



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 3. С. 318–330

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 3, pp. 318–330

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-3-318-330>, EDN: AJAPQI

Научная статья

УДК 579.6:574.24

## Изучение биологических и функциональных свойств микроорганизмов с высокой устойчивостью к марганцу (II)



М. А. Касаткина<sup>1</sup>✉, М. В. Решетников<sup>2</sup>, Е. В. Плешакова<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А., Россия, 410054, г. Саратов, ул. Политехническая, д. 77

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

Решетников Максим Владимирович, доцент кафедры «Теплогасоснабжение и нефтегазовое дело», mavr15@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0009-2361-5941>

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

**Аннотация.** Вопрос очистки вод центрального водоснабжения, а также сточных вод от избыточного содержания тяжёлых металлов остаётся актуальным и в настоящее время. Присутствие тяжёлых металлов даже в следовых количествах, оказывает отрицательное воздействие не только на окружающую среду, но и на все системы органов человека. На данный момент к числу приоритетных поллютантов, поступающих в организм человека с питьевой водой, относятся железо и марганец. Были проведены исследования по изучению биологических и функциональных свойств у выделенных из высокомагнитной почвы микроорганизмов, продемонстрировавших ранее высокую устойчивость к марганцу (II). Микробные штаммы с максимальной резистентностью к Mn (II) идентифицированы как: *Bacillus simplex* 55.2, *B. simplex* 13.2 и *Listeria murrayi* 13.4. Исследована динамика роста *B. simplex* 55.2 и *B. megaterium* 69.5 в условиях периодического культивирования в жидкой среде, содержащей 2 ммоль/л Mn (II). Показано, что через 7 сут. культивирования вес биомассы *B. megaterium* 69.5 увеличился в 5,5 раза, *B. simplex* 55.2 – в 3,7 раза относительно значений через 1 сут. культивирования, оптическая плотность культуральной среды *B. megaterium* 69.5 увеличилась в 4 раза, *B. simplex* 55.2 – в 2 раза по сравнению с исходной посевной дозой. Удельная скорость роста *B. megaterium* 69.5 через 7 сут. культивирования была выше, чем у *B. simplex* 55.2 примерно в 2 раза, а степень удаления Mn (II) из водной среды была меньше. *B. simplex* 55.2. снижал содержание Mn (II) на 66 %, *B. megaterium* 69.5 – на 50%. Установлено, что *B. megaterium* 69.5, *B. simplex* 55.2, *B. simplex* 13.2 и *L. murrayi* 13.4 способны расти в условиях повышенной щёлочности и минерализации среды (pH 7–10; 10% NaCl). Учитывая, что данные микроорганизмы способны удалять высокие концентрации Mn (II) из водной среды, они представляют перспективу для использования их в биотехнологии очистки воды.

**Ключевые слова:** ионы марганца (II), марганцеокисляющие микроорганизмы, устойчивость, периодическое культивирование, прирост биомассы

**Для цитирования:** Касаткина М. А., Решетников М. В., Плешакова Е. В. Изучение биологических и функциональных свойств микроорганизмов с высокой устойчивостью к марганцу (II) // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 3. С. 318–330. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-3-318-330>, EDN: AJAPQI

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

Article

### A study of the biological and functional properties of microorganisms with high resistance to manganese (II)

М. А. Kasatkina<sup>1</sup>✉, М. В. Reshetnikov<sup>2</sup>, Е. В. Pleshakova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

<sup>2</sup>Yuri Gagarin State Technical University of Saratov, 77 Politekhnikeskaya St., Saratov 410054, Russia

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

Maxim V. Reshetnikov, mavr15@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0009-2361-5941>

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

**Abstract.** The issue of water treatment of the central water supply, as well as wastewater, from excessive content of heavy metals (HMs) remains relevant at the present time. The presence of heavy metals, even in trace amounts, has a negative impact not only on the environment, but also



on all human organic systems. At the moment, iron and manganese are among the main pollutants entering the human body via drinking water. Studies were carried out on the biological and functional properties of microorganisms isolated from highly magnetic soil, which previously demonstrated high resistance to manganese (II). Microbial strains with maximum resistance to Mn (II) were identified as: *Bacillus simplex* 55.2, *B. simplex* 13.2 and *Listeria murrayi* 13.4. The growth dynamics of *B. simplex* 55.2 and *B. megaterium* 69.5 was studied under conditions of periodic cultivation in a liquid medium containing 2 mmol/L Mn (II). It was shown that after 7 day's cultivation, the weight of the biomass of *B. megaterium* 69.5 increased by 5.5 times, *B. simplex* 55.2 increased by 3.7 times relative to the values after 1 day cultivation, the optical density of the culture medium *B. megaterium* 69.5 increased 4 times, *B. simplex* 55.2 increased 2 times compared with the initial sowing dose. The specific growth rate of *B. megaterium* 69.5 after 7 days cultivation was higher than that of *B. simplex* 55.2 by about 2 times, and the degree of removal of Mn (II) from the aquatic environment was less. *B. simplex* 55.2 reduced the content of Mn (II) by 66%, *B. megaterium* 69.5 reduced by 50%. It was established that *B. megaterium* 69.5, *B. simplex* 55.2, *B. simplex* 13.2 and *L. murrayi* 13.4 are able to grow in conditions of high alkalinity and mineralization of the medium (pH 7–10; 10% NaCl). Taking into account that these microorganisms are able to remove high concentrations of Mn (II) from the aquatic environment, they are promising for their use in water treatment biotechnology..

**Keywords:** manganese (II) ions, manganese-oxidizing microorganisms, resistance, periodic cultivation, biomass growth

**For citation:** Kasatkina M. A., Reshetnikov M. V., Pleshakova E. V. A study of the biological and functional properties of microorganisms with high resistance to manganese (II). *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 3, pp. 318–330 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-3-318-330>, EDN: AJAPQI

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

## Введение

Отличительными особенностями современного мира являются: интенсификация техногенеза; включение в биогеохимические циклы потоков токсичных элементов в концентрациях, не характерных для среды обитания человека, значительно превышающих допустимые уровни; деградация компонентов окружающей среды (атмосферы, гидросферы, литосферы, биосферы) [1]. Многие водные объекты урбанизированных территорий, особенно расположенные вблизи промышленных предприятий, постоянно подвергаются сильной техногенной нагрузке, в том числе загрязнению тяжёлыми металлами (ТМ) [2–4]. Во многих городах отмечено ухудшение качества подземных вод, используемых для питьевого водоснабжения. Экологические последствия загрязнения вод питьевого назначения ТМ разнообразны [5, 6]. Ущерб здоровью населения от потребления недоброкачественной питьевой воды соразмерен с потерями от стихийных бедствий, голода и других глобальных факторов [7, 8]. Наибольшие опасения связаны с влиянием ТМ на состояние здоровья детей, как наиболее чувствительную субпопуляцию людей [9]. Население Саратовской области в 80% случаев использует воду из малых рек для хозяйственно-бытовых целей, не прошедшую очистку или при наличии частичной очистки [10].

К числу приоритетных поллютантов, поступающих в организм человека с питьевой водой, относятся железо и марганец [11]. В Саратовской области превышение ПДК марганца наблюдалось в реках Хопёр, Большой Узень, Карай, Большой Иргиз, Карабулак, в воде для водоснабжения г. Вольска [10]. При экзогенном поступлении избытка марганца в организм человека с питьевой водой наблюдается общерезорб-

тивное и специфическое повреждающее действие марганца на желудочно-кишечный тракт, почки, ЦНС, кровяную, костную и иммунную системы, снижается активность антиоксидантной системы и обменных процессов [8]. При постоянном употреблении воды с повышенным содержанием марганца происходит снижение абсорбции и метаболизма железа, что ведёт к развитию железодефицитного состояния. При избыточном поступлении марганца в условиях производства развиваются манганозы с возможным синдромом паркинсонизма, психическими нарушениями, астено-вегетативным синдромом с угнетением функции гонад [12].

Для извлечения марганца из техногенных вод применяют следующие методы: ионную флотацию, катионирование, сорбцию, экстракцию, аэрацию, окисление [13]. Поскольку марганец относится к токсичным ТМ, и согласно СанПиН 2.1.3684-21 его содержание в питьевой воде не должно превышать 0,1 мг/л, поэтому удаление марганца из природной воды (деманганация) является важной и наиболее распространённой операцией водоподготовки [14]. При этом используются следующие способы: увеличение окислительно-восстановительного потенциала среды путём применения сильных окислителей без корректирования значения pH воды; повышение pH воды при недостаточном окислительно-восстановительном потенциале в случае использования слабых окислителей; совместное применение более сильного окислителя и повышение pH среды [15]. Современной альтернативой физико-химическим способам очистки воды от ТМ являются более доступные и инновационные биологические методы с использованием микроорганизмов [16–18], в том числе для удаления из воды избытка марганца [19].



Железо и марганец присутствуют в природных водах в форме минеральных или органических соединений гуминовых или некоторых жирных кислот. Железо- и марганеорганические комплексы создают условия для развития маргано- и ферробактерий [20]. Такие микроорганизмы способны ферментативно окислять двухвалентные соединения марганца и другие металлы, а также осаждать оксиды элементов на поверхности собственной клетки. Данные свойства обнаружены у многих микроорганизмов родов *Bacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, а также актинобактерий – типичных обитателей не только водоёмов, но и почв [21–24]. Показано, что микроорганизмы окисляют Mn (II) с помощью медь-зависимых оксидаз, которые были найдены у пресноводных грамотрицательных бактерий *Pseudomonas putida*, *Leptothrix discophora* и морской грамположительной бактерии *Bacillus* sp. SG-1 [25]. Скорость микробиологической трансформации растворимого Mn (II) в нерастворимую форму Mn (IV) на несколько порядков выше скорости абиотического окисления марганца в природных водах [21, 23, 26]. Поэтому использование микроорганизмов для деманганации воды представляется перспективной биотехнологией, направленной на снижение избыточного содержания марганца в водных экосистемах, в очищаемых сточных водах и в питьевой воде [27]. Совершенствование биотехнологий микробной очистки от ионов марганца связано с получением высокоактивных штаммов, изучением и отработкой условий их наиболее эффективного использования. В связи с этим выявление подобных микробных штаммов, исследование их свойств, позволяющих применять микроорганизмы в биотехнологиях очистки воды от повышенного содержания марганца, является актуальным.

Целью настоящей работы было изучение биологических и функциональных свойств микроорганизмов, способных к росту в среде, содержащей широкий диапазон концентраций Mn (II).

#### Материалы и методы

В качестве объектов исследования использовалось 11 микроорганизмов, изолированных ранее из высокомагнитной почвы г. Медногорска (Оренбургская область, Россия) [28]. Почвенные пробы, из которых изолировали микроорганизмы, характеризовались значительной степенью антропогенной нагрузки и чрезвычайно высоким уровнем магнитной восприимчивости, что

свидетельствовало о повышенном содержании в почве магнитных минералов, в первую очередь, минералов группы железа [29]. Среди объектов наших исследований было два штамма железоокисляющих микроорганизмов: *Bacillus megaterium* 69.3 и *B. megaterium* 69.5, идентифицированных ранее по совокупности изученных культурально-морфологических, физиолого-биохимических признаков и результатов молекулярного типирования [30]. Последовательности 16S рРНК *B. megaterium* 69.3 и *B. megaterium* 69.5 были зарегистрированы в GenBank NCBI под номерами MK764545 и MK764687 соответственно. Также изучали девять изолятов, выделенных с использованием селективной среды следующего состава, г/л:  $MnSO_4 \times 5H_2O$  – 4,72;  $(NH_4)_2SO_4$  – 0,5;  $NaNO_3$  – 0,5;  $K_2HPO_4$  – 0,5;  $MgSO_4 \times 7H_2O$  – 0,5; лимонная кислота – 10,0; сахароза – 2,0; пептон – 1,0; pH 7,0 [31].

Морфолого-культуральные и физиолого-биохимические признаки микроорганизмов исследовали по стандартным методикам [32]. Идентификацию микроорганизмов проводили по результатам изучения совокупности морфолого-культуральных и физиолого-биохимических признаков согласно определителю бактерий Берджи [33].

В опытах по изучению влияния pH сред для культивирования (в диапазоне pH от 5,0 до 10,0) на рост бактерий применяли жидкую питательную среду (МПБ) с использованием TRIS буфера (pH 9,0) и буферного раствора на основе карбоната натрия с соляной кислотой (pH 10,0) [34]. При изучении способности микроорганизмов расти в среде с повышенной степенью минерализации их выращивали в МПБ с различным содержанием NaCl: 2, 5, 7, 10 и 15%.

Для определения показателей роста микроорганизмов в условиях периодического культивирования их выращивали в 50 мл жидкой селективной среды, содержащей Mn (II) в концентрации 2 ммоль/л в 0,25-л колбах Эрленмейера в настольном шейкере-инкубаторе PSU-10i (BioSan, Латвия) при 160 об/мин и температуре 22–24°C в течение 7 сут. В качестве посевного материала использовали смыв суточной культуры микроорганизмов с агаризованной селективной среды стерильным физиологическим раствором. Оптическая плотность исходной посевной дозы составляла 1,0 ед. при длине волны 440 нм. В качестве контроля использовали селективную среду без микроорганизмов. Каждый вариант изучали в трёх повторностях.



Показатели роста микроорганизмов определяли через 1, 3 и 7 сут. культивирования двумя методами (прямым (1) и косвенным (2)): 1) весовой метод – оценка прироста биомассы по сырому весу (г/л); 2) анализ абсолютного прироста биомассы путём измерения оптической плотности культуральной жидкости.

Весовой метод включал следующие процедуры: 1) предварительное взвешивание центрифужных пробирок; 2) отделение клеток микроорганизмов от культуральной жидкости центрифугированием. Для этого центрифугировали 1 мл культуральной жидкости в пробирках (5 шт.) на центрифуге MiniSpin plus (Eppendorf, Россия) в течение 5–7 мин при 10 тыс. об/мин. После центрифугирования супернатант осторожно сливали; 3) определение веса биомассы. Взвешивали центрифужные пробирки с осадком клеток микроорганизмов. Вес сырой биомассы определяли по формуле:

$$M = \frac{(A - B)}{V} \cdot 1000,$$

где  $M$  – вес сырой биомассы, г/л;  $A$  – вес центрифужной пробирки с осадком, г;  $B$  – вес центрифужной пробирки без осадка, г;  $V$  – объём культуральной жидкости, взятый для центрифугирования, мл.

Также нами был использован косвенный метод оценки биомассы – фотометрический метод измерения мутности бактериальной суспензии, основанный на её способности поглощать свет пропорционально количеству находящегося в среде микроорганизмов. Измерение оптической плотности культуральной жидкости осуществляли при  $\lambda = 440$  нм на фотоколориметре КФК-2 в кювете с длиной оптического пути 1,0 см. Абсолютный прирост биомассы выражали в единицах оптической плотности суспензии клеток микроорганизмов [35].

Удельные скорости роста бактериальных культур ( $\mu$ ) рассчитывали по данным концентрации биомассы по формуле:

$$\mu = \frac{\ln X_0 - \ln X_1}{T_1 - T_0},$$

где  $X_1$  и  $X_2$  – значения биомассы, соответствующие времени роста  $T_0$  и  $T_1$ .

Для измерения массовой концентрации общего марганца в культуральной среде использовали метод с использованием окисления до перманганат-ионов согласно ГОСТ 4974-2014 [36]. Сущность метода заключается в каталитическом

окислении соединений марганца персульфатом калия до перманганат-ионов с последующим измерением оптической плотности раствора и расчётом массовой концентрации марганца в среде. Для регистрации данных определяли массовую концентрацию марганца, используя предварительно построенный градуировочный график.

Для всех полученных данных вычисляли средние значения, для сравнения которых использовали показатели стандартного отклонения и наименьшей существенной разницы. Статистическую обработку результатов проводили при  $p \leq 0,05$  с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2007. Корреляционный анализ осуществляли с использованием программы STATISTICA 7 (TIBCO Software Inc. 2017, Statsoft Russia).

### Результаты и их обсуждение

В ходе ранее проведённых скрининговых исследований было установлено, что 9 из 11 исследованных микроорганизмов, изолированных из микробоценозов высокомагнитных почв города Медногорска, приоритетными загрязнителями которого являются промышленные выбросы с ТМ, проявили высокую устойчивость к ионам марганца (II) [37].

Были выявлены два микроорганизма с максимальной устойчивостью: изолят 55.2 и *B. megaterium* 69.5, максимально-толерантная концентрация (МТК) Mn (II) для них составила 300,0 и 350,0 ммоль/л, минимально-ингибирующая концентрация (МИК) – 350,0 и 450,0 ммоль/л соответственно. Чуть ниже были данные показатели у двух других изолятов: 13.2 и 13.4. МТК Mn (II) для них составила 200,0, а МИК – 250,0 ммоль/л. Была продемонстрирована высокая резистентность микроорганизмов: изолята 55.2 и *B. megaterium* 69.5 к диапазону концентраций Mn (II) от 0,5 до 250,0 ммоль/л при их культивировании в питательной и селективной жидкой среде. Максимальный рост обоих штаммов наблюдался при концентрации марганца (II) в среде культивирования 10 ммоль/л [37].

У микроорганизмов, отобранных по результатам скрининговых исследований, были изучены культурально-морфологические и физиолого-биохимические признаки (табл. 1). В табл. 1 для сравнения приведена характеристика микробного штамма *B. megaterium* 69.5, идентифицированного ранее [30], который окислял железо и обладал высокой устойчивостью к Mn (II).



Таблица 1 / Table 1

**Морфологические и физиолого-биохимические признаки микроорганизмов**  
**Morphological and physiological and biochemical features of the microorganisms**

| Тест / Test  |                       | Штаммы / Strains  |      |      |                |
|--|-----------------------|-------------------|------|------|----------------|
|  |                       | 69.5              | 55.2 | 13.2 | 13.4           |
| Окраска по Граму / Gram stain                                  |                       | +                 | +    | +    | +              |
| Морфология клеток / Cell morphology                            |                       | Бациллы / Bacilli |      |      | Палочки / Coli |
| Пигментация / Pigmentation                                     |                       | –                 | –    | –    | –              |
| Подвижность / Motility   |                       | +                 | +    | +    | +              |
| Рост в анаэробных условиях / Growth under anaerobic conditions |                       | +                 | +    | +    | +–             |
| Каталазная активность / Catalase activity                      |                       | +                 | +    | +    | +              |
| Тест Фогес – Проскауэра / Vogues – Proskauer test              |                       | –                 | –    | –    | –              |
| Гидролиз / Hydrolysis  | Желатин / Gelatin     | +                 | +    | +    | +              |
|  | Крахмал / Starch      | +                 | +    | +    | +              |
| Образование кислоты из: /<br>Formation of acid from:           | Глюкоза / Glucose     | +                 | +    | +    | +              |
|  | Сахароза / Sucrose    | +                 | +    | +    | +              |
|  | Арабиноза / Arabinose | +                 | +–   | –    | +              |
|  | Ксилоза / Xylose      | +                 | –    | +    | –              |
|  | Лактоза / Lactose     | +                 | +    | –    | +              |
|  | Мальтоза / Maltose    | +                 | +    | +    | +              |
|  | Сорбит / Sorbitol     | +                 | +    | –    | +              |
|  | Маннит / Mannitol     | +                 | +–   | +–   | +–             |
| Редукция нитратов / Reduction of nitrates                      |                       | –                 | –    | –    | –              |
| Использование цитрата / Use of citrate                         |                       | –                 | –    | –    | –              |
| Рост при: / Growth at:   | 10 °C                 | –                 | –    | –    | –              |
|  | 42 °C                 | –                 | –    | –    | –              |
|  | 2% NaCl               | +                 | +    | +    | +              |
|  | 5% NaCl               | +                 | +    | +    | +              |
|  | 7% NaCl               | +                 | +    | +    | +              |
|  | 10% NaCl              | +                 | +    | +    | +              |
|  | 15% NaCl              | –                 | –    | –    | –              |
|  | pH 5                  | –                 | –    | –    | –              |
|  | pH 9                  | +                 | +    | +    | +              |
| pH 10  | +                     | +                 | +    | +    |                |
| Образование из пептона /<br>Formation of from peptone          | Аммиак / Ammonia      | –                 | –    | –    | –              |
|  | H <sub>2</sub> S      | +                 | –    | –    | –              |

Примечание. «–» – отсутствие роста; «+–» – слабый рост; «+» – заметный рост.  
 Note. “–” – no growth; “+–” – small growth; “+” – good growth.

Изучение микробных изолятов 55.2 и 13.2 показало, что они представлены грамположительными прямыми палочками, расположенными одиночно, обладают подвижностью, способны образовывать споры. Эндоспоры сферические, лежат терминально в раздутом спорангии. Данные микроорганизмы факультативные

анаэробы. Наблюдается хороший рост на МПА через сутки культивирования при 28°C. Колонии на МПА мелкие, округлой формы, гладкие, блестящие, белого цвета, гомогенные, с ровными краями, слизистой консистенции; диаметр колоний – 1,0–4,0 мм. На МПБ при инкубации в течение 24–48 ч без встряхивания наблюдается



образование плёнки на поверхности среды. Температурный оптимум 20–30° С. Не растут при 42 и 10° С. Наблюдается гибель при рН 5, при значениях рН 9 и 10 рост сохраняется (табл. 1 и 2). Не используют цитрат на среде Симмонса, не образуют аммиак и H<sub>2</sub>S, не продуцируют нитратредуктазу. Оксидазоотрицательные.

Каталазоположительны. Способны гидролизовать крахмал, желатин. Есть способность к окислению глюкозы, лактозы, сахарозы, фруктозы, арабинозы, мальтозы; маннит и ксилозу окисляют слабо. Реакция Фогес – Проскауэра отрицательная.

По результатам изучения изолята 13.4 было установлено, что он представлен грамположительными палочками, расположенными одиночно или в виде коротких цепочек (3–5 клеток), подвижный. Данный микроорганизм является факультативным анаэробом. Колонии на МПА мелкие, беловатые с перламутровым оттенком, плоские, гладкие, блестящие, с ровными краями, с однородной слизистой консистенцией; диаметр колоний – 1–2 мм. При инкубации в течение 24–48 ч в МПБ без встряхивания при 28 °С наблюдается значительный рост, плёнка на

поверхности среды не образуется. Не растёт при 42 и 10 °С. При рН 5 происходит гибель микроорганизма, при значениях рН 9 и 10 рост сохраняется (см. табл. 1 и 2). Не использует цитрат на среде Симмонса, не продуцирует аммиак и H<sub>2</sub>S, не образует нитратредуктазу. Оксидазоотрицательный. Каталазоположительный. Способен гидролизовать крахмал, желатин. Есть способность к окислению глюкозы, лактозы, сахарозы, фруктозы, арабинозы, мальтозы; маннит и ксилозу окисляют слабо. Реакция Фогес – Проскауэра отрицательная.

На основании проведённых исследований по результатам сравнительного анализа культурально-морфологических и физиолого-биохимических признаков в соответствии с критериями дифференциации бактерий, предложенными в 9-м издании руководства «Определитель бактерий Берджи» (1997), были идентифицированы нами как *Bacillus simplex* 55.2, *B. simplex* 13.2 и *Listeria murrayi* 13.4.

У отобранных нами четырёх микробных штаммов наблюдался активный рост в среде с содержанием NaCl до 10%. При концентрации NaCl, равной 15%, рост не обнаруживался (см. табл. 2).

Таблица 2 / Table 2

**Ростовые и ферментативные свойства микроорганизмов**  
**Growth and enzymatic properties of microorganisms**

| Микроорганизм /<br>Microorganism | Рост в условиях / Growth in conditions |   |    |  |   |   |    |    | Активность / Activity         |                      |                               |
|----------------------------------|--|---|----|--|---|---|----|----|-------------------------------|----------------------|-------------------------------|
|                                  | рН                                     |   |    | содержание NaCl,<br>% по объёму /<br>NaCl content, % by volume |   |   |    |    | гемолитическая /<br>hemolytic | липазная /<br>lipase | лецитиназная /<br>lecithinase |
|                                  | 5                                      | 9 | 10 | 2  | 5 | 7 | 10 | 15 |                               |                      |                               |
| <i>Bacillus megaterium</i> 69.5  | –                                      | + | +  | +  | + | + | +  | –  | –                             | –                    | –                             |
| <i>Bacillus simplex</i> 13.2     | –                                      | + | +  | +  | + | + | +  | –  | –                             | –                    | –                             |
| <i>Bacillus simplex</i> 55.2     | –                                      | + | +  | +  | + | + | +  | –  | –                             | –                    | –                             |
| <i>Listeria murrayi</i> 13.4     | –                                      | + | +  | +  | + | + | +  | –  | –                             | –                    | –                             |

Примечание. «–» – отсутствие роста; «+» – заметный рост.

Note. “–” – no growth; “+” – good growth.

Согласно Федеральному закону «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» микроорганизмы, обладающие патогенностью, токсичностью или полирезистентностью к антибиотикам, не могут быть включены в состав биоремедиационных препаратов, так как несут угрозу здоровью человека и животных. Учитывая возможность использования изучаемых нами микроорганизмов в биотехнологических процессах деманганации воды, была изучена гемолитическая и лецитиназная активность бактерий,

которая может свидетельствовать о наличии факторов патогенности у микроорганизмов.

Гемолитическую активность у микроорганизмов определяли методом высева на кровяной агар и последующей инкубацией в термостате в течение 24–48 ч. В результате не было обнаружено зон гемолиза вокруг образовавшихся колоний (см. табл. 2). Также был произведён посев данных штаммов на желточно-соляной агар, результат теста оказался отрицательным, липазная и лецитиназная активность у изученных микробных



штаммов отсутствовала. Проведённые тесты косвенно свидетельствуют об отсутствии патогенности у изучаемых нами микроорганизмов.

Результаты оценки роста микроорганизмов *B. simplex* 55.2 и *B. megaterium* 69.5 в условиях периодического культивирования в жидкой селективной среде с 2 ммоль/л Mn (II) представле-

ны на рис. 1 и 2. Данная концентрация марганца, как было показано ранее [37], не ингибировала рост *B. megaterium* 69.5 и *B. simplex* 55.2, МТК и МИК для этих микроорганизмов были намного выше. Учитывая, что ПДК ионов марганца в питьевой воде – 0,1 мг/л, данная концентрация соответствовала 1000ПДК.

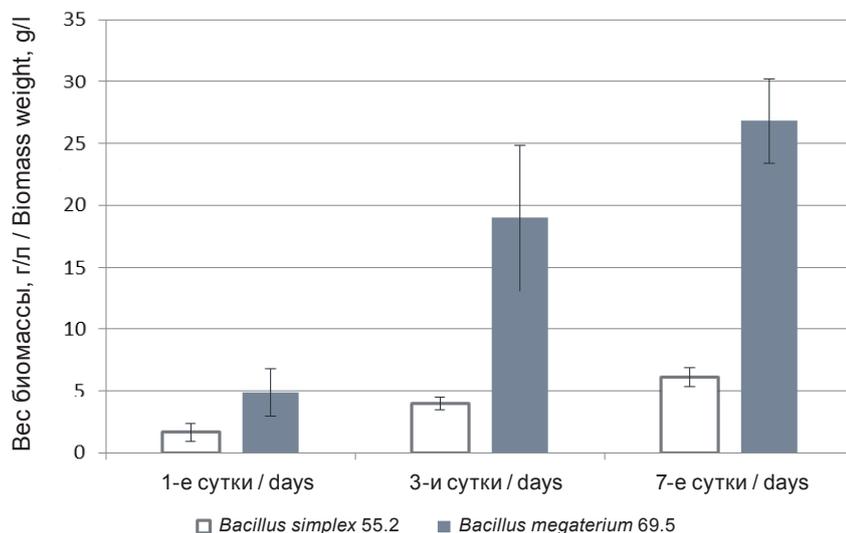


Рис. 1. Прирост биомассы по сырому весу у *B. simplex* 55.2 и *B. megaterium* 69.5, культивируемых в селективной среде с 2 ммоль/л Mn (II)

Fig. 1. Biomass growth by wet weight in strain *B. simplex* 55.2 and *B. megaterium* 69.5 cultivated in a selective medium containing 2 mmol/L Mn (II)

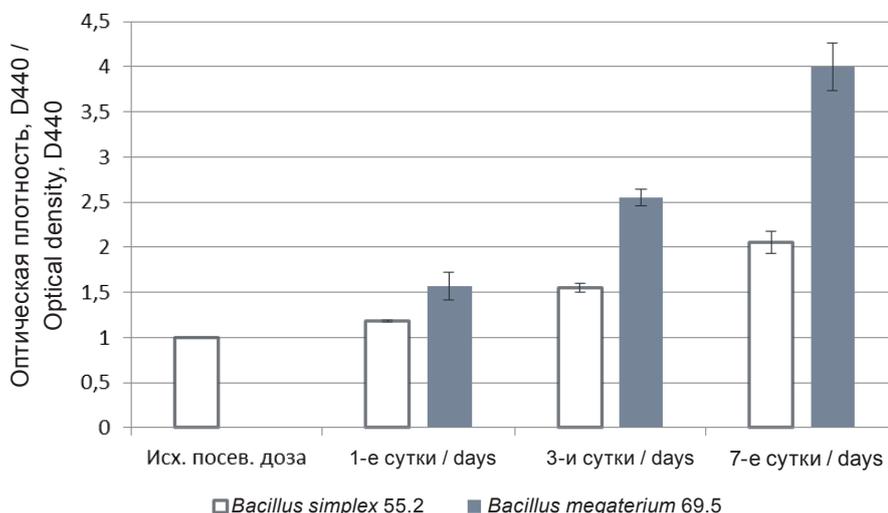


Рис. 2. Абсолютный прирост биомассы у *B. simplex* 55.2 и *B. megaterium* 69.5, культивируемых в селективной среде с 2 ммоль/л Mn (II)

Fig. 2. Absolute increase in biomass in strain *B. simplex* 55.2 and *B. megaterium* 69.5 cultivated in a selective medium containing 2 mmol/L Mn (II)

Согласно весовому методу *B. simplex* 55.2 продемонстрировал хороший рост в селективной среде, содержащей 2 ммоль/л Mn (II) (см. рис. 1). Вес сырой биомассы через сутки куль-

тивирования составил 1,6 г/л. Через трое суток культивирования в жидкой селективной среде с Mn (II) вес биомассы *B. simplex* 55.2 увеличился в 2,4 раза по сравнению с первыми сутками



культивирования в таких же условиях. Через 7 сут. культивирования прирост биомассы продолжался, вес биомассы у данного штамма по сравнению с первыми сутками культивирования увеличился в 3,7 раза и составил 6,1 г/л.

Согласно весовому методу *B. megaterium* 69.5 вес сырой биомассы через сутки культивирования составил 4,88 г/л, что было в 3 раза выше, чем вес сырой биомассы у штамма 55.2 (см. рис. 1). Через 3 сут. культивирования в жидкой селективной среде с ионами марганца вес биомассы штамма *B. megaterium* 69.5 увеличился в 3,9 раза по сравнению с первыми сутками культивирования в таких же условиях. Через 7 сут. культивирования прирост биомассы продолжался, вес биомассы у данного штамма по сравнению с первыми сутками культивирования увеличился в 5,5 раза и составил 26,8 г/л.

Результаты определения абсолютного прироста биомассы фотометрическим методом несколько отличались от результатов весового метода. Хотя тенденция роста *B. simplex* 55.2 в течение 7 сут. сохранялась, но увеличение абсолютного прироста биомассы было не таким выраженным. Изменение оптической плотности через сутки культивирования *B. simplex* 55.2 произошло незначительно – на 18% относительно исходной посевной дозы, которая была равна 1 ед. (см. рис. 2). Через трое сут. культивирования оптическая плотность культуральной среды изменилась в 1,55 раза. Через 7 сут. роста микроорганизма оптическая плотность культуральной среды увеличилась примерно в 2 раза по сравнению с исходной посевной дозой.

Результаты определения абсолютного прироста биомассы *B. megaterium* 69.5 фотометрическим методом несколько отличались от результатов весового метода, как и у *B. simplex* 55.2. Тенденция активного роста *B. megaterium* 69.5 в течение 7 сут. сохранялась, но увеличение абсолютного прироста биомассы было не таким выраженным. Оптическая плотность через сутки культивирования *B. megaterium* 69.5 увеличилась

в 1,57 раза относительно исходной посевной дозы (см. рис. 2). Через 3 сут. культивирования оптическая плотность культуральной среды увеличилась в 2,55 раза. Через 7 сут. роста микроорганизма оптическая плотность культуральной среды возросла в 4 раза по сравнению с исходной посевной дозой.

При сравнении роста *B. simplex* 55.2 и *B. megaterium* 69.5 через 7 сут. культивирования видно, что прирост биомассы по сырому весу у штамма *B. megaterium* 69.5 был в 4,4 раза выше, чем данный показатель у *B. simplex* 55.2.

Известно, что распространённым механизмом адаптации к воздействию ТМ у микроорганизмов является сорбция соединений металлов, в том числе марганца, на клеточной стенке бактерий, мембране или капсуле. Многие микроорганизмы, такие как представители родов *Bacillus*, *Lactococcus*, *Pseudomonas*, способны поглощать ионы ТМ внутриклеточно. Так, исследования, проведённые на микробном штамме *Bacillus thuringiensis* DM55 в присутствии 0,25 ммоль кадмия, показали, что наибольшее количество кадмия аккумулируется биомассой в период с начала культивирования и до ранней фазы экспоненциального роста [38]. Полученные нами данные, продемонстрировавшие, что прирост биомассы у исследованных микроорганизмов по весу значительно превосходит прирост активной части биомассы, определённый с помощью фотометрического метода, возможно, связан с сорбцией ионов марганца микробными клетками, что увеличило их вес.

После оценки прироста биомассы микроорганизмов по весовому и фотометрическому методам, нами была рассчитана удельная скорость роста  $\mu$  (табл. 3). Скорость роста микроорганизмов зависит от многих факторов таких, как условия, в которых происходило культивирование микроорганизмов, физиологические особенности исследуемых штаммов, природа утилизируемого субстрата и его соответствующая концентрация в среде культивирования [18, 39].

Таблица 3 / Table 3

Удельные скорости роста исследованных микроорганизмов  
Specific growth rates of the studied microorganisms

| Микроорганизм /<br>Microorganism | Скорость роста, усл. ед./ч, по результатам метода /<br>Specific growth rate, CU h <sup>-1</sup> based on the method |                 |                                       |                 |
|----------------------------------|---|-----------------|---------------------------------------|-----------------|
|                                  | Весового / Weight method  |                 | Фотометрического / Photometric method |                 |
|                                  | 3 сут. / 3 days   | 7 сут. / 7 days | 3 сут. / 3 days                       | 7 сут. / 7 days |
| <i>B. simplex</i> 55.2           | 0,0219  | 0,0110          | 0,0066                                | 0,0043          |
| <i>B. megaterium</i> 69.5        | 0,0467  | 0,0196          | 0,0148                                | 0,0082          |



Стоит отметить, что удельная скорость роста у *B. megaterium* 69.5 значительно выше, чем у *B. simplex* 55.2. Данная закономерность прослеживается при использовании как весового, так и фотометрического метода. При весовом методе оценивания удельная скорость роста *B. megaterium* 69.5 примерно в 2 раза выше через трое сут. культивирования, чем у *B. simplex* 55.2. По данным фотометрического метода видно, что удельная скорость роста *B. megaterium* 69.5 в 2,2 раза выше через 3 сут. культивирования, чем у *B. simplex* 55.2. Через 7 сут. культивирования удельная скорость роста *B. megaterium* 69.5 выше, чем у *B. simplex* 55.2 в 1,8 раза (по данным весового метода) и в 1,9 раза (согласно фотометрическому анализу). При выборе перспективных

для практического использования микробных штаммов величина удельной скорости роста имеет большое значение [40]. С этой точки зрения микробный штамм *B. megaterium* 69.5 имеет преимущества перед *B. simplex* 55.2.

При измерении массовой концентрации марганца в среде культивирования было установлено, что убыль Mn (II) в среде составила около 20% через трое сут. культивирования двух исследуемых нами микробных штаммов (рис. 3). Через неделю культивирования данный показатель существенно увеличился. Убыль металла в среде, в которой культивировался *B. simplex* 55.2, составила 66% относительно абиотического контроля. Убыль Mn (II) при культивировании *B. megaterium* 69.5 составила 50%.

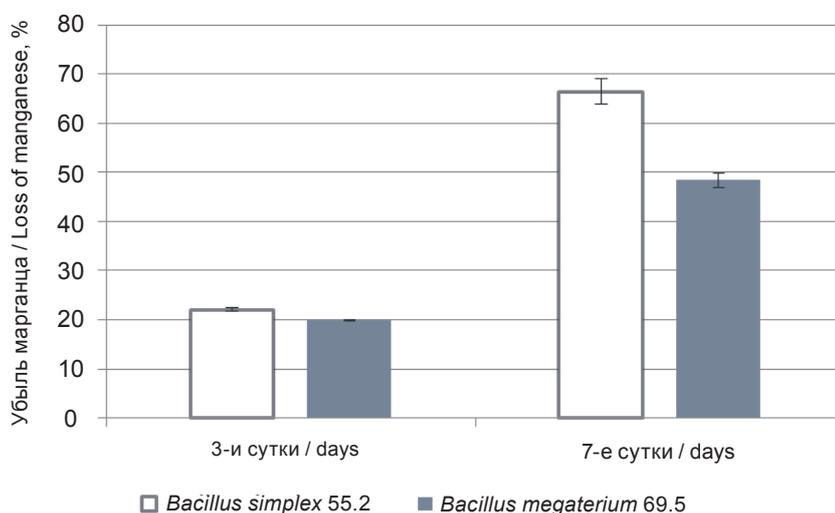


Рис. 3. Убыль марганца (II) при культивировании *B. simplex* 55.2 и *B. megaterium* 69.5

Fig. 3. The loss of manganese (II) during the cultivation of *B. simplex* 55.2 and *B. megaterium*

Была установлена сильная обратная зависимость между убылью марганца (II) и приростом биомассы *B. simplex* 55.2 по сырому весу (коэффициент корреляции Пирсона =  $-0,9426$ , при  $p = 0,00004$ ; коэффициент Спирмена =  $-1,00$ ); между убылью марганца и абсолютным приростом биомассы *B. simplex* 55.2 (коэффициент корреляции Пирсона =  $-0,9633$ , при  $p = 0,000008$ ; коэффициент Спирмена =  $-0,9970$ ). У *B. megaterium* 69.5 корреляционные коэффициенты были чуть ниже, чем у *B. simplex* 55.2, но также свидетельствовали о сильной обратной зависимости между переменными. Между убылью марганца (II) и приростом биомассы *B. megaterium* 69.5 по сырому весу коэффициент корреляции Пир-

сона =  $-0,8916$ , при  $p = 0,0005$ ; коэффициент Спирмена =  $-0,9970$ ; между убылью марганца и абсолютным приростом биомассы *B. megaterium* 69.5 коэффициент корреляции Пирсона =  $-0,9518$ , при  $p = 0,00002$ ; коэффициент Спирмена =  $-0,9939$ . Таким образом, результаты корреляционного анализа свидетельствуют, что рост исследованных микроорганизмов в среде, содержащей ионы марганца в высокой концентрации, строго коррелирует с убылью марганца.

### Заключение

Итак, в ходе скрининговых исследований была показана высокая устойчивость к ионам Mn (II) у 9 из 11 исследованных микробных



штаммов, изолированных из микробоценозов высокомагнитных почв г. Медногорска. Выявлены два микробных штамма с максимальной устойчивостью: 55.2 и *B. megaterium* 69.5, МТК Мп (II) для них составила 300,0 и 350,0 ммоль/л, МИК – 350,0 и 450,0 ммоль/л соответственно. Была продемонстрирована высокая резистентность микробных штаммов 55.2 и *B. megaterium* 69.5 к диапазону концентраций Мп (II): от 0,5 до 250,0 ммоль/л при их культивировании в питательной и селективной жидкой среде. Отмечено, что максимальный рост обоих штаммов наблюдался при концентрации марганца в среде культивирования 10 ммоль/л.

Выделенные из высокомагнитной почвы микробные штаммы с установленной максимальной резистентностью к Мп (II) и способностью к удалению Мп (II) из водной среды были идентифицированы нами как *Bacillus simplex* 55.2, *B. simplex* 13.2 и *Listeria murrayi* 13.4. Установлено, что микробные штаммы *B. megaterium* 69.5, *B. simplex* 55.2, *B. simplex* 13.2 и *L. murrayi* 13.4 способны расти в условиях повышенной щёлочности и минерализации среды (рН 7–10; 10% NaCl). Показано отсутствие гемолитической, липазной и лецитиназной активности у штаммов, что косвенно свидетельствует о непатогенности микроорганизмов.

Изучена динамика роста *B. simplex* 55.2 и *B. megaterium* 69.5 в условиях периодического культивирования в жидкой среде с 2 ммоль/л Мп (II). Через 7 сут. культивирования вес биомассы *B. megaterium* 69.5 увеличился в 5,5 раза, оптическая плотность культуральной среды в 4 раза по сравнению с показателями через 1 сут., что было в несколько раз выше показателей у *B. simplex* 55.2. Оба микроорганизма активно росли в данных условиях и снижали содержание Мп (II) в среде культивирования на 50 и 66% за 7 сут.

Таким образом, в результате проведённых исследований доказано, что высокомагнитные почвы представляют собой источник высокоспециализированных микроорганизмов, обладающих способностью расти при неблагоприятных условиях окружающей среды (рН 9–10), а также в условиях повышенной солёности, и являющихся условно экологически безопасными. Учитывая, что данные микроорганизмы способны удалять высокие концентрации Мп (II) из водной среды, они представляют перспективу для использования их в биотехнологии очистки воды.

## Список литературы

1. Рустембекова С. А., Барабошкина Т. А. Микроэлементозы и факторы экологического риска / под ред. В. В. Горшкова. М. : Университетская книга ; Логос, 2006. 112 с.
2. 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>
3. 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>
4. 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. Article ID 3359. <https://doi.org/10.3390/w12123359>
5. 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.
6. Proshad R., Kormoker T., Islam Md. S., Saha B. C., Hosain Md. R., Prince M. H., Khan M. M. An appurtenment of arsenic and iron contamination of tube-well groundwater with possible health risk in Bangladesh // Journal of Environment Pollution and Human Health. 2017. Vol. 5, № 3. P. 117–123. <https://doi.org/10.12691/jephh-5-3-7>
7. Ashraf M. A., Alam M. N., Islam M. T., Alam M. S. Deterioration of water quality by heavy metal contamination at Mymensingh municipality // Progressive Agriculture. 2007. Vol. 18, № 1. P. 235–242.
8. Мазунина Д. Л. Негативные эффекты марганца при хроническом поступлении в организм с питьевой водой // Экология человека. 2015. № 3. С. 25–31.
9. 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, iss. 3. P. 1677.
10. Мусаев Ш. Ж., Елисеев Ю. Ю., Луцевич И. Н., Долич В. Н. Гигиеническая оценка риска здоровью сельского населения, связанного с химическим загрязнением водных ресурсов // Здоровье населения и среда обитания – ЗНиСО. 2016. № 9 (282). С. 20–23.
11. Рябчиков Б. Е. Современные методы обезжелезивания и деманганации природной воды // Энергосбережение и водоподготовка. 2005. № 6 (38). С. 5–10.
12. Жаворонков А. А., Михалева Л. М., Авцын А. П. Микроэлементозы – новый класс болезней человека, животных и растений // Проблемы биогеохимии и геохимической экологии. Труды биогеохимической лаборатории. М. : Наука, 1999. Т. 23. С. 183–225.
13. Мишурина О. А., Чупрова Л. В., Муллина Э. Р. Деманганация сточных вод растворами хлорной извести // Альманах современной науки и образования. 2013. № 9 (76). С. 115–118.



14. СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий»: взамен СанПиН 2.1.7.1287-03 : дата введ. 01.03.2021 / утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28 января 2021 г. № 3.
15. Калюкова Е. Н., Иванская Н. Н. Деманганация водных растворов природным сорбентом // Вестник Башкирского университета. 2009. Т. 14, № 4. С. 1340–1342.
16. Домрачева Л. И., Скугорева С. Г., Ашихмина Т. Я., Огородникова С. Ю., Кондакова Л. В., Великородчанина 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>
17. 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>
18. Mosa K. A., Saadoun I., Kumar K., Dhankher O. P. Potential biotechnological strategies for the cleanup of heavy metals and metalloids. *Frontiers in Plant Science*. 2016. Vol. 7. P. 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00303>
19. 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.
20. Войтов Е. Л., Сколубович Ю. Л., Майков В. М., Шведков П. В. Технология подготовки питьевой воды из подземного источника с высоким содержанием железа и марганца // Известия высших учебных заведений. Строительство. 2022. № 1 (757). С. 44–56. <https://doi.org/10.32683/0536-1052-2022-757-1-44-56>
21. De Schampelaire L., Rabaey K., Boon N., Verstraete W., Voeckx P. Minireview: The potential of exchanged manganese redox cycling for sediment oxidation // *Geomicrobiology Journal*. 2007. Vol. 24, № 7-8. P. 547–558. <https://doi.org/10.1080/01490450701670137>
22. 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>
23. 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.
24. 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. Article ID 2000. <https://doi.org/10.3390/w12072000>
25. Brouwers G. J., Vijgenboom E., Corstjens P., De Vrind J. P. M., de Vrind-de Jong E. W. Bacterial Mn<sup>2+</sup> oxidizing systems and multicopper oxidases: an overview of mechanisms and functions // *Geomicrobiology Journal*. 2000. Vol. 17. P. 1–24. <https://doi.org/10.1080/014904500270459>
26. 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.
27. Kalaimurugan D., Balamuralikrishnan B., Durairaj K., Vasudhevan P., Shivakumar M. S., Kaul T., Chang S. W., Ravindran B., Venkatesan S. Isolation and characterization of heavy-metal-resistant bacteria and their applications in environmental bioremediation // *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2020. Vol. 17. P. 1455–1462. <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02563-5>
28. Плешакова Е. В., Решетников М. В., Нзун К. Т., Шувалова Е. П. Микробиологическая и биохимическая индикация почв города Медногорска // *Агрохимия*. 2016. № 1. С. 66–73.
29. Zhang C., Qiao Q., Piper J. D. A., Huang B. Assessment of heavy metal pollution from a Fe-smelting plant in urban river sediments using environmental magnetic and geochemical methods // *Environ. Pollut.* 2011. Vol. 159. P. 3057–3070.
30. Pleshakova E., Ngun C., Reshetnikov M., Larionov M. V. Evaluation of the ecological potential of microorganisms for purifying water with high iron content // *Water*. 2021. Vol. 13. Article ID 901. <https://doi.org/10.3390/w13070901>
31. Granina L. Z., Parfenova V. V., Zemskaya T. I., Zakharova Y. R., Golobokova L. P. On iron and manganese oxidizing microorganisms in sedimentary redox cycling in lake Baikal // *Berliner Palaobiologische Abhandlungen*. 2003. Vol. 4. P. 121–128.
32. Практикум по микробиологии / под ред. А. И. Нетрусова. М. : Академия, 2005. 608 с.
33. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. / пер. с англ. ; под ред. Дж. Хоулта Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса. 9-е изд. М. : Мир, 1997. 1232 с.
34. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. М. : Мир, 1991. 544 с.
35. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. *Molecular cloning: A laboratory manual*, 2nd ed. New York : Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989. 1659 p.
36. ГОСТ 4974-2014. Вода питьевая. Определение содержания марганца фотометрическими методами. М. : Стандартинформ, 2015. 23 с.
37. Плешакова Е. В., Касаткина М. А., Нзун К. Т., Решетников М. В. Изучение марганецоксилирующих микроорганизмов, выделенных из микробеценозов 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>
38. El-Helou E. R. Cadmium biosorption by a cadmium resistant strain of *Bacillus thuringiensis*: Regulation and optimization of cell surface affinity for metal cations // *Biometals*. 2000. Vol. 13, № 4. P. 273–280.
  39. Менча М. Н. Железобактерии в системах питьевого водоснабжения из подземных источников // *Водоснабжение и санитарная техника*. 2006. № 7. С. 25–32.
  40. Сироткин А. С., Жукова В. Б. Теоретические основы биотехнологии: учебно-методическое пособие. Казань : Казан. гос.-технол. ун-т., 2010. 87 с.
  10. Musayev Sh. Zh., Eliseyev Yu. Yu., Lutsevich I. N., Dolich V. N. Hygienic assessment of health risks of rural population with chemical water pollution. *Public Health and Life Environment – PH&LE*, 2016, vol. 9 (282), pp. 20–23 (in Russian).
  11. Riabchikov B. E. Modern methods of iron removal and demanganization of natural water. *Energoberezhenie i vodopodgotovka*, 2005, vol. 6 (38), pp. 5–10 (in Russian).
  12. Zhavoronkov A. A., Mikhaleva L. M., Avtsyn A. P. Microelementoses – a new class of human, animal and plant diseases. *Problemy biogeokhimii i geokhimicheskoi ekologii. Trudy biogeokhimicheskoi laboratorii*. [Problems of Biogeochemistry and Geochemical Ecology. Proceedings of the Biogeochemical Laboratory]. Moscow, Nauka, 1999, vol. 23, pp. 183–225 (in Russian).
  13. Mishurina O. A., Chuprova L. V., Mullina E. R. Waste Water Demanganization with Bleach Solutions. *Almanac of Modern Science and Education*, 2013, vol. 9 (76), pp. 115–118 (in Russian).
  14. SanPiN 2.1.3684-21 “Sanitarno-epidemiologicheskie trebovaniia k sodержaniuu territorii gorodskikh i sel’skikh poselenii, k vodnym ob’ektam, pit’evoi vode i pit’evomu vodosnabzheniiu, atmosfernomu vozdukhу, pochvam, zhilym pomeshcheniiam, ekspluatatsii proizvodstvennykh, obshchestvennykh pomeshchenii, organizatsii i provedeniiu sanitarno-protivoepidemicheskikh (profilakticheskikh) meropriiatiu”: vzamen SanPiN 2.1.7.1287-03: data vved. 01.03.2021. *Utv. Postanovleniem Glavnogo gosudarstvennogo sanitarnogo vracha Rossiyskoy Federatsii ot 28 yanvarya 2021 g. № 3* [Sanitary and epidemiological requirements for the maintenance of territories of urban and rural settlements, for water bodies, drinking water and drinking water supply, atmospheric air, soils, residential premises, operation of industrial, public premises, organization and implementation of sanitary and anti-epidemic (preventive) measures: instead of SanPiN 2.1.7.1287-03: enforced on 01.03.2021, approved by the Decree of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation dated 28 January 2021, No. 3].
  15. Kaliukova E. N., Ivanskaia N. N. Demanganization of aqueous solutions with natural sorbent. *Vestnik Bashkirskogo Universiteta*, 2009, vol. 14, no. 4, pp. 1340–1342. (in Russian).
  16. Domracheva L. I., Skugoreva S. G., Ashikhmina T. Ia., Ogorodnikova S. Iu., Kondakova L. V., Velikoredchanina E. O., Korotkova A. V., Kovina A. L. The use of waste activated sludge for the treatment of wastewater contaminated with heavy metals. *Theoretical and Applied Ecology*, 2020, no. 4, pp. 176–184. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2020-4-176-184> (in Russian).
  17. 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, pp. 2189–2212. <https://doi.org/10.3390/su7022189>
  1. Rustembekova S. A., Baraboshkina T. A. *Mikroelementozy i faktory ekologicheskogo riska*. Pod red. V. V. Gorshkova [Gorshkov V. V., ed. Microelementoses and Environmental Risk Factors]. Moscow, Universitetskaya kniga, Logos, 2006. 112 p. (in Russian).
  2. Riabova E. G. The content of heavy metals in urban water bodies. *Theoretical and Applied Ecology*, 2019, no. 1, pp. 36–40 (in Russian). <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2019-1-036-040>
  3. 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>
  4. 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, article ID 3359. <https://doi.org/10.3390/w12123359>
  5. 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.
  6. Proshad R., Kormoker T., Islam Md. S., Saha B. C., Hossain Md. R., Prince M. H., Khan M. M. An apportionment of arsenic and iron contamination of tube-well groundwater with possible health risk in Bangladesh. *Journal of Environment Pollution and Human Health*, 2017, vol. 5, no. 3, pp. 117–123. <https://doi.org/10.12691/jephh-5-3-7>
  7. Ashraf M. A., Alam M. N., Islam M. T., Alam M. S. Deterioration of water quality by heavy metal contamination at Mymensingh municipality. *Progressive Agriculture*, 2007, vol. 18, no. 1, pp. 235–242.
  8. Mazunina D. L. Negative effects of manganese in chronic intake with drinking water. *Human Ecology*, 2015, no. 3, pp. 25–31 (in Russian).
  9. 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, iss. 3, pp. 1677.



18. Mosa K. A., Saadoun I., Kumar K., Dhankher O. P. Potential biotechnological strategies for the cleanup of heavy metals and metalloids. *Frontiers in Plant Science*, 2016, vol. 7, pp. 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00303>
19. Shubakov A. A., Mikhailova E. A., Ovodov Iu. S. Use of microorganisms to extract manganese from aqueous media. *Proceedings of the Komi Scientific Center of the Ural Division of the Russian Academy of Sciences*, 2014, iss. 1 (17), pp. 16–18 (in Russian).
20. Voytov E. L., Skolubovich Yu. L., Maykov V. M., Shvedkov P. V. Technology for preparing drinking water from an underground source with a high content of iron and manganese. *News of Higher Educational Institutions. Construction*, 2022, vol. 1 (757), pp. 44–56 (in Russian). <https://doi.org/10.32683/0536-1052-2022-757-1-44-56>
21. De Schampelaire L., Rabaey K., Boon N., Verstraete W., Boeckx P. Minireview: The potential of exchanged manganese redox cycling for sediment oxidation. *Geomicrobiology Journal*, 2007, vol. 24, no. 7-8, pp. 547–558. <https://doi.org/10.1080/01490450701670137>
22. 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>
23. Sujith P. P., Loka Bharathi P. A. Manganese oxidation by bacteria: biogeochemical aspects. In: *Molecular Biomineralization. Progress in Molecular and Subcellular Biology*, Müller W., ed., vol. 52. Berlin, Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, 2011, pp. 49–76.
24. 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, article ID 2000. <https://doi.org/10.3390/w12072000>
25. Brouwers G. J., Vijgenboom E., Corstjens P., De Vrind J. P. M., de Vrind-de Jong E. W. Bacterial Mn<sup>2+</sup> oxidizing systems and multicopper oxidases: An overview of mechanisms and functions. *Geomicrobiology Journal*, 2000, vol. 17, pp. 1–24. <https://doi.org/10.1080/014904500270459>
26. 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.
27. Kalaimurugan D., Balamuralikrishnan B., Durairaj K., Vasudhevan P., Shivakumar M. S., Kaul T., Chang S. W., Ravindran B., Venkatesan S. Isolation and characterization of heavy-metal-resistant bacteria and their applications in environmental bioremediation. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2020, vol. 17, pp. 1455–1462. <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02563-5>
28. Pleshakova E. V., Reshetnikov M. V., Ngun C. T., Shuvalova E. P. Microbiological and biochemical indication of soils in the city of Mednogorsk. *Agrochemistry*, 2016, no. 1, pp. 66–73 (in Russian).
29. Zhang C., Qiao Q., Piper J. D. A., Huang B. Assessment of heavy metal pollution from a Fe-smelting plant in urban river sediments using environmental magnetic and geochemical methods. *Environmental Pollution*, 2011, vol. 159, pp. 3057–3070.
30. Pleshakova E., Ngun C., Reshetnikov M., Lariov M. V. Evaluation of the ecological potential of microorganisms for purifying water with high iron content. *Water*, 2021, vol. 13, article ID 901. <https://doi.org/10.3390/w13070901>
31. Granina L. Z., Parfenova V. V., Zemskaya T. I., Zakharova Y. R., Golobokova L. P. On iron and manganese oxidizing microorganisms in sedimentary redox cycling in lake Baikal. *Berliner Palaobiologische Abhandlungen*, 2003, vol. 4, pp. 121–128.
32. *Praktikum po mikrobiologii. Pod red. A. I. Netrusova*. [Netrusov A. I., ed. Workshop on Microbiology]. Moscow, Academy, 2005. 608 p. (in Russian).
33. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 1993. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, PA, USA, Translated under the Title: *Opredelitel' Bakterii Berdzhii*. Moscow, Mir, 1997. 1232 p. (in Russian).
34. Dawson R., Elliot D., Elliot W., Jones K. *Spravochnik biokhimiya* [Handbook of a Biochemist]. Moscow, Mir, 1991. 544 p. (in Russian).
35. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. *Molecular cloning: A laboratory manual*. 2nd ed. New York, Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989. 1659 p.
36. GOST 4974-2014. *Voda pit'evaia. Opreделение soderzhaniiia margantsa fotometricheskimi metodami* [Drinking water. Determination of manganese content by photometric methods]. Moscow, Standartinform, 2015. 23 p. (in Russian).
37. 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>
38. El-Helow E. R. Cadmium biosorption by a cadmium resistant strain of *Bacillus thuringiensis*: Regulation and optimization of cell surface affinity for metal cations. *Biometals*, 2000, vol. 13, no. 4, pp. 273–280.
39. Mencha M. N. Iron bacteria in systems of drinking water supply from underground sources. *Water Supply and Sanitary Engineering*, 2006, no. 7, pp. 25–32 (in Russian).
40. Sirotkin A. S., Zhukova V. B. *Teoreticheskiye osnovy biotekhnologii: uchebno-metodicheskoye posobiye* [Theoretical Foundations of Biotechnology: Teaching aid]. Kazan, Kazan Technological University Publ., 2010. 87 p. (in Russian).

Поступила в редакцию 15.05.2023; одобрена после рецензирования 16.05.2023; принята к публикации 17.05.2023  
The article was submitted 15.05.2023; approved after reviewing 16.05.2023; accepted for publication 17.05.2023