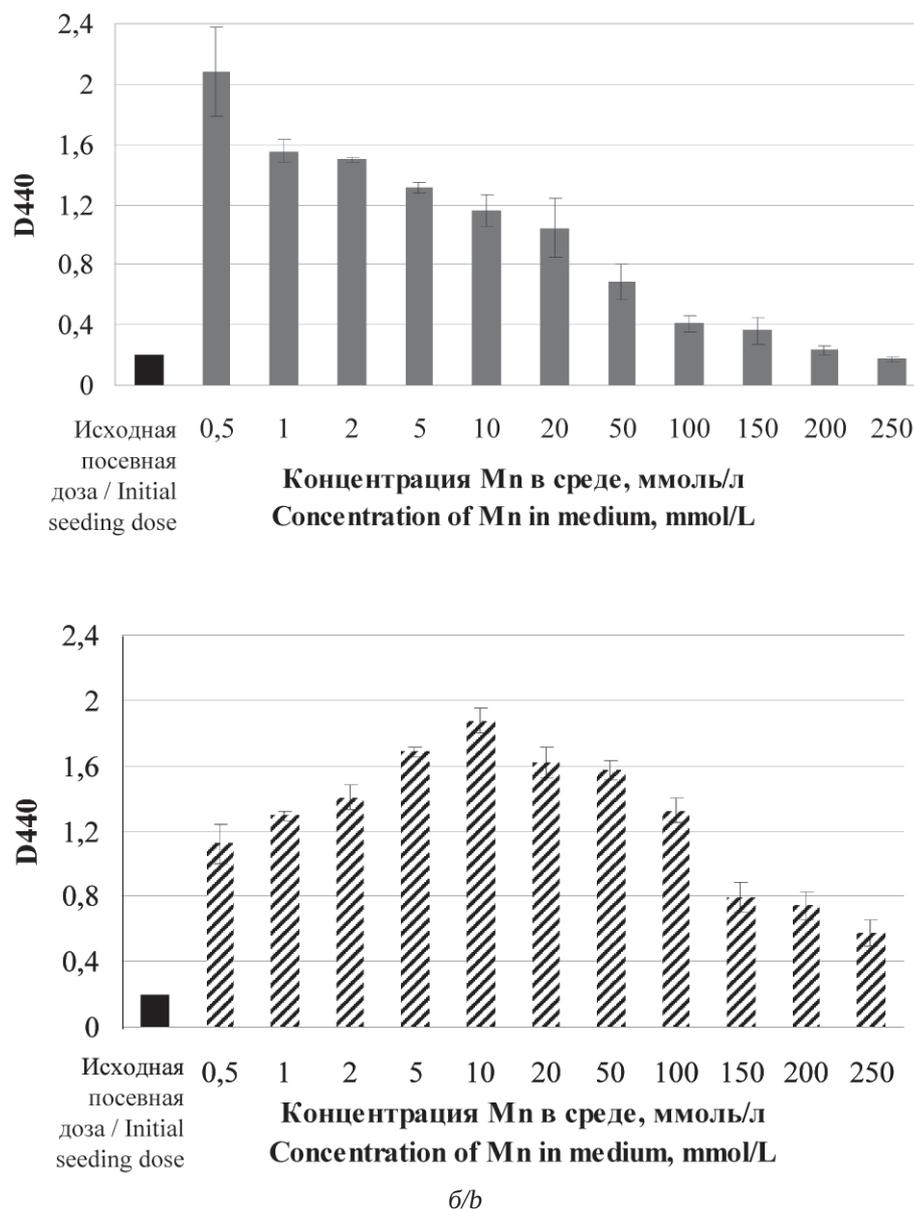


Рис. 3. Абсолютный прирост биомассы *B. megaterium* 69.5 при культивировании в жидкой среде с Mn (II): а – в LB-среде; б – в селективной среде [24, 25]
 Fig. 3. Absolute biomass increase of *B. megaterium* 69.5 when cultured in a liquid medium with Mn (II): a – in LB-medium; b – in selective medium [24, 25]

200,0 и 250,0 ммоль/л развития микроорганизма не наблюдалось, значение оптической плотности культуральной среды было на уровне значения исходной посевной дозы и ниже, демонстрируя ингибирующее воздействие металла на изучаемый микроорганизм.

При культивировании *B. megaterium* 69.5 в селективной среде, как и при культивировании микробного штамма 55.2, активный рост микроорганизма наблюдался при всех изученных концентрациях Mn (II) (от 0,5 до 250,0 ммоль/л), превышая исходную оптическую плотность

в 2,9–9,4 раза, свидетельствуя об отсутствии угнетения роста микроорганизма вследствие действия ионов марганца (см. рис. 3, б). Аналогично результатам, полученным при изучении роста микробного штамма 55.2, максимальный рост *B. megaterium* 69.5 в селективной среде обнаруживался при концентрации Mn (II) 10,0 ммоль/л.

Итак, мы установили, что исследованные микроорганизмы: микробный штамм 55.2 и *B. megaterium* 69.5 проявляют устойчивость к более высоким концентрациям ионов марганца



ца (II) при культивировании в селективной среде по сравнению с выращиванием в полноценной питательной среде (LB-среде). При этом было установлено, что значения МИК Мп (II) для этих микробных штаммов в жидкой LB-среде значительно ниже, чем МИК, установленные на агаризованной LB-среде. В некоторых исследованиях были получены сходные результаты, которые исследователи связывают с механизмом устойчивости к ТМ, нередко пересекающимся с поддержанием гомеостаза у микроорганизмов [32].

Наблюдался сходный дозозависимый характер влияния ионов марганца на рост двух исследованных штаммов, культивируемых в жидкой селективной среде. В целом рост *V. megaterium* 69.5 в селективной среде с Мп (II) был более выраженным по сравнению с ростом микробного штамма 55.2.

Заключение

Итак, полученные нами результаты продемонстрировали, что 9 из 11 исследованных микробных штаммов, изолированных из микробоценозов высокомагнитных почв города Медногорска, приоритетными загрязнителями которого являются промвыбросы с ТМ, проявили высокую устойчивость к ионам марганца (II). Такая устойчивость выделенных микроорганизмов к Мп (II) указывает на то, что подобные техногенно загрязнённые почвы могут являться природным резервуаром для направленного отбора микроорганизмов, перспективных для использования в биотехнологиях очистки воды от избыточного содержания марганца.

Сравнительный анализ уровня устойчивости к Мп (II) у исследованных микроорганизмов при их росте на плотной среде позволил выявить два бактериальных штамма (55.2 и *V. megaterium* 69.5) с максимальными значениями МТК и МИК. Результаты дальнейшего изучения роста двух отобранных микробных штаммов в жидкой среде подтвердили высокую резистентность микроорганизмов к диапазону концентраций Мп (II): от 0,5 до 250,0 ммоль/л. Было установлено, что при концентрации марганца в среде культивирования 10 ммоль/л наблюдается максимальный рост обоих штаммов.

Несомненно, высокоустойчивые к марганцу (II) микроорганизмы представляют научно-практический интерес, они могут послужить основой для технологии очистки природных и сточных вод от повышенного содержания ионов марганца.

Список литературы

1. Тунакова Ю. А., Галимова А. Р., Шмакова Ю. А. Качество питьевой воды доходящей до потребителя г. Казани при водоподготовке с флокулянтном полиакриламидом // Вестник Казанского технологического университета. 2012. № 19. С. 76–79.
2. Su C., Jiang Q. L., Zhang W. J. A review on heavy metal contamination in the soil worldwide: Situation, impact and remediation techniques // Environ. Skeptics and Critics. 2014. Vol. 3, № 2. P. 24–38.
3. Рябова Э. Г. Содержание тяжёлых металлов в городских водоёмах // Теоретическая и прикладная экология. 2019. № 1. С. 36–40. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2019-1-036-040>
4. Brown M. T., Foos B. P. Assessing children's exposures and risks to drinking water contaminants: A manganese case study // Human and Ecological Risk Assessment. 2009. Vol. 15, № 5. P. 923–947. <https://doi.org/10.1080/10807030903153030>
5. Redwan M., Elhaddad E. Assessment the seasonal variability and enrichment of toxic trace metals pollution in sediments of Damietta branch, Nile river, Egypt // Water. 2020. Vol. 12. P. 3359. <https://doi.org/10.3390/w12123359>
6. Stepanova N. V., Valeeva E. R., Ziyatdinova A. I., Fomina S. F. Peculiarities of children's risk assessment on ingestion of chemicals with drinking water // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2016. Vol. 7, № 3. P. 1677.
7. Мазунина Д. Л. Негативные эффекты марганца при хроническом поступлении в организм с питьевой водой // Экология человека. 2015. № 3. С. 25–31.
8. Кузнецов А. Е., Градова Н. Б., Лушиков С. В. Прикладная экобиотехнология : учебное пособие : в 2 т. Т. 1. М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. 629 с.
9. Шаяхметова С. Г., Назаров В. Д., Шаяхметов Р. З., Яковлев В. В. Роль железобактерий при очистке воды от марганца Патраковского водозабора Краснокамского района РБ // Башкирский химический журнал. 2007. Т. 14, № 2. С. 126–130.
10. Домрачева Л. И., Скугорева С. Г., Ашихмина Т. Я., Огородникова С. Ю., Кондакова Л. В., Великоредчанина Е. О., Короткова А. В., Ковина А. Л. Использование отработанного активного ила для очистки сточных вод, загрязнённых тяжёлыми металлами // Теоретическая и прикладная экология. 2020. № 4. С. 176–184. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2020-4-176-184>
11. Dixit R., Wasiullah, Malaviya D., Pandiyan K., Singh U. B., Sahu A., Shukla R., Singh B. P., Rai J. P., Sharma P. K., Lade H., Paul D. Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: An overview of principles and criteria of fundamental processes // Sustainability. 2015. Vol. 7. P. 2189–2212. <https://doi.org/10.3390/su7022189>
12. Mosa K. A., Saadoun I., Kumar K., Dhankher O. P. Potential biotechnological strategies for the cleanup of heavy metals and metalloids // Front. Plant Sci. 2016. Vol. 7. P. 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00303>
13. Wang J. L., Chen C. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review // Biotechnol. Adv. 2006. Vol. 24. P. 427–451. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.03.001>



14. Cahyani V. R., Murase J., Ishibashi E., Asakawa S., Kimura M. Phylogenetic positions of Mn²⁺-oxidizing bacteria and fungi isolated from Mn nodules in rice field subsoils // *Biol. Fertil. Soils*. 2008. Vol. 45. P. 337–346. <https://doi.org/10.1007/s00374-008-0337-8>
15. De Schampelaire L., Rabaey K., Boon N., Verstraete W., Boeckx P. Minireview: The potential of exchanged manganese redox cycling for sediment oxidation // *Geomicrob. J.* 2007. Vol. 24, № 7-8. P. 547–558. <https://doi.org/10.1080/01490450701670137>
16. Falamin A. A., Pinevich A. V. Isolation and characterization of a unicellular manganese-oxidizing bacterium from a freshwater lake in Northwestern Russia // *Microbiology*. 2006. Vol. 75. P. 180–185. <https://doi.org/10.1134/S0026261706020111>
17. Sujith P. P., Loka Bharathi P. A. Manganese oxidation by bacteria: Biogeochemical aspects // *Molecular biomineralization. Progress in molecular and subcellular biology*. Vol. 52 / ed. W. Müller. Berlin : Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, 2011. P. 49–76.
18. Virpiranta H., Banasik M., Taskila S., Leiviskä T., Halttu M., Sotaniemi V., Tanskanen J. Isolation of efficient metal-binding bacteria from boreal peat soils and development of microbial biosorbents for improved nickel scavenging // *Water*. 2020. Vol. 12. P. 2000. <https://doi.org/10.3390/w12072000>
19. Brouwers G. J., Vijgenboom E., Corstjens P., De Vrind J. P. M., De Vrind- Jong E. W. Bacterial Mn²⁺ oxidizing systems and multicopper oxidases: an overview of mechanisms and functions // *Geomicrob. J.* 2000. Vol. 17. P. 1–24. <https://doi.org/10.1080/014904500270459>
20. Tebo B. M., Geszvain K., Lee S.-W. Chapter 13. The molecular geomicrobiology of bacterial manganese (II) oxidation // *Geomicrobiology : Molecular and Environmental Perspective* / eds. L. L. Burton, M. Mandl, A. Loy. New York : Springer, 2010. P. 285–308.
21. Шубаков А. А., Михайлова Е. А., Оводов Ю. С. Использование микроорганизмов для извлечения марганца из водных сред // *Известия Коми научного центра УрО РАН*. 2014. Вып. 1 (17). С. 16–18.
22. Плешакова Е. В., Решетников М. В., Нгун К. Т., Шувалова Е. П. Микробиологическая и биохимическая индикация почв города Медногорска // *Агрехимия*. 2016. № 1. С. 66–73.
23. Pleshakova E. V., Ngun C. T., Reshetnikov M. V., Lariovov M. V. Evaluation of the ecological potential of microorganisms for purifying water with high iron content // *Water*. 2021. Vol. 13. P. 901. <https://doi.org/10.3390/w13070901>
24. Захарова Ю. П., Парфенова В. В. Метод культивирования микроорганизмов, окисляющих железо и марганец в донных осадках оз. Байкал // *Изв. РАН. Сер. Биол.* 2007. № 3. С. 290–295.
25. Granina L. Z., Parfenova V. V., Zemskaya T. I., Zakharova Yu. R., Golobokova L. P. On iron and manganese oxidizing microorganisms in sedimentary redox cycling in lake Baikal // *Berliner Palaobiol. Abhandlungen*. 2003. Vol. 4. P. 121–128.
26. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. *Molecular cloning: A laboratory manual*. 2nd ed. New York : Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989. 1659 p.
27. Теннер Е. З., Шильникова В. К., Переверзева Г. И. Практикум по микробиологии. М. : Дрофа, 2004. 256 с.
28. Malik A., Ahmad M. Seasonal variation in bacterial flora of the wastewater and soil in the vicinity of industrial area // *Environ. Monitor. Assess.* 2002. Vol. 73. P. 263–273. <https://doi.org/10.1023/A:1013186218093>
29. Summers A. O., Silver S. Mercury resistance in a plasmid-bearing strain of *Escherichia coli* // *J. Bacteriol.* 1972. Vol. 112. P. 1228–1236. <https://doi.org/10.1128/JB.112.3.1228-1236.1972>
30. Безвербная И. П., Бузолева Л. С., Христофорова Н. А. Металлоустойчивые гетеротрофные бактерии в прибрежных акваториях Приморья // *Биология моря*. 2005. Т. 31, № 2. С. 89–93.
31. Choudhary S., Sar P. Characterization of a metal resistant *Pseudomonas* sp. isolated from uranium mine for its potential in heavy metal (Ni²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, and Cd²⁺) sequestration // *Bioresour. Technol.* 2009. Vol. 100, № 9. P. 2482–2492. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.015>
32. Tayang A., Songachan L. S. Microbial bioremediation of heavy metals // *Current Science*. 2021. Vol. 120, № 6. P. 1013–1025. <https://doi.org/10.18520/cs/v120/i6/1013-1025>

References

1. Tunakova Iu. A., Galimova A. R., Shmakova Iu. A. The quality of drinking water reaching the consumer in Kazan during water treatment with polyacrylamide flocculant. *Vestnik Kazanskogo Tekhnologicheskogo Universiteta*, 2012, no. 19, pp. 76–79 (in Russian).
2. Su C., Jiang Q. L., Zhang W. J. A review on heavy metal contamination in the soil worldwide: Situation, impact and remediation techniques. *Environ. Skeptics and Critics*, 2014, vol. 3, no. 2, pp. 24–38.
3. Riabova E. G. The content of heavy metals in urban water bodies. *Teoretical and Applied Ecology*, 2019, no. 1, pp. 36–40 (in Russian). <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2019-1-036-040>
4. Brown M. T., Foos B. P. Assessing children’s exposures and risks to drinking water contaminants: A manganese case study. *Human and Ecological Risk Assessment*, 2009, vol. 15, no. 5, pp. 923–947. <https://doi.org/10.1080/10807030903153030>
5. Redwan M., Elhaddad E. Assessment the seasonal variability and enrichment of toxic trace metals pollution in sediments of Damietta branch, Nile river, Egypt. *Water*, 2020, vol. 12, pp. 3359. <https://doi.org/10.3390/w12123359>
6. Stepanova N. V., Valeeva E. R., Ziyatdinova A. I., Fomina S. F. Peculiarities of children’s risk assessment on ingestion of chemicals with drinking water. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2016, vol. 7, no. 3, pp. 1677.
7. Mazunina D. L. Negative effects of manganese in chronic intake with drinking water. *Ekologiya cheloveka* [Human Ecology], 2015, no. 3, pp. 25–31 (in Russian).
8. Kuznetsov A. E., Gradova N. B., Lushnikov S. V. *Prikladnaya ekobiotekhnologiya: uchebnoe posobie: v 2 t. T. 1* [Applied Ecobiotechnology: Textbook: in 2 vols. Vol. 1]. Moscow, BINOM. Laboratoriia znanii Publ., 2010. 629 p. (in Russian).



9. Shaiakhmetova S. G., Nazarov V. D., Shaiakhmetov R. Z., Iakovlev V. V. The role of iron bacteria in the purification of water from manganese of the Patrakovsky water intake of the Krasnokamsky district of the Republic of Bashkortostan. *Bashkir Chemical Journal*, 2007, vol. 14, no. 2, pp. 126–130 (in Russian).
10. Domracheva L. I., Skugoreva S. G., Ashikhmina T. Ia., Ogorodnikova S. Iu., Kondakova L. V., Velikoredchani-na E. O., Korotkova A. V., Kovina A. L. The use of waste activated sludge for the treatment of wastewater contaminated with heavy metals. *Teoretical and Applied Ecology*, 2020, no. 4, pp. 176–184 (in Russian). <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2020-4-176-184>
11. Dixit R., Wasiullah, Malaviya D., Pandiyani K., Singh U. B., Sahu A., Shukla R., Singh B. P., Rai J. P., Sharma P. K., Lade H., Paul D. Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: An overview of principles and criteria of fundamental processes. *Sustainability*, 2015, vol. 7, pp. 2189–2212. <https://doi.org/10.3390/su7022189>
12. Mosa K. A., Saadoun I., Kumar K., Dhankher O. P. Potential biotechnological strategies for the cleanup of heavy metals and metalloids. *Front. Plant Sci.*, 2016, vol. 7, pp. 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00303>
13. Wang J. L., Chen C. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review. *Biotechnol. Adv.*, 2006, vol. 24, pp. 427–451. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.03.001>
14. Cahyani V. R., Murase J., Ishibashi E., Asakawa S., Kimura M. Phylogenetic positions of Mn²⁺-oxidizing bacteria and fungi isolated from Mn nodules in rice field soils. *Biol. Fertil. Soils*, 2008, vol. 45, pp. 337–346. <https://doi.org/10.1007/s00374-008-0337-8>
15. De Schampelaire L., Rabaey K., Boon N., Verstraete W., Boeckx P. Minireview: The potential of exchanged manganese redox cycling for sediment oxidation. *Geomicrob. J.*, 2007, vol. 24, no. 7-8, pp. 547–558. <https://doi.org/10.1080/01490450701670137>
16. Falamin A. A., Pinevich A. V. Isolation and characterization of a unicellular manganese-oxidizing bacterium from a freshwater lake in Northwestern Russia. *Microbiology*, 2006, vol. 75, pp. 180–185. <https://doi.org/10.1134/S0026261706020111>
17. Sujith P. P., Loka Bharathi P. A. Manganese oxidation by bacteria: biogeochemical aspects. In: Müller W., ed. *Molecular Biomineralization. Progress in Molecular and Subcellular Biology*, vol. 52. Berlin, Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, 2011, pp. 49–76.
18. Virpiranta H., Banasik M., Taskila S., Leiviskä T., Halttu M., Sotaniemi V., Tanskanen J. Isolation of efficient metal-binding bacteria from boreal peat soils and development of microbial biosorbents for improved nickel scavenging. *Water*, 2020, vol. 12, pp. 2000. <https://doi.org/10.3390/w12072000>
19. Brouwers G. J., Vijgenboom E., Corstjens P., De Vrind J. P. M., De Vrind Jong E. W. Bacterial Mn²⁺ oxidizing systems and multicopper oxidases: An overview of mechanisms and functions. *Geomicrob. J.*, 2000, vol. 17, pp. 1–24. <https://doi.org/10.1080/014904500270459>
20. Tebo B. M., Geszvain K., Lee S.-W. Chapter 13. The molecular geomicrobiology of bacterial manganese (II) oxidation. In: Burton L. L., Mandl M., Loy A., eds. *Geomicrobiology: Molecular and Environmental Perspective*. New York, Springer, 2010, pp. 285–308.
21. Shubakov A. A., Mikhailova E. A., Ovodov Iu. S. Use of microorganisms to extract manganese from aqueous media. *Proceedings of the Komi Science Centre Ural Branch Russian Academy of Sciences*, 2014, iss. 1 (17), pp. 16–18 (in Russian).
22. Pleshakova E. V., Reshetnikov M. V., Ngun K. T., Shuvalova E. P. Microbiological and biochemical indication of soils in the city of Mednogorsk. *Agricultural Chemistry*, 2016, no. 1, pp. 66–73 (in Russian).
23. Pleshakova E. V., Ngun C. T., Reshetnikov M. V., Larionov M. V. Evaluation of the ecological potential of microorganisms for purifying water with high iron content. *Water*, 2021, vol. 13, pp. 901. <https://doi.org/10.3390/w13070901>
24. Zakharova Iu. R., Parfenova V. V. The method of cultivation of microorganisms that oxidize iron and manganese in the bottom sediments of the lake Baikal. *Izvestiya RAN. Ser. Biol.*, 2007, no. 3, pp. 290–295 (in Russian).
25. Granina L. Z., Parfenova V. V., Zemskaya T. I., Zakharova Yu. R., Golobokova L. P. On iron and manganese oxidizing microorganisms in sedimentary redox cycling in lake Baikal. *Berliner Palaobiol. Abhandlungen*, 2003, vol. 4, pp. 121–128.
26. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. *Molecular cloning: A laboratory manual*. 2nd ed. New York, Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989. 1659 p.
27. Tepper E. Z., Shil'nikova V. K., Pereverzeva G. I. *Praktikum po mikrobiologii* [Workshop on Microbiology]. Moscow, Drofa Publ., 2004. 256 p. (in Russian).
28. Malik A., Ahmad M. Seasonal variation in bacterial flora of the wastewater and soil in the vicinity of industrial area. *Environ. Monitor. Assess.*, 2002, vol. 73, pp. 263–273. <https://doi.org/10.1023/A:1013186218093>
29. Summers A. O., Silver S. Mercury resistance in a plasmid-bearing strain of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 1972, vol. 112, pp. 1228–1236. <https://doi.org/10.1128/JB.112.3.1228-1236.1972>
30. Bezverbaia I. P., Buzoleva L. S., Khristoforova N. A. Metal-resistant heterotrophic bacteria in the coastal waters of Primorye. *Biologiya moria*, 2005, vol. 31, no. 2, pp. 89–93 (in Russian).
31. Choudhary S., Sar P. Characterization of a metal resistant *Pseudomonas* sp. isolated from uranium mine for its potential in heavy metal (Ni²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, and Cd²⁺) sequestration. *Bioresour. Technol.*, 2009, vol. 100, no. 9, pp. 2482–2492. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.015>
32. Tayang A., Songachan L. S. Microbial bioremediation of heavy metals. *Current Science*, 2021, vol. 120, no. 6, pp. 1013–1025. <https://doi.org/10.18520/cs/v120/i6/1013-1025>

Поступила в редакцию 14.03.2022; одобрена после рецензирования 29.03.2022; принята к публикации 30.03.2022
The article was submitted 14.03.2022; approved after reviewing 29.03.2022; accepted for publication 30.03.2022