



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 427–436
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 427–436
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-427-436>, EDN: PLEYXB

Научная статья
УДК 577.151

Исследование влияния солей металлов на активность ферментов фенолоксидазного комплекса бактерий рода *Azospirillum*



М. А. Купряшина^{1,2}✉, Е. Г. Пономарева¹

¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН), Россия, 410049, г. Саратов, пр. Энтузиастов, д. 13

²Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112

Купряшина Мария Александровна, кандидат биологических наук, ¹заведующий лабораторией микробиологии, ²ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, kupryashina_m@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2136-5362>

Пономарева Елена Геннадьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии, ponomareva_e@ibppm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3701-9090>

Аннотация. В последние годы особое внимание уделяется разработке технологий биоразрушения органоуполлютантов и поиску новых биодеструкторов. Накопление лигниноподобных соединений и синтетических красителей в окружающей среде представляет огромную опасность не только для экосистем и биоразнообразия, но и угрожает здоровью человека. Фенолоксидазы – это группа ферментов, обладающих широкой субстратной специфичностью, способных к окислению многих полифенолов и ароматических аминов, их каталитические свойства обеспечивают возможность применения в качестве агентов биоремедиации. В данной работе представлены результаты исследования влияния ионов металлов на активность ферментов фенолоксидазного комплекса азоспирилл и способность к биоредукции органоуполлютантов. На примере двух штаммов *Azospirillum baldaniorum* Sp245 и *Azospirillum brasilense* SR80 показано, что внеклеточные лакказы, лигнин- и Mn-пероксидазы данных бактерий достаточно стабильны в присутствии исследуемых солей металлов. Отмечено снижение энзиматической активности исследуемых штаммов и угнетение эффективности биodeградации органоуполлютантов ионами Zn²⁺. Установлена индукция лакказной и лигнин-пероксидазной активности ионами меди, положительно коррелирующая со способностью азоспирилл к деградации лигнина. Анализ полученных данных показал, что для ферментов азоспирилл характерны ингибиторы и индукторы, аутентичные внеклеточным фенолоксидазам как грибного, так и бактериального происхождения.

Ключевые слова: *Azospirillum*, Mn-пероксидаза, лигнин-пероксидаза, лакказа

Для цитирования: Купряшина М. А., Пономарева Е. Г. Исследование влияния солей металлов на активность ферментов фенолоксидазного комплекса бактерий рода *Azospirillum* // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 427–436. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-427-436>, EDN: PLEYXB

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

Article

The effect of metal salts on the activity of the phenol oxidase complex enzymes of bacteria of the genus *Azospirillum*

М. А. Kupryashina^{1,2}✉, Е. Г. Ponomareva²

¹Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), 13 Prospekt Entuziastov, Saratov 410049, Russia

²Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, 112 Bolshaya Kazachya St., Saratov 410012, Russia

Mariya A. Kupryashina, kupryashina_m@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2136-5362>

Elena G. Ponomareva, ponomareva_e@ibppm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3701-9090>

Abstract. Recently, much attention has been paid to the development of technologies for biodegradation of organopollutants and the search for promising biodestructors. The environmental accumulation of lignin-like compounds and synthetic dyes poses a huge threat not only to ecosystems and biodiversity, but also to human health. Phenol oxidases are enzymes with broad substrate specificity, with oxidizing ability towards various polyphenols and aromatic amines. Therefore the use of phenol oxydases as bioremediation agents is promising due to their unique catalytic properties. In this work we present the results of a study of the effect of metal ions on the activity of the azospirilla phenol oxidase complex. It was demonstrated that extracellular laccases of lignin- and Mn-peroxidases of strains *Azospirillum baldaniorum* Sp245 and *Azospirillum*



brasile SR80 are quite stable in the presence of the studied metal salts. The enzymatic activity decreased and the effectiveness of the organo-pollutants' biodegradation efficacy was inhibited in the presence of Zn²⁺ ions. The laccase and lignin-peroxidase activity induced by copper ions positively correlated with the ability of lignin degradation by *azospirillum*. Analysis of the obtained data showed that inhibitors and inducers of authentic extracellular phenol oxidases of both fungi and bacteria are typical for *azospirillum* enzymes.

Keywords: *Azospirillum*, Mn-peroxidase, lignin peroxidase, laccase

For citation: Kupryashina M. A., Ponomareva E. G. The effect of metal salts on the activity of the phenol oxidase complex enzymes of bacteria of the genus *Azospirillum*. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 427–436 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-427-436>, EDN: PLEYXB

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

Введение

В последние годы не ослабевает интерес к исследованию ферментов, входящих в фенолоксидазные и лигнинолитические комплексы грибов и бактерий, в связи с их каталитическими особенностями и возможностью широкого прикладного использования [1]. Лакказы, лигнин- и Mn-пероксидазы обладают большим потенциалом для применения в сельском хозяйстве при деградации целлюлозы, гемицеллюлозы, лигнина, а также в биоремедиации, в частности в деструкции органических загрязнителей, таких как полициклические ароматические углеводороды, хлорфенолы, промышленные красители и нитроароматические соединения [2, 3]. Актуальным остается не только поиск продуцентов данных ферментов, но и изучение физиологии их синтеза [4]. Исследования, проведенные на сегодняшний день, демонстрируют как сходства, так и различия каталитических свойств данной группы ферментов, продуцируемых различными организмами [5]. В наших предыдущих работах была обнаружена способность diaзотрофов рода *Azospirillum* к продукции ряда внеклеточных фенолокисляющих ферментов. Ранее нами была установлена способность ряда штаммов бактерий родов *Azospirillum* к продукции оксидаз и пероксидаз фенолоксидазного комплекса, показано участие данных бактерий в деструкции модельных препаратов лигнина и азокрасителей [6–9].

Ионы металлов могут играть роль как катализаторов, так и ингибиторов фенолокисляющих ферментов [10, 11]. Актуальным является исследование влияния ионов металлов на ферментативную биодegradацию органо-поллютантов, поскольку в промышленных стоках зачастую присутствуют ионы различных металлов [12].

Цель работы – изучение влияния солей металлов на продукцию внеклеточных лакказ, Mn- и лигнин-пероксидаз азоспириллами и эффективность бактериальной биодеструкции лигнина Классона и малахитового зеленого.

Материалы и методы

В настоящей работе были использованы два штамма азотфиксирующих ассоциативных бактерий рода *Azospirillum*: *A. baldaniorum* Sp245 и *A. brasile* SR80, предоставленные коллекцией ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН. Культивирование бактерий проводили при 37°C в колбах Эрленмейера (100 мл) на жидкой малатно-солевой среде. При пассаже бактериальной культуры в опытные колбы вносили CaCl₂, CuSO₄, MnSO₄, MgSO₄, NaCl, ZnSO₄, в концентрации 1, 5 и 10 мМ. В качестве модельного красителя, был выбран трифенилметановый краситель – малахитовый зеленый, рабочая концентрация 0,01 мМ. Пробы для определения лакказной, лигнин- и Mn-пероксидазной активности отбирали через 7 дней. Удельную активность ферментов определяли спектрофотометрически с использованием специфических субстратов согласно методике, описанной ранее, и выражали в единицах на 1 мг белка [9].

Степень обесцвечивания красителя оценивали через 7 суток культивирования по изменению оптической плотности раствора при длине волны 600 нм, эффективность деколоризации рассчитывали по формуле [13, 14]:

$$\%_{\text{деградации}} = 100 \times \frac{A_{\text{нач}} - A_{\text{кон}}}{A_{\text{нач}}}$$

и выражали в процентах от контроля.

Лигниндеградирующую способность бактерий оценивали с использованием нитрированного лигнина. В работе использован модельный препарата лигнина (лигнин Классона), полученный из метанолизных опилок. Определение способности ферментов к деструкции лигнина проводили в полистироловых 96-луночных планшетах, на иммуноферментном анализаторе Multiskan Ascent («Thermo Electron», China) в Центре коллективного пользования в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии при длине волны 414 нм («Симбиоз», ИБФРМ РАН), согласно методике [9].



Эксперименты выполняли минимум в трёх повторностях в трёх независимых экспериментах, полученные данные обрабатывали с использованием статистического пакета анализа данных программы Excel Microsoft Office XP.

Результаты и их обсуждение

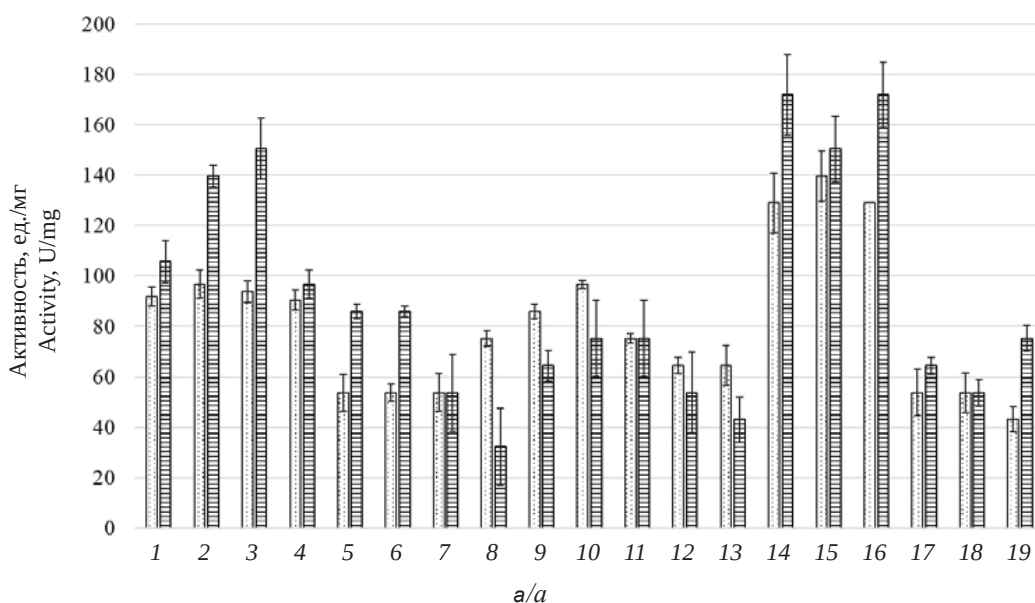
Было исследовано влияние ионов металлов на активность основных ферментов фенолоксидазного комплекса азоспирилл, а именно лакказ, лигнин- и Mn-пероксидаз, а также на способность данных бактерий к деградации лигнина Классона и малахитового зеленого. В предыдущих работах нами было показано, что штаммы *A. baldaniorum* Sp245 и *A. brasilense* SR80 имеют высокую ферментативную активность и выраженную способность к деструкции модельных соединений лигнина и биодеколонизации синтетических красителей [8, 9].

Воздействие ионов металлов на каталитические свойства ферментов многообразно и не всегда поддается четкой интерпретации. Ионы металлов участвуют в ферментативном катализе, играя важную роль во взаимодействии белка с лигандом, в результате чего могут изменяться как свойства центра связывания лиганда, так и самого каталитического центра [15]. В зависимости от типов взаимодействия ионов металлов с ферментом меняется его каталитическая активность, наибольшее значение при этом имеют ионы, участвующие в этапах биосинтеза фермента, в том числе уже на уровне трансляции. В связи с этим исследование влияния ионов металлов на ферментативную активность имеют существенное прикладное значение.

Для типичных фенолоксидаз как грибов, так и бактерий характерна стабилизация белковой глобулы в нативном состоянии за счет ионов кальция [16, 17]. Однако в нашем исследовании наблюдалось снижение активности лигнин-пероксидазы и лакказы для обоих взятых в эксперимент штаммов в присутствии CaCl_2 в среде (рис. 1). Активность Mn-пероксидазы *A. baldaniorum* Sp245 несущественно повышалась при внесении в среду культивирования 1 мМ CaCl_2 , однако снижалась прямо пропорционально увеличению концентрации соли (см. рис. 1). Присутствие NaCl в среде (даже в низких концентрациях) оказывало ингибирующий эффект на ферментативный статус азоспирилл, активность всех исследуемых ферментов снижалась на 50%. Согласно данным литературы, продукция лакказ различными биообъектами ингибируется хлорид-ионами [18].

Мощными ингибиторами многих ферментативных реакций являются ионы тяжелых металлов [19, 20]. Культивирование азоспирилл в среде с ZnSO_4 в большей степени влияло на продукцию Mn-пероксидаз и лакказ, чем лигнин-пероксидаз. Mn-пероксидазная и лакказная активность *A. baldaniorum* Sp245 и *A. brasilense* SR80 снижались на 50–90% по сравнению с контролем (см. рис. 1). Аналогичное воздействие ионов цинка на продукцию оксидаз и пероксидаз фенолоксидазного комплекса отмечалось для псевдомонад [12].

Медь, путем индукции окислительного стресса, вызывающего повреждение белков, также является ингибитором многих ферментов.



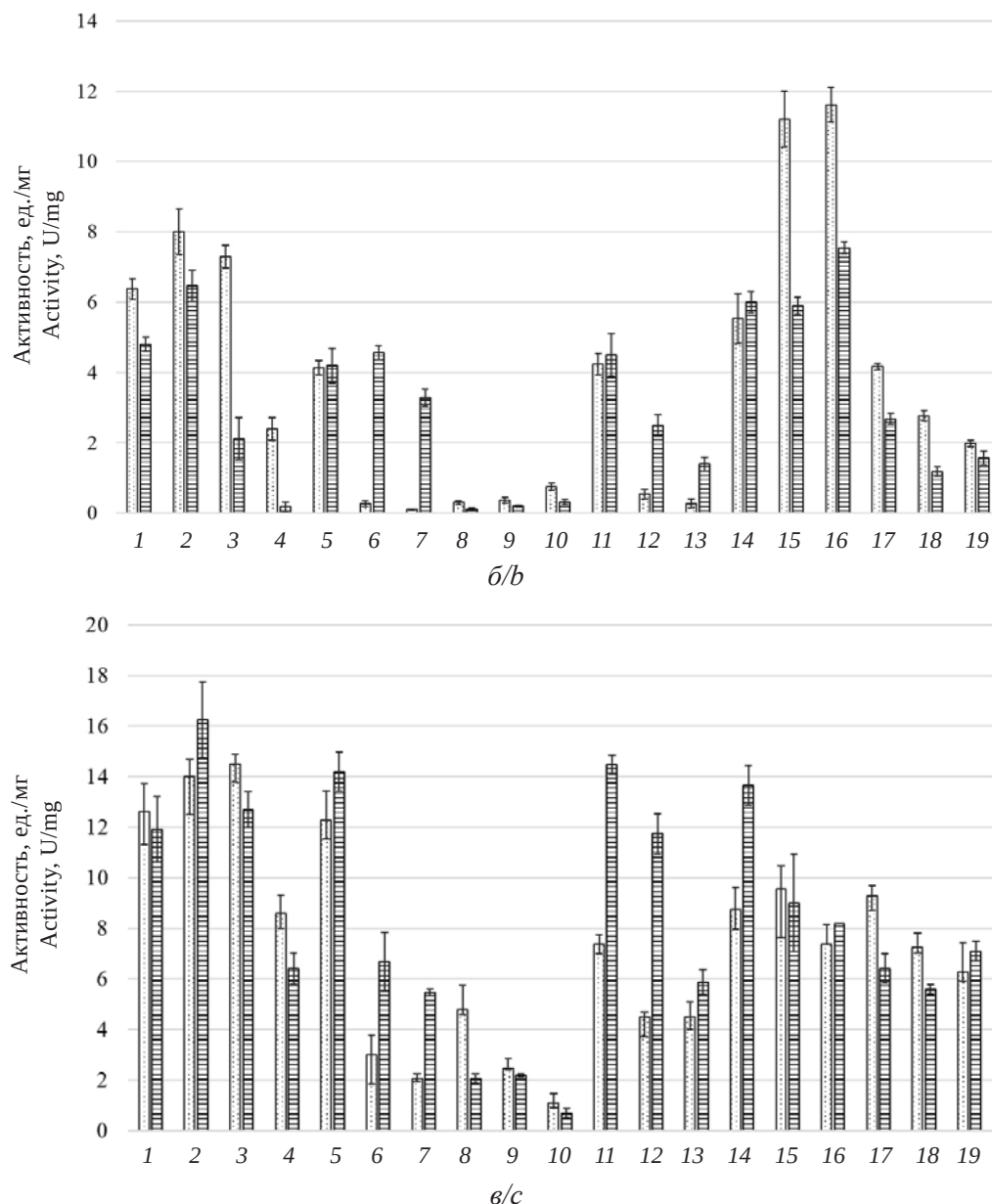


Рис. 1. Активность внеклеточной лигнин-пероксидазы (а), лакказы (б), Mn-пероксидазы (в) *A. baldaniorum* Sp245 (□) и *A. brasilense* SR80 (▤): 1 – контроль, 2 – 1 мМ MnSO₄, 3 – 5 мМ MnSO₄, 4 – 10 мМ MnSO₄, 5 – 1 мМ CaCl₂, 6 – 5 мМ CaCl₂, 7 – 10 мМ CaCl₂, 8 – 1 мМ ZnSO₄, 9 – 5 мМ ZnSO₄, 10 – 10 мМ ZnSO₄, 11 – 1 мМ MgSO₄, 12 – 5 мМ MgSO₄, 13 – 10 мМ MgSO₄, 14 – 1 мМ CuSO₄, 15 – 5 мМ CuSO₄, 16 – 10 мМ CuSO₄, 17 – 1 мМ NaCl, 18 – 5 мМ NaCl, 19 – 10 мМ NaCl

Fig. 1. Activity of extracellular lignin peroxidase (a), laccase (b), Mn-peroxidase (c) *A. baldaniorum* Sp245 (□) and *A. brasilense* SR80 (▤): 1 – control, 2 – 1 mM MnSO₄, 3 – 5 mM MnSO₄, 4 – 10 mM MnSO₄, 5 – 1 mM CaCl₂, 6 – 5 mM CaCl₂, 7 – 10 mM CaCl₂, 8 – 1 mM ZnSO₄, 9 – 5 mM ZnSO₄, 10 – 10 mM ZnSO₄, 11 – 1 mM MgSO₄, 12 – 5 mM MgSO₄, 13 – 10 mM MgSO₄, 14 – 1 mM CuSO₄, 15 – 5 mM CuSO₄, 16 – 10 mM CuSO₄, 17 – 1 mM NaCl, 18 – 5 mM NaCl, 19 – 10 mM NaCl

В то же время ионы Cu²⁺ являются кофакторами некоторых фенолоксидаз, например, в каталитическом центре голубых лакказ присутствуют четыре атома меди [21–23]. В ряде работ показано, что внесение сульфатов меди в среду

культивирования увеличивает лакказную активность как бактерий, так и грибов [4, 20, 24–26]. Медь регулирует продукцию лакказы уже на уровне транскрипции [27]. В ходе исследования мы также отмечали увеличение лакказной



активности азоспирилл в присутствии ионов меди (см. рис. 1). В большей степени присутствие меди в среде стимулировало активность внеклеточной лакказы штамма *A. brasilense* SR80, по сравнению с *A. baldaniorum* Sp245. Относительно мало данных о влиянии меди на продукцию пероксидаз фенолоксидазного комплекса. Так, в некоторых работах показано, что внесение сульфатов меди в среду культивирования базидиомицетов не влияет на продукцию Mn-пероксидазы и снижает активность лигнин-пероксидазы, в других, наоборот, увеличивает продукцию ферментов [20, 24, 28, 29]. Данные о воздействии ионов меди на активность пероксидаз бактериального происхождения отсутствуют. При внесении сульфата меди в среду выращивания мы отмечали увеличение лигнин-пероксидазной активности более, чем на 50% для штамма *A. baldanio-*

rum Sp245, и на 80% для *A. brasilense* SR80. В то же время ионы меди снижали Mn-пероксидазную активность, при этом отмечалась концентрационная зависимость.

Показано, что культивирование базидиомицета *Phanerochaete chrysosporium* в присутствии солей марганца стимулирует продукцию пероксидаз лигнинолитического комплекса [30]. Влияние ионов Mn^{2+} на продукцию Mn-пероксидаз идет на уровне транскрипции [31]. При анализе полученных нами данных установлена общая тенденция индукции ферментативной активности в присутствии низких концентраций марганца в среде (см. рис. 1). Высокие концентрации марганца снижали удельную активность Mn-пероксидазы *A. brasilense* SR80 на 20%, *A. baldaniorum* Sp245 – на 50% и полностью ингибировали лакказную активность азоспирилл (рис. 2, 3).

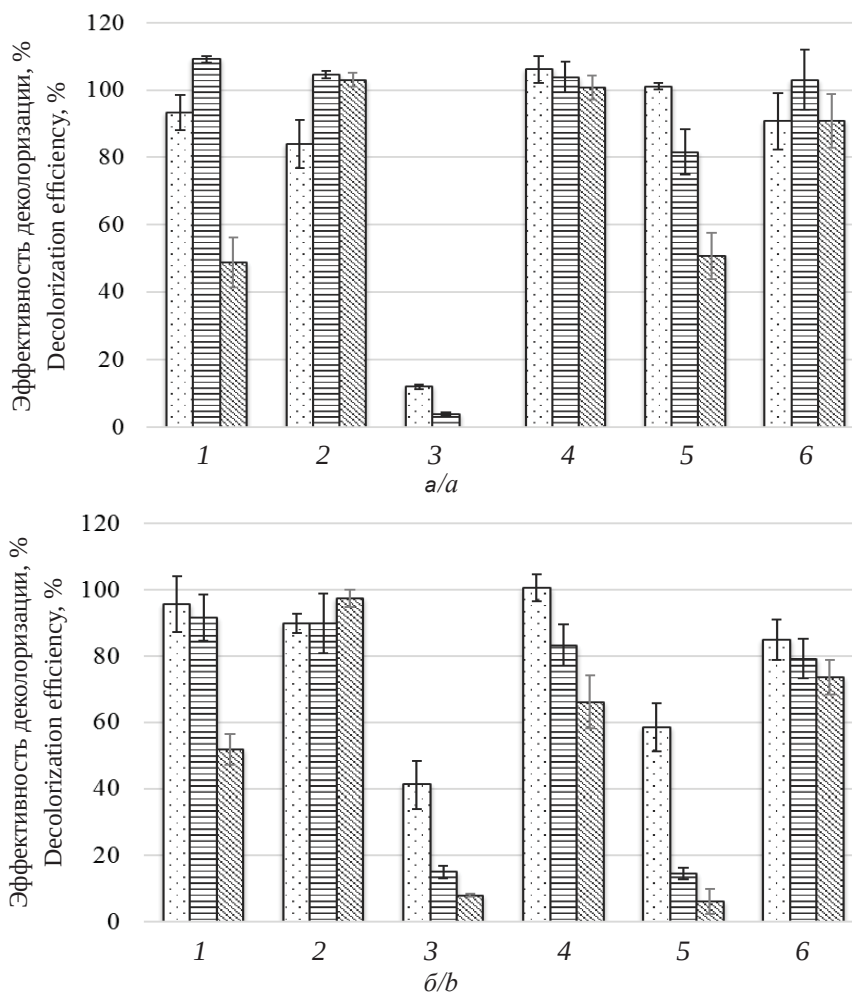


Рис. 2. Эффективность биодegradации малахитового зеленого *A. baldaniorum* Sp245 (а) и *A. brasilense* SR80 (б) в присутствии солей металлов: 1 – $MnSO_4$, 2 – $CaCl_2$, 3 – $ZnSO_4$, 4 – $MgSO_4$, 5 – $CuSO_4$, 6 – $NaCl$ в концентрации 1 мМ (▤), 5 мМ (▥) и 10 мМ (▧)
 Fig. 2. Efficiency of biodegradation of malachite green *A. baldaniorum* Sp245 (a) and *A. brasilense* SR80 (b) in the presence of metal salts: 1 – $MnSO_4$, 2 – $CaCl_2$, 3 – $ZnSO_4$, 4 – $MgSO_4$, 5 – $CuSO_4$, 6 – $NaCl$ в концентрации 1 мМ (▤), 5 мМ (▥) и 10 мМ (▧)

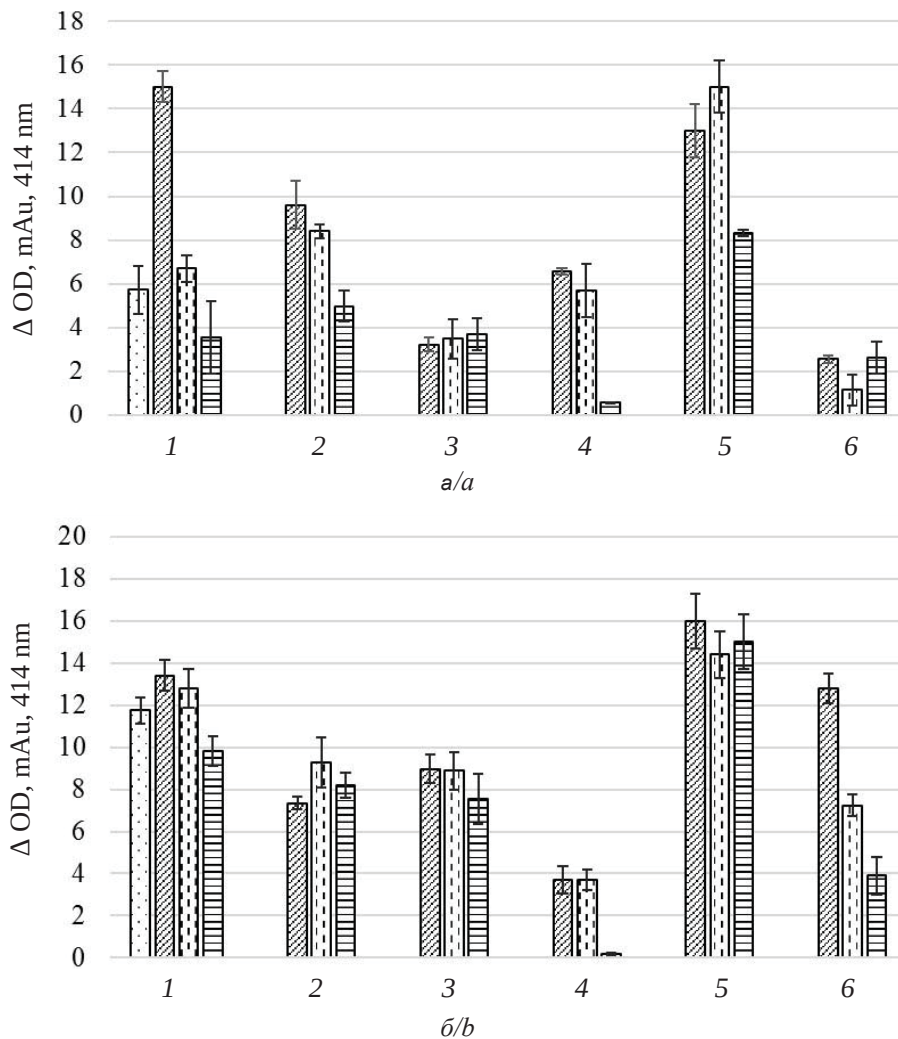


Рис. 3. Дегградация модельного препарата лигнина *A. baldaniorum* (а) и *A. brasiliense* SR80 (б) в присутствии солей металлов: 1 – $MnSO_4$, 2 – $CaCl_2$, 3 – $ZnSO_4$, 4 – $MgSO_4$, 5 – $CuSO_4$, 6 – $NaCl$ в концентрации 1 мМ (▨), 5 мМ (▧) и 10 мМ (▩), контроль (▤)
Fig. 3. Degradation of the model preparation of lignin by *A. baldaniorum* Sp245 (a) and *A. brasiliense* SR80 (b) in the presence of metal salts: 1 – $MnSO_4$, 2 – $CaCl_2$, 3 – $ZnSO_4$, 4 – $MgSO_4$, 5 – $CuSO_4$, 6 – $NaCl$, 1 мМ (▨), 5 мМ (▧) и 10 мМ (▩), control (▤)

Внесение ионов магния в культуральную среду снижало фенолоксидазную активность взятых в эксперимент штаммов, исключением является стимуляция продукции лакказы и Мп-пероксидазы штаммом *A. baldaniorum* Sp245 при выращивании бактерий в присутствии 1 мМ $MgSO_4$. Стоит отметить, что для *Pseudomonas aeruginosa* также показано снижение активности лакказ, лигнин- и Мп-пероксидаз при внесении сульфата магния в среду культивирования [12].

Далее мы проанализировали влияние ионов металлов на способность азоспирилл к деколоризации малахитового зеленого и разложению лигнина Классона. Оценку влияния ионов металлов на лигнинолитическую активность

азоспирилл проводили с помощью детекции изменения оптической плотности раствора, происходящего вследствие образования окрашенных продуктов при деструкции молекулы лигнина. В работе использован лигнин Классона, характеризующийся повышенным содержанием метоксильных групп и мономерных, димерных и олигомерных производных фенолов.

Выращивание бактерий в присутствии $NaCl$ во всем диапазоне исследуемых концентраций не оказывало существенного влияния на процесс обесцвечивания красителя как штаммом *A. baldaniorum* Sp245, так и *A. brasiliense* SR80 (см. рис. 3), однако ингибировало лигниндеградацию. Ионы Mn^{2+} снижали эффективность



биodeградации малахитового зеленого бактериями на 50% только при высоких концентрациях. По-разному влияло присутствие ионов Mg^{2+} на способность исследуемых штаммов к обесцвечиванию малахитового зеленого, для *A. baldaniorum* Sp245 отмечалась стимуляция биодеколонизации на 10%, а для штамма *A. brasilense* SR80 – снижение эффективности обесцвечивания красителя на 18–36%. При этом высокие концентрации магния снижали также и лигнинолитическую активность взятых в эксперимент штаммов.

Присутствие ионов Cu^{2+} в среде культивирование резко снижало обесцвечивание среды штаммом *A. brasilense* SR80. В то время как для *A. baldaniorum* Sp245 деколонизация ингибировалась только высокими концентрациями сульфата меди. Полученные нами данные согласуются с рядом работ, в которых показано, что внесение $CuSO_4$ в среду культивирования бактерий снижает процесс биоредукции синтетических красителей [32–34]. Известно, что при внесении 0,1 мМ $CuSO_4$ степень деградации синтетических красителей представителями *Halomonas sp.* снижается до 17,5%, а при 0,5 мМ – ингибируется полностью [12], в то время как в нашей работе эффективность биодеградации красителя штаммом *A. baldaniorum* Sp245 снижалась при внесении 10 мМ $CuSO_4$, а при использовании более низких концентраций наблюдалась стимуляция эффективности обесцвечивания. Отмечено, что присутствие в среде культивирования $CuSO_4$ повышало эффективность окисления нитрированного лигнина (см. рис. 3), что коррелирует с увеличением уровня лакказной и лигнин-пероксидазной активности (см. рис. 1).

Присутствие солей цинка в среде выращивания даже в концентрации 1 мМ оказывало резкий ингибирующий эффект на способность азоспирилл к обесцвечиванию малахитового зеленого, эффективность биодеградации снижалась более чем в 8 раз (см. рис. 2). Лигнинолитическая активность взятых в эксперимент штаммов снижалась под действием ионов цинка в 2 раза.

Заключение

Таким образом, в ходе проведенной экспериментальной работы выявлено влияние ионов металлов на активность ферментов фенолоксидазного комплекса азоспирилл. При сравнении полученных сведений с данными литературы выявлено, что для фенолоксидаз азоспирилл характерны ингибиторы и индукторы, аутентичные внеклеточным ферментам фенолокси-

дазных комплексов как бактерий, так и грибов. Установлены общие закономерности индукции фенолоксидазной системы азоспирилл ионами меди и ингибирования ферментативного статуса бактерий при внесении хлорид-ионов. Показано, что ионы Zn^{2+} снижают активность лакказ и Мп-пероксидаз азоспирилл, но не влияют на лигнин-пероксидазную активность, при этом отмечается угнетение эффективности биодеградации синтетических красителей и модельных препаратов лигнина. Культивирование бактерий в среде с высоким содержанием марганца приводило к ингибированию активности всех исследуемых ферментов, однако в низких концентрациях Mn^{2+} стимулировал ферментативную активность азоспирилл. Установлена индукция лакказной и лигнин-пероксидазной активности ионами меди, положительно коррелирующая со способностью азоспирилл к деградации лигнина Классона. Полученные данные косвенно свидетельствуют о разнонаправленном действии ферментов фенолоксидазного комплекса в энзимологии разложения лигнина и деградации синтетических красителей.

На сегодняшний день в различные отрасли промышленности активно внедряются биокаталитические методы и подходы, основанные на применении бактериальных ферментативных систем. В связи с этим главными тенденциями биотехнологии являются поиск новых биокатализаторов, дизайн и исследование их свойств.

Список литературы

1. Pollegioni L., Tonin F., Rosini E. Lignin-degrading enzymes // FEBS J. 2015. Vol. 282. P. 1190–1213.
2. Rao M. A., Scelza R., Acevedo F., Diez M. C., Gianfreda L. Removal of dyes from the effluent of textile and dyestuff manufacturing industry: A review of emergin techniques with reference to biological treatment // Chemosphere. 2014. Vol. 107. P. 145–162.
3. Falade A. O., Eyisia O. A. L., Mabinya L. V., Nwodo U. U., Okoh A. I. Peroxidase production and ligninolytic potentials of freshwater bacteria *Raoultella ornithinolytica* and *Ensifer adhaerens* // Biotechnol. Report. 2017. Vol. 16. P. 2–17.
4. Falade A. O., Nwodo U. U., Iweriebor B. C., Green E., Mabinya L. V., Okoh A. I. Lignin peroxidase functionalities and prospective applications // Microbiology Open. 2017. Vol. 6. P. e00394.
5. Bugg T. D. H., Ahmad M., Hardiman E. M., Rahmanpour R. Pathways for degradation of lignin in bacteria and fungi // Nat. Prod. Rep. 2011. Vol. 28. P. 1883–1896.
6. Никитина В. Е., Ветчинкина Е. П., Пономарева Е. Г., Гоголева Ю. В. Фенолоксидазная активность бактерий рода *Azospirillum* // Микробиология. 2010. Т. 79, № 3. С. 344–351.



7. Купряшина М. А., Селиванов Н. Ю., Никитина В. Е. Выделение и очистка Mn-пероксидазы *Azospirillum brasilense* Sp245 // Прикл. биохимия и микробиология. 2012. Т. 48, № 1. С.23–26.
8. Петров С. В., Купряшина М. А., Пономарева Е. Г., Воробьева С. А., Глинская Е. В., Никитина В. Е. Скрининг бактерий рода *Azospirillum* по способности к продукции внеклеточной лигнин-пероксидазы и деградации модельных соединений лигнина и азокрасителей // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 2. С. 170–176.
9. Купряшина М. А., Петров С. В., Пономарева Е. Г., Никитина В. Е. Лигнинолитическая активность бактерий родов *Azospirillum* и *Niveispirillum* // Микробиология. 2015. Т. 84, № 6. С. 691–696.
10. Baldrian P. Fungal laccases – occurrence and properties // FEMS Microbiol. Rev. 2006. Vol. 30. P. 215–242.
11. Mansur M., Suarez T., Gonzalez A. Differential gene expression in the laccase gene family from basidiomycete I-62 (CETC 20197) // Appl. Environ. Microbiol. 1998. Vol. 64, № 2. P. 771–774.
12. Soni R. K., Acharya P. B., Modi H. A. Effect of some metals on growth of *Pseudomonas aeruginosa* ARSKS20 and its decolorization ability of Reactive red 35 // Intern. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2014. Vol. 3. P. 411–419.
13. Nidadavolu S. B., Gudikandula K., Pabba S. K., Maringanti Ch. S. Decolorization of triphenyl methane dyes by *Fomitopsis feei* // Natural Science. 2013. Vol. 5. P. 30–35.
14. Joshi P. A., Mhatre K. J. Microbial efficiency to degrade carbol fuchsin and malachite green dyes // Adv. Appl. Sci. Res. 2015. Vol. 6. P. 85–88.
15. Улахович Н. А., Медянцева Э. П., Бабкина С. С., Кутырева М. П., Гатаулина А. Р. Металлы в живых организмах : учеб. пособие. Казань : Казанский университет, 2012. 102 с.
16. Sutherland G. R. J., Schick Zapanta L., Tien M., Aust S. D. Role of calcium in maintaining the heme environment of manganese peroxidase // Biochemistry. 1997. Vol. 36. P. 3654–3662.
17. Banci L., Bartalesi I., Ciofi-baffoni S., Tien M. Unfolding and pH studies on manganese peroxidase: Role of heme and calcium on secondary structure stability // Biopolymers (Biospectroscopy). 2003. Vol. 72. P. 38–47.
18. Rodriguez-Couto S., Herrera L. T. Inhibitors of Laccases: A Review // Curr. Enzyme Inhibit. 2006. Vol. 2. P. 343–352.
19. Gasser C. A., Ammann E. M., Schaffer A., Shahgaldian P., Corvini P. F. X. Production of superparamagnetic nanobiocatalysts for green chemistry applications // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2016. Vol. 100. P. 7281–7296.
20. Vrsanska M., Voberkova S., Lange V., Moulick A., Adam V., Kopel P. Induction of laccase, lignin peroxidase and manganese peroxidase activities in white-rot fungi using copper complexes // Molecules. 2016. Vol. 21. P. 1553–1568.
21. Baldrian P. Interactions of heavy metals with white-rot fungi // Enzyme Microb. Technol. 2003. Vol. 32. P. 78–91.
22. Giardina P., Faraco V., Pezzella C., Piscitelli A., Vanhulle S., Sannia G. Laccases: A never-ending story // Cell. Mol. Life Sci. 2009. Vol. 67. P. 369–385.
23. Sadhasivam S., Savitha S., Swaminathan K., Lin F. H. Production, purification and characterization of mid-redox potential laccase from a newly isolated *Trichoderma harzianum* W11 // Process Biochem. 2008. Vol. 43. P. 736–742.
24. Shah V., Dobiasova P., Baldrian P., Nerud F., Kumar A., Seal S. Influence of iron and copper nanoparticle powder on the production of lignocellulose degrading enzymes in the fungus *Trametes versicolor* // J. Hazard. Mater. 2010. Vol. 178. P. 1141–1145.
25. Plackova M., Svobodova K., Cajthaml T. Laccase activity profiling and gene expression in PCB-degrading cultures of *Trametes versicolor* // Intern. Biodeterior. Biodegrad. 2012. Vol. 71. P. 22–28.
26. Baldrian P., Gabriel J. Copper and cadmium increase laccase activity in *Pleurotus ostreatus* // FEMS Microbiol. Lett. 2002. Vol. 206. P. 69–74.
27. Galhaup C., Wagner H., Hinterstoisser B., Haltrich D. Increased production of laccase by the wood-degrading basidiomycete *Trametes pubescens* // Enzyme Microb. Technol. 2002. Vol. 30. P. 529–536.
28. Kostadinova N., Krumova E., Boteva R., Abrashev R., Miteva-Staleva J., Spassova B., Angelova M. Effect of copper ions on the ligninolytic enzyme complex and the antioxidant enzyme activity in the white-rot fungus *Trametes trogii* 46 // Plant Biosystems. 2018. Vol. 152. P. 1128–1133. <https://doi.org/10.1080/11263504.2017.1418450>
29. Asgher M. Characterization of a novel manganese peroxidase purified from solid state culture of *Trametes versicolor* IBL-04 // Bioresources. 2011. Vol. 6. P. 4317–4330.
30. Reddy C. A., D'Souza T. M. Physiology and peroxidases of molecular biology of the lignin *Phanerochaete chrysosporium* // FEMS Microbiol. Rev. 1994. Vol. 13. P. 137–152.
31. Li D., Alic M., Brown J. A., Gold M. H. Regulation of manganese peroxidase gene transcription by hydrogen peroxide, chemical stress, and molecular oxygen // Appl. Environ. Microbiol. 1995. Vol. 61. P. 341–345.
32. Gopinath K. P., Kathiravan M. N., Srinivasan R., Sankaranarayanan S. Evaluation and elimination of inhibitory effects of salts and heavy metal ions on biodegradation of Congo red by *Pseudomonas* sp. // Mutant. Bioresource Technology. 2011. Vol. 102. P. 3687–3693.
33. Kurade M. B., Waghmode T. B., Govindwar S. P. Preferential biodegradation of structurally dissimilar dyes from a mixture by *Brevibacillus laterosporus* // Journal of Hazardous Materials. 2011. Vol. 192. P. 1746–1755.
34. Telke A. A., Kalyani D. C., Dawkar V. V., Govindwar S. P. Influence of organic and inorganic compounds on oxidoreductive decolorization of sulphurated azo dye C. I. Reactive Orange 16 // Journal of Hazardous Materials. 2009. Vol. 172. P. 298–309.



References

- Pollegioni L., Tonin F., Rosini E. Lignin-degrading enzymes. *FEBS J.*, 2015, vol. 282, pp. 1190–1213.
- Rao M. A., Scelza R., Acevedo F., Diez M. C., Gianfreda L. Removal of dyes from the effluent of textile and dyestuff manufacturing industry: A review of emergin techniques with reference to biological treatment. *Chemosphere*, 2014, vol. 107, pp. 145–162.
- Falade A. O., Eyisia O. A. L., Mabinya L. V., Nwodo U. U., Okoh A. I. Peroxidase production and ligninolytic potentials of freshwater bacteria *Raoultellaornithinolytica* and *Ensiferadhaerens*. *Biotechnol. Report*, 2017, vol. 16, pp. 2–17.
- Falade A. O., Nwodo U. U., Iweriebor B. C., Green E., Mabinya L. V., Okoh A. I. Lignin peroxidase functionalities and prospective applications. *Microbiology Open*, 2017, pp. 6:e00394.
- Bugg T. D. H., Ahmad M., Hardiman E. M., Rahmanpour R. Pathways for degradation of lignin in bacteria and fungi. *Nat. Prod. Rep.*, 2011, vol. 28, pp. 1883–1896.
- Nikitina V. E., Vetchinkina E. P., Ponomareva E. G., Gogoleva Yu. V. Phenol oxidase activity in bacteria of the genus *Azospirillum*. *Microbiology*, 2010, vol. 79, no. 3, pp. 327–333 (in Russian).
- Kupryashina M. A., Selivanov N. Yu., Nikitina V. E. Isolation and purification of Mn-peroxidase from *Azospirillum brasilense* Sp245. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2012, vol. 48, pp. 17–20 (in Russian).
- Petrov S. V., Kupriashina M. A., Ponomareva E. G., Vorobieva S. A., Glinskaya E. V., Nikitina V. E. Screening of genus *Azospirillum* for their ability to produce extracellular lignin-peroxidase and the degradation of model lignin compounds and azo dyes. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 2, pp. 170–176 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-2-170-176>
- Kupryashina M. A., Petrov S. V., Ponomareva E. G., Nikitina V. E. Ligninolytic activity of bacteria of the genera *Azospirillum* and *Niveispirillum*. *Microbiology*, 2015, vol. 84, no. 6, pp. 791–795 (in Russian).
- Baldrian P. Fungal laccases – occurrence and properties. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2006, vol. 30, pp. 215–242.
- Mansur M., Suarez T., Gonzalez A. Differential gene expression in the laccase gene family from basidiomycete I-62 (CETC 20197). *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, vol. 64, no. 2, pp. 771–774.
- Soni R. K., Acharya P. B., Modi H. A. Effect of some metals on growth of *Pseudomonas aeruginosa* ARSKS20 and its decolorization ability of Reactive red 35. *Intern. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 2014, vol. 3, pp. 411–419.
- Nidadavolu S. B., Gudikandula K., Pabba S. K., Maringanti Ch. S. Decolorization of triphenyl methane dyes by *Fomitopsis feei*. *Natural Science*, 2013, vol. 5, pp. 30–35.
- Joshi P. A., Mhatre K. J. Microbial efficiency to degrade carbol fuchsin and malachite green dyes. *Adv. Appl. Sci. Res.*, 2015, vol. 6, pp. 85–88.
- Ulakhovich N. A., Medyantseva E. P., Babkina S. S., Kutyreva M. P., Gataulina A. R. *Metally v zhivyykh organizmakh: ucheb. posobiye* [Metals in Living Organisms. Textbook]. Kazan, Kazan University Publ., 2012. 102 p. (in Russian).
- Sutherland G. R. J., Schick Zapanta L., Tien M., Aust S. D. Role of calcium in maintaining the heme environment of manganese peroxidase. *Biochemistry*, 1997, vol. 36, pp. 3654–3662.
- Banci L., Bartalesi I., Ciofi-baffoni S., Tien M. Unfolding and pH studies on manganese peroxidase: Role of heme and calcium on secondary structure stability. *Biopolymers (Biospectroscopy)*, 2003, vol. 72, pp. 38–47.
- Rodriguez-Couto S., Herrera L.T. Inhibitors of Laccases: A Review. *Curr. Enzyme Inhibit.*, 2006, vol. 2, pp. 343–352.
- Gasser C. A., Ammann E. M., Schaffer A., Shahgaldian P., Corvini P. F. X. Production of superparamagnetic nanobiocatalysts for green chemistry applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2016, vol. 100, pp. 7281–7296.
- Vrsanska M., Voberkova S., Lange V., Moulick A., Adam V., Kopel P. Induction of laccase, lignin peroxidase and manganese peroxidase activities in white-rot fungi using copper complexes. *Molecules*, 2016, vol. 21, pp. 1553–1568.
- Baldrian P. Interactions of heavy metals with white-rot fungi. *Enzyme Microb. Technol.*, 2003, vol. 32, pp. 78–91.
- Giardina P., Faraco V., Pezzella C., Piscitelli A., Vanhulle S., Sannia G. Laccases: A never-ending story. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2009, vol. 67, pp. 369–385.
- Sadhasivam S., Savitha S., Swaminathan K., Lin F. H. Production, purification and characterization of mid-redox potential laccase from a newly isolated *Trichoderma harzianum* W11. *Process Biochem.*, 2008, vol. 43, pp. 736–742.
- Shah V., Dobiasova P., Baldrian P., Nerud F., Kumar A., Seal S. Influence of iron and copper nanoparticle powder on the production of lignocellulose degrading enzymes in the fungus *Trametes versicolor*. *J. Hazard. Mater.*, 2010, vol. 178, pp. 1141–1145.
- Plackova M., Svobodova K., Cajthaml T. Laccase activity profiling and gene expression in PCB-degrading cultures of *Trametes versicolor*. *Intern. Biodeterior. Biodegrad.*, 2012, vol. 71, pp. 22–28.
- Baldrian P., Gabriel J. Copper and cadmium increase laccase activity in *Pleurotus ostreatus*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2002, vol. 206, pp. 69–74.
- Galhaup C., Wagner H., Hinterstoisser B., Haltrich D. Increased production of laccase by the wood-degrading basidiomycete *Trametes pubescens*. *Enzyme Microb. Technol.*, 2002, vol. 30, pp. 529–536.
- Kostadinova N., Krumova E., Boteva R., Abrashev R., Miteva-Staleva J., Spassova B., Angelova M. Effect of



- copper ions on the ligninolytic enzyme complex and the antioxidant enzyme activity in the white-rot fungus *Trametes trogii* 46. *Plant Biosystems*, 2018, vol. 152, pp. 1128–1133. <https://doi.org/10.1080/11263504.2017.1418450>
29. Asgher M. Characterization of a novel manganese peroxidase purified from solid state culture of *Trametes versicolor* IBL-04. *Bioresources*, 2011, vol. 6, pp. 4317–4330.
30. Reddy C. A., D'Souza T. M. Physiology and peroxidases of molecular biology of the lignin *Phanerochaete chrysosporium*. *FEMS Microbiol. Rev.*, 1994, vol. 13, pp. 137–152.
31. Li D., Alic M., Brown J. A., Gold M. H. Regulation of manganese peroxidase gene transcription by hydrogen peroxide, chemical stress, and molecular oxygen. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995, vol. 61, pp. 341–345.
32. Gopinath K. P., Kathiravan M. N., Srinivasan R., Sankaranarayanan S. Evaluation and elimination of inhibitory effects of salts and heavy metal ions on biodegradation of Congo red by *Pseudomonas* sp. *Mutant. Bioresource Technology*, 2011, vol. 102, pp. 3687–3693.
33. Kurade M. B., Waghmode T. B., Govindwar S. P. Preferential biodegradation of structurally dissimilar dyes from a mixture by *Brevibacillus laterosprus*. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, vol. 192, pp. 1746–1755.
34. Telke A. A., Kalyani D. C., Dawkar V. V., Govindwar S. P. Influence of organic and inorganic compounds on oxidoreductive decolorization of sulphurated azo dye C.I. Reactive Orange 16. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, vol. 172, pp. 298–309.

Поступила в редакцию 30.06.22; одобрена после рецензирования 01.06.22; принята к публикации 06.09.22
The article was submitted 30.06.22; approved after reviewing 01.06.22; accepted for publication 06.09.22