

УДК 579.2:579.6

Обзор

DOI: 10.31040/2222-8349-2023-0-4-31-43

АДАПТАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ

© С.Р. Мухаматдьярова, Е.В. Кузина, М.Г. Искужина, Т.Ю. Коршунова

Многие тяжелые металлы (ТМ) (Zn, Cu, Mn, Co и др.) принимают активное участие в важнейших процессах жизнедеятельности микроорганизмов в качестве микроэлементов. Однако в больших концентрациях они становятся токсичными, а ряд металлов (Pb, Hg, Cd и др.) высокотоксичны даже в малых концентрациях. Микроорганизмы способны противостоять токсическому воздействию ТМ благодаря наличию различных механизмов устойчивости, которые направлены на преобразование катионов в менее токсичную форму или степень окисления, что делает их менее подвижными и биодоступными. Самой первой реакцией микроорганизмов на токсическое воздействие металлов является изменение морфологии клеток, их агломерация, что приводит к снижению доступности мест связывания токсичных металлов. Механизмы, используемые бактериями, можно разделить на биохимические и молекулярные. Бактериальные клетки обладают способностью сорбировать катионы металлов с помощью металл-связывающих функциональных групп (карбоксильных, сульфгидрильных, гидроксильных, сульфатных, фосфатных и аминок групп) клеточной оболочки, препятствуя их проникновению в клетку. Микроорганизмы обладают разнообразными системами эффлюкса для осуществления оттока ТМ из клеток с помощью белков-переносчиков, принадлежащих к различным семействам, которые поддерживают низкую концентрацию ТМ внутри клетки, защищая клеточные компоненты. Во внеклеточной детоксикации участвуют полисахариды, биосурфактанты, неорганические анионы (фосфат-, карбонат- и сульфид-ионы) и другие продукты метаболизма микроорганизмов, а при внутриклеточной секвестрации – глутатион, металлсвязывающие белки, внутриклеточные гранулы полифосфатов, которые связывают катионы ТМ в малорастворимые соединения. Восстановление ионов ТМ с помощью ферментов приводит к образованию их менее токсичных форм. Гены, ответственные за устойчивость бактерий к токсичным металлам, локализованы на хромосомах или плазидах и могут передаваться близкородственным видам бактерий, что играет важную роль в распространении устойчивости к ТМ в природе. Микроорганизмы демонстрируют и непрямые механизмы толерантности к ТМ, направленные на поддержание целостности клеток путем защиты их от окислительного стресса.

Ключевые слова: тяжелые металлы, токсичность, бактерии, устойчивость, детоксикация, поглощение, связывание, механизмы.

Введение. ТМ представляют собою большую группу элементов (более 40) с металлическими свойствами, в которую входят переходные металлы, металлоиды, лантаниды и актиноиды [1]. Как правило, их атомный вес составляет свыше 50 единиц, а плотность – более 5 г/см³. Катионы незаменимых металлов (кобальт, медь, железо, марганец, молибден, селен и цинк) имеют большое значение для жизнедеятельности микроорганизмов в качестве микро-

элементов. Они участвуют в окислительно-восстановительных процессах, в регуляции осмотического баланса, используются для стабилизации молекул нуклеиновых кислот и белков, являются кофакторами различных ферментов (нитрогеназы, супероксиддисмутазы, дегидрогеназы, цитохромоксидазы, уреазы и пр.) [2, 3]. Вместе с тем повышенные концентрации этих металлов, а также ТМ, не выполняющие какой-либо биологической функции, могут проявлять

МУХАМАТДЬЯРОВА Светлана Ринатовна – к.б.н., Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН,
e-mail: svetrm@gmail.com

КУЗИНА Елена Витальевна – к.б.н., Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН,
e-mail: misshalen@mail.ru

ИСКУЖИНА Миляуша Галимьяновна – к.б.н., Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН,
e-mail: ishmurzina82@mail.ru

КОРШУНОВА Татьяна Юрьевна – д.б.н., Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН,
e-mail: korshunovaty@mail.ru

по отношению к бактериям токсичность, которая зависит от многих факторов – вида микроорганизма, формы нахождения и концентрации металла, физико-химических факторов окружающей среды (рН, ионная сила, природа и концентрация катионов и анионов, а также наличия органических соединений, способных взаимодействовать с металлами и влиять на их биодоступность) [4]. Такие ТМ как Cd(II), Pb(II), Sn(II), Hg(II) и Ag(I) взаимодействуют с основными клеточными компонентами и могут вытеснять жизненно важные металлы из их естественных мест связывания, блокировать функциональные группы молекул (ферментов, полинуклеотидов) и системы импорта ионов в клетки, нарушая тем самым их функции [5]. Также ТМ могут играть роль «антиметаболитов», образуя стабильные осадки или хелатные комплексы с биологически значимыми соединениями или катализировать их распад, в результате чего они становятся недоступными для клетки [6, 7].

Совместное влияние на микроорганизмы двух и более ТМ зависит от их комбинации, конкуренции за места связывания, порядка внесения в среду и прочего. Эффект взаимодействия может выражаться в синергизме и антагонизме и часто является экстремальным [8]. В отличие от других загрязнителей окружающей среды, ТМ не подвергаются биологическому разложению и бактерии способны выживать в их присутствии только благодаря наличию определенных механизмов устойчивости [9], которые позволяют им хотя бы частично нивелировать токсическое действие этих ксенобиотиков [10, 11].

Изменение морфологии клеток. Наиболее общая и ранняя стратегия, с помощью которой бактерии приспосабливаются к различным стрессовым условиям, включая воздействие ТМ, – это изменение морфологии клеток [12]. Внешняя трансформация может быть разнообразной, но в ней всегда участвуют пенициллин-связывающие белки (транспептидазы) – ферменты, катализирующие последние стадии образования пептидогликана клеточной стенки. Двухвалентные ТМ, структурно напоминающие катион кальция, замещают его и тем самым вызывают инактивацию транспептидаз. Разные ТМ влияют на эти белки неодинаково. Например, при наличии Cr клетки приобретают аномальную яйцевидную форму, в то время как Hg

и Cu вызывают нитевидную форму клеток [13]. Показано, что у штамма *Pseudomonas aeruginosa* 18 в присутствии Cu^{2+} размер клеток увеличивается в 1.5–2 раза, а при действии ионов Cd^{2+} и Ni^{2+} он уменьшается, и образуются длинные палочковидные цепи. С возрастанием концентрации никеля в среде культивирования клетки *Enterobacter ludwigii* 11 становятся более мелкими [12], а бактерия *Acidocella* sp. GS19h нивелирует повреждающее действие Cd, Cu, Ni и Zn за счет сокращения площади своей поверхности по отношению к объему [14].

Изменения в морфологии могут приводить к агрегации клеток для устранения токсического воздействия ТМ путем снижения доступности мест связывания металлов. Так, в среде, загрязненной Cr (VI), образовалось скопление клеток *Bacillus cereus* и их слипание, клеточная поверхность стала неровной, в то время как при отсутствии токсиканта клетки выглядели как гладкие продолговатые палочки [15, 16].

Биохимические механизмы устойчивости бактерий к ТМ. Различают пять основных механизмов биохимической устойчивости бактерий к ТМ [17]:

- 1) внеклеточные (экстрацеллюлярные) барьеры, которые препятствуют проникновению ионов металлов в клетку (клеточная стенка, плазматическая мембрана или капсула);
- 2) активный транспорт ионов металлов (эффлюкс) из цитоплазмы с помощью белков-переносчиков;
- 3) внеклеточная секвестрация – накопление ионов металлов в периплазме, наружной мембране или комплексообразование с ионами металлов с образованием нерастворимых соединений;
- 4) внутриклеточная секвестрация – накопление металлов в небiodоступных формах в цитоплазме для предотвращения их воздействия на основные клеточные компоненты;
- 5) восстановление ионов металлов, например, As(V) до As(III) с последующим выходом As(III) из клеток.

Механизмы детоксикации могут быть направлены против одного металла или группы химически родственных и различаться в зависимости от вида микроорганизма [18].

Внеклеточные барьеры: клеточная стенка, плазматическая мембрана или капсула. Клетки бактерий способны сорбировать

катионы металлов из окружающей среды за счет физического и/или химического взаимодействия путем биосорбции [19]. Под этим термином понимается совокупность всех пассивных взаимодействий ионов металлов с клеточной стенкой, к которым относятся реакции адсорбции, поверхностного комплексообразования, хелатирования и ионного обмена с функциональными группами на поверхности клетки (карбоксыльными, сульфгидрильными, сульфатными, фосфатными и аминогруппами) [20]. Эффективность биосорбции определяется свойствами клеточных оболочек (заряд, количество и ориентация металл-связывающих функциональных групп) и формами химических соединений металлов в растворе [21]. Показано, что мертвые бактериальные клетки обладают той же или даже более высокой адсорбционной способностью, чем живая биомасса [20, 22].

Компоненты клеточной стенки грамположительных бактерий (пептидогликан, тейхоевые и тейхуроновые кислоты, экзоцеллюлярные полисахариды), содержащие многочисленные сорбционные позиции, являются эффективными хелатирующими агентами в отношении многих ТМ. У грамотрицательных бактерий наружная периплазматическая мембрана избирательно пропускает катионы в периплазматическое пространство клетки, где они также связываются с пептидогликаном [23]. У дрожжей происходит прямое сорбционное взаимодействие ТМ с биомассой путем ионного обмена с карбоксыльными, фосфорильными и аминогруппами. Кроме того, в процессах комплексообразования с последующим осаждением ТМ на поверхности в виде труднорастворимых сульфидов могут участвовать липиды и сульфгидрильные (тиольные) группы [24]. Образование микроорганизмами биопленки увеличивает количество металл-связывающих групп, участвующих в биосорбции [25, 26], а чувство кворума еще больше повышает устойчивость бактерий к поллютанту.

Установлено, что свинец адсорбируется в виде одного или нескольких слоев на поверхности клетки за счет ковалентных связей или ионного взаимодействия с различными функциональными группами, входящими в состав макромолекул клеточной стенки или экзополисахаридов [27, 28, 29]. Связанные ионы замедляют дальнейшую адсорбцию из-за отталкивания, вызванного одинаковыми зарядами частиц. Кроме того, на иммобилизацию Pb на поверх-

ности клеток микроорганизмов влияют время контакта, pH окружающей среды, начальная концентрация металла и количество доступных бактериальных клеток [30]. Так, увеличение водородного показателя от 1 до 6 значительно увеличивает биосорбцию свинца штаммами *Bacillus pumilus* и *B. cereus*. Своего максимума этот процесс достигает при pH, при котором бактерии обладают наибольшим отрицательным зарядом. При более низком pH ионы H^+ конкурируют с Pb^{2+} и заряд клеточной поверхности становится положительным, что неблагоприятно для связывания металла [31]. Сообщается о способности *Enterobacter* sp. создавать щелочную среду за счет высвобождения аммиака при распаде белков и аминокислот, тем самым способствуя биосорбции свинца [32].

Активный транспорт ионов металлов (эффлюкс) из цитоплазмы с помощью белков. Металлы, не имеющие физиологического значения, обычно поступают в клетку через транспортные системы, предназначенные для необходимых катионов, но затем быстро выводятся с помощью высокоспецифичных эффлюксных насосов [33]. Благодаря этому внутри клетки поддерживается низкая концентрация ТМ, что снижает их токсичность. Поскольку эти насосы осуществляют транспорт против градиента концентрации, то для этого процесса требуется энергия АТФ или хемиосмотического градиента (энергия протон-движущей силы) [3].

В состав систем эффлюкса входят белки-переносчики, принадлежащие к 3 семействам: RND (resistance, nodulation, cell division), CDF (cation diffusion) и АТФазы Р-типа (аденозинтрифосфатазы). Эффлюксные белки семейства CDF, связанные с цитоплазматической мембраной и представляющие собой хемиосмотический ионно-протонный обменник, как правило, обеспечивают низкую устойчивость бактерий к катионам ТМ, но играют решающую роль при невысокой концентрации поллютантов в цитоплазме клеток [34]. Они переносят ионы двухвалентных металлов (Zn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} и Fe^{2+}), а АТФазы Р-типа транспортируют, в основном, ионы ТМ (Cu^+ , Ag^+ , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+}), связывающие сульфгидрильные группы. Обе эти группы выполняют функцию перемещения ТМ из цитоплазмы в периплазму и, следовательно, могут замещать друг друга. На следующем этапе транспортные комплексы, образованные RND-белками, переносят катионы из

периплазматического пространства через наружную мембрану за пределы клетки, осуществляя полную детоксикацию [35, 36].

Системы эффлюкса используются для оттока Cr(VI) из клеток с целью уменьшения его повреждающего действия [37, 38]. Так, белок ChrA, обнаруженный у *Serratia* sp. S2, может переносить ионы водорода, что приводит к трансмембранному электрохимическому градиенту протонов и вытеснению ионов хромата из клеток [39]. У *Shewanella oneidensis* MR-1 было выявлено несколько белков [VexA, VexB, VmeA и VmeB], которые эффективно удаляют хромат из клетки [40].

Внеклеточная секвестрация. Микроорганизмы способны выделять в среду в качестве продуктов метаболизма неорганические анионы (сульфид-, карбонат- или фосфат-ионы), которые связывают катионы ТМ в малорастворимые соединения. Результаты электронно-микроскопического исследования показывают, что металл-резистентные штаммы *Klebsiella aerogenes* могут осаждать Pb^{2+} , Hg^{2+} или Cd^{2+} в форме сульфидных гранул на внешней поверхности клеток [35]. Некоторые штаммы сульфат-редуцирующих бактерий толерантны к высоким концентрациям ионов металлов, например, к алюминию, свинцу, хрому, никелю, кадмию тоже благодаря способности к их преципитации в виде сульфидов. Эти соединения образуются в результате связывания сероводорода, выделяющегося в процессе анаэробного сульфатного дыхания указанных бактерий, с ионами металлов [5].

Фосфатсолубилизирующие бактерии, переводя фосфаты из нерастворимых соединений (ортофосфат кальция, β -глицеролфосфат и др.) в биодоступные с помощью фермента фосфатазы, преципитируют свинец в виде нерастворимого фосфата, который может накапливаться на поверхности клеток или вытесняется наружу в зависимости от вида бактерий [41, 42, 43]. Например, у *Enterobacter* spp. и *Halomonas* spp. этот металл осаждается на клеточной стенке [32, 44]. *Bacillus subtilis* X3 преципитирует свинец в различных формах, таких как $Pb_5(PO_4)_3OH$, $Pb_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ и $Pb_5(PO_4)_3Cl$ [45], а *Providencia alcalifaciens* 2EA образует нерастворимый коричневый осадок $Pb_9(PO_4)_6$. Некоторые фосфатмобилизирующие бактерии могут превращать растворимый нитрат свинца в нерастворимый фосфат свинца. Деятельность

аммонифицирующих бактерий приводит к образованию аммиака, который при солубилизации образует аммоний, повышающий значение pH среды, что помогает удерживать свинец на поверхности клеток за счет осаждения его катионов [46].

Биосурфактанты, такие как липополисахариды, гликолипиды, фосфолипиды и пептидолипиды также могут участвовать в секвестрации ТМ. Например, продуцирующие их бактерии *Bacillus* sp. МТСС 5514 и *B. subtilis* SHB 13 способны эффективно снижать содержание Cr(VI) [47, 48].

Большую роль во внеклеточной детоксикации играют экзополисахариды (ЭПС), анионные группы которых (OH^- , $COOH^-$, SO_3H^-) определяют способность микроорганизмов связывать ионы металлов. Так, штамм *Pseudomonas* sp. W6, выделенный из горячих источников, продуцирует ЭПС, содержащий карбонильные, фосфатные, цианидные, гидроксильные и аминогруппы, которые могут взаимодействовать с катионами свинца [49]. Изучение роли ЭПС в снижении повреждающего действия меди у цианобактерий *Anabaena spiroides*, *A. cylindrica* и *Microcystis aeruginosa* выявило, что чем больше выделяется слизи, тем полнее происходит связывание металла из раствора [50]. Установлено, что ТМ индуцируют усиление экскреции ЭПС микробными клетками, состав которых отличается от такового в отсутствие токсиканта. При инкубировании цианобактерии *Nostoc muscorum* с ионами кадмия содержание ЭПС увеличивается в несколько раз и доминирующим среди них становится азотсодержащий моносахарид глюкозамин, который легко присоединяет катионы этого металла. Кинетика накопления полисахаридов и их количество зависели от концентрации кадмия в среде [51]. Более того, система защиты *N. muscorum* от кадмия включает не только связывание металла слизистой оболочкой, но и дистанционную детоксикацию, которая осуществляется ЭПС в культуральной среде. Кадмий индуцирует активацию защитной функции слизистой капсулы путем изменения ее состава и скорости обновления [19].

Формирование биопленки – это уникальная адаптационная особенность микроорганизмов. Агрегаты бактериальных клеток, встроенные в толстый гидратированный матрикс внеклеточных полимерных веществ, являются идеальным органическим лигандом для секвестра-

ции ТМ [52]. Микробная биопленка контролирует поступление ТМ в клетку, а также влияет на их гомеостаз в клетке [53]. ЭПС являются структурной и функциональной единицей биопленки, а также помогают бактериям в процессе флокуляции, что способствует их выживанию в экстремальных условиях. Например, *Bacillus* sp. проявляет толерантность к свинцу в очень высокой концентрации 997,74 мг/л за счет образования биопленки, которая улавливает металл, тем самым защищая микроорганизмы от его токсического воздействия [25].

ЭПС являются хорошими адсорбентами ТМ. ЭПС, выделяемый бактерией *Paenibacillus jamilae*, образует комплекс, содержащий до 230 мг свинца на 1 грамм полисахарида [54], а ЭПС, экскретируемый цианобактерией *Nostoc spongiaeforme*, эффективно сорбирует цинк [1]. Так же ЭПС могут выступать как естественные восстановители [55]. Например, в анаэробных условиях *Clostridium* sp. способен изменять степень окисления ионов Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn и стабилизировать их в неактивном состоянии с помощью ЭПС клеточной стенки [19].

Экстрацеллюлярная преципитация осуществляется вне клетки также благодаря синтезу особых связывающих металлы молекул – сидерофоров. Они представляют собой низкомолекулярные вещества различной химической природы (гидроксаматы, α -гидроксикарбоксилаты, катехолы и пиовердины), которые переводят металлы (Fe, Ga, Ni, U, Th, Cu), ассоциированные с белками и водонерастворимыми соединениями, в доступную для микроорганизмов ионную форму. В условиях стресса, вызванного наличием ТМ, видовое разнообразие микробного сообщества смещается в сторону микроорганизмов, продуцирующих сидерофоры, секреция которых индуцируется присутствием металла [56, 57]. Представители таких родов как *Pannonibacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus* и *Agrobacterium* образуют сидерофоры для снижения токсичности ТМ [43, 58, 59, 60, 61].

Внутриклеточная секвестрация. Биоаккумуляция является одним из механизмов, используемых микроорганизмами для снижения токсичности ТМ за счет уменьшения концентрации доступного металла в среде. Этот процесс может происходить либо в результате активного транспорта с помощью белков-переносчиков, либо путем простой диффузии, когда ионы металла перемещаются из области

высокой концентрации в область низкой. Ионы некоторых металлов могут использовать чужие транспортные каналы. Так, хромат попадает в клетку через систему транспорта сульфата, а ионы кадмия, цинка, кобальта, никеля и марганца – через канал для ионов магния. Имеются данные, что отдельные катионы индуцируют системы транспорта, кроме того, они могут быть различными в зависимости от концентрации металла [5].

Биоаккумуляция ТМ может происходить даже после их биосорбции на поверхности бактериальной клетки путем перемещения связанного металла внутрь клетки, где он поступает в вакуоли или образует комплекс с белками в цитоплазме [62, 63]. У бактерий *Bacillus* sp. при воздействии свинца экспрессируются цитоплазматические белки, такие как белки теплового шока, металлотионеин, глутатион-S-трансфераза и убиквитин, которые участвуют в комплексообразовании свинца в цитоплазме [63]. Накопление этого ТМ в большей степени происходит у растущих бактерий по сравнению с мертвыми или споровыми формами, что указывает на участие в этом процессе активной транспортной системы [64]. Напротив, в исследовании сульфатредуцирующих бактерий *Shewanella oneidensis* сообщается, что для биоаккумуляции свинца они используют простой механизм диффузии [62]. Показано, что биоаккумуляция ТМ может происходить в сочетании с захватом с помощью биопленки [8].

На способность поглощать ионы металлов влияют различные факторы, такие как вид бактерий, фаза их роста и количество, металл и его концентрация, время контакта, pH, температура [65, 66]. Было показано, что у *Exiguobacterium profundum* более высокая степень биоаккумуляции свинца происходит в начальной фазе роста, затем бионакопление снижается с течением времени, а затем снова увеличивается [67]. Способность штаммов *B. subtilis* к накоплению этого ТМ является самой высокой среди рода *Bacillus* и обычно наблюдается на более поздних стадиях роста [68].

Как правило, способность бактерий к биоаккумуляции свинца уменьшается с увеличением его концентрации из-за насыщения мест адсорбции. Однако в исследованиях Jiang со авторами [69] сообщается о противоположной картине удаления свинца у штамма *Enterobacter* sp., у которого оно составляло 90% при 1000 мг/л и 29–15% при 100–500 мг/л. Такое

противоречие может быть связано с уникальным механизмом самопожертвования, при котором несколько мертвых клеток с неповрежденной клеточной стенкой перегружают себя свинцом, что позволяет живым активно справляться с уменьшившейся концентрацией металла [65].

При рН ниже 7 процент биоаккумуляции снижается из-за того, что ионы гидроксония занимают участки связывания, вызывая отталкивание одноименно заряженных частиц, в отличие от более высоких значений рН, когда экспонируется больше лигандов, несущих отрицательный заряд, обеспечивая пространство для биосорбции ионов металлов на поверхности клеток [70].

Известно, что температура влияет на стабильность клеточной стенки и ее конфигурацию. Температурный оптимум для микробной биосорбции зависит от иона металла [71]. Так, штамм *Stenotrophomonas* sp. MB339 наиболее эффективно накапливал хром при 37, а никель – при 30°C.

Металлотионеиновые белки (МТБ) в основном участвуют во внутриклеточной секвестрации ТМ внутри цитозоля [52]. Это металлсвязывающие белки с очень низкой молекулярной массой и значительным содержанием цистеина (до 30%), тиоловая группа которого отвечает за высокое сродство к ТМ [72]. Одна молекула МТБ содержит 20 остатков цистеина и может связываться с семью атомами свинца [73]. МТБ помогают поддерживать гомеостаз и наряду с внутриклеточной секвестрацией свинца также участвуют в его транспортировке, хранении и детоксикации [74].

Еще одна из стратегий адаптации микроорганизмов к повышенному содержанию ТМ – это внутриклеточное хелатирование с помощью полифосфатов [75]. Ионы металлов, попадая в клетку стимулируют их гидролиз, в результате чего образуются нерастворимые комплексы металл-фосфат, которые транспортируются из клетки и осаждаются на поверхности клеточной стенки бактерий, например, таких как *Synechocystis aquatilis* [76].

Значительно реже встречаются внутриклеточные структурированные отложения металлов в клетках. Бактерии, выросшие на средах, содержащих соединения Cr(VI) и Co (II) образуют в цитоплазме специфические включения, придающие клеткам способность к пассивному перемещению к ближайшим естест-

венным магнитам – вглубь водоемов, в более богатые субстратами нижние слои. Аккумуляция в клетках бактерий родов *Pseudomonas*, *Brevibacterium*, *Rhodopseudomonas* и *Lactococcus* Co- или Cr-содержащих магнитных включений является также способом защиты от токсического воздействия высоких концентраций растворенных металлов и кислорода, выступая в качестве своеобразного буфера в процессах окисления [77].

Установлена роль глутатиона в связывании ТМ в клетках цианобактерий и микроводорослей. Благодаря наличию тиоловых групп он реагирует с металлами с образованием меркаптидных связей [78].

Восстановление ионов металлов. Микроорганизмы могут осуществлять эффективную детоксикацию путем восстановления с помощью ферментов широкого спектра металлов и металлоидов (Mn(IV), Fe(III), Co(III), AsO₄), окисленные формы которых используются как акцепторы электронов [79]. При этом в основном образуются малоподвижные осадки (оксиды, гидроксиды и др.). В качестве примеров можно привести превращение Cr(VI) в Cr(III) бактериями родов *Bacillus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mangrovibacter yixingensis* [80, 81, 82], Fe(III) в Fe(II) с помощью *Geobacter* sp. и *Bacillus thermoamylovorans* [83, 79].

В процессе восстановления Cr(VI), поглощенного клетками бактерий, может возникнуть нестабильное промежуточное соединение Cr(V), что приводит к образованию свободных радикалов. Но если Cr(VI) восстановлен непосредственно до Cr(III), повреждение клеток этими частицами может быть сведено к минимуму [38]. При этом внутриклеточное восстановление Cr(VI) до Cr(III) может вызвать окислительный стресс, а также повреждение белков и ДНК. Поскольку трехвалентный хром с трудом проникает в клетку, а образовавшийся комплекс почти нерастворим в кислом растворе, то внеклеточное биовосстановление Cr(VI) является более желательным механизмом детоксикации Cr(VI) [79], а продукты реакции могут быть удалены функциональными группами, присутствующими на клеточной поверхности [84].

Молекулярные механизмы устойчивости микроорганизмов к ТМ. Генетические детерминанты устойчивости к ТМ могут быть локализованы либо на хромосомах, либо на

внехромосомных генетических элементах [85]. Горизонтальный перенос генов из клетки в клетку играет важную роль в распространении устойчивости к ТМ в природе в ответ на селективное давление в загрязненной среде [79]. Гены, отвечающие за метаболизм незаменимых металлов, как правило, расположены на хромосомах, а гены резистентности к токсичным ТМ имеют плазмидную природу и экспрессируются в их присутствии [35]. Устойчивость к ионам ТМ в некоторых случаях связана с устойчивостью к антибиотикам, что объясняют размещением генов, ответственных за эти свойства, на одном генетическом элементе (плазмиде или транспозоне) [1].

К генам толерантности к металлам относится обнаруженный у многих видов микроорганизмов ген *bmtA*, кодирующий белок металлотионеин (уже упоминался выше). Например, бактерия *Pseudomonas aeruginosa* N6P6, обладающая этим геном, проявляет устойчивость к Pb, Cd, Hg, Cr и Zn. У *Mycobacterium tuberculosis* экспрессия *bmtA* увеличивалась с возрастанием концентрации Cu, Hg, Cd, As [86]. Было показано, что ртуть индуцирует экспрессию гена гораздо сильнее, чем свинец [52].

Бактерии обладают различными типами молекулярных механизмов для борьбы с токсичностью свинца. У штамма *Cupriavidus metallidurans* CH34 выявлена плаزمида, имеющая кластер генов устойчивости к свинцу *pbrTRABCD*. Гены *pbrT* и *pbrD* кодируют трансмембранные и внутриклеточные белки, которые отвечают за поглощение, связывание и восстановление свинца, снижая таким образом его токсичность [87]. *pbrA* и *pbrB* совместно участвуют в обезвреживании этого металла путем осаждения и дальнейшей иммобилизации на клеточной поверхности, предотвращая его повторное попадание в клетки. Такие бактерии можно применять на сельскохозяйственных полях, чтобы избежать накопления свинца в растениях, поскольку в осажденном виде он недоступен для поглощения растениями [88]. Кластер генов *pbrTRABCD* обеспечивает устойчивость и к другим ТМ, таким как кадмий и цинк [33]. Штамм *Achromobacter xylosoxidans* A8 обладает опероном *pbtTRABC*, который имеет функцию, аналогичную *pbrTRABCD* [89].

У *Enterococcus hirae* толерантность к меди определяется двумя генами, *copA* и *copB*, которые соответственно определяют поглощение и отток с помощью АТФаз Р-типа Плазмидная

резистентность к Cu^{2+} была описана у штаммов родов *Pseudomonas*, *Xanthomonas* и *Escherichia*. Хромосомные гены также влияют на транспорт и устойчивость к иону меди, определяя такие функции, как ее поглощение, отток и внутриклеточное связывание [18].

Бактерии разных систематических групп развили множественные генетические системы устойчивости к мышьяку, которые включают оперон *ars* [90]. Входящий в его состав ген *arsR* кодирует репрессор транскрипции, чувствительный к As(III), *arsA* и *arsB* образуют АТФазный насос, в котором *arsA* действует как АТФаза, а *arsB* является переносчиком оксианионов арсенита через мембрану, *arsC* кодирует арсенатредуктазу, которая восстанавливает арсенат до арсенита, *arsD* переносит As(III) к белку ArsA и увеличивает скорость оттока мышьяка из клетки, *arsM* кодирует арсенит-S-аденозилметионинметилтрансферазу, которая превращает As(III) в метилированные соединения мышьяка. Некоторые микроорганизмы могут продуцировать лиазу ArsI C-As, отщепляющую метильную группу с последующим образованием неорганического As(III), который менее токсичен, чем метилированный As(III). У других бактерий есть NADPH-флавинонуклеотидоксидоредуктаза, кодируемая геном *arsH*. Она окисляет метилированные соединения As(III) до относительно нетоксичных пятивалентных [91].

Способ удаления ртути посредством ее испарения основан на экспрессии оперона *mer*, который управляет транспортом и восстановлением Hg^{2+} . Он состоит из генов, кодирующих функциональные белки регуляции (*merR*, *merD*), транспорта ионов ртути в цитоплазму (*merC*, *merE*, *merF*, *merG*, *merT*), где они восстанавливаются с помощью фермента редуктазы, кодируемой *merA*, до Hg^0 . Последняя является летучей, менее реакционной и не столь токсичной формой ртути [20].

Метилирующие Hg^{2+} анаэробы (сульфатредуцирующие, железоредуцирующие и метанотрофные бактерии [92]) содержат оперон *hgcAB*. Входящие в его состав гены кодируют белки, отвечающие за перенос метиловых групп к Hg^{2+} . Метилированная ртуть, обладающая липофильными свойствами, легко высвобождается из клеток [21, 93, 94].

Опосредованная плазмидами резистентность к Cr^{6+} была зарегистрирована у бактерий родов *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Salmonella*,

Escherichia, *Shewanella*. Считается, что устойчивость к Cr^{6+} связана с переносчиками хромат-ионов, которые кодируются генами *chrA*. В дополнение к плазмидному гену *chrA₁* в хромосоме *Cupriavidus* spp. обнаружен ген *chrA₂*, который также отвечает за устойчивость к Cr^{6+} . У штамма *Ochrobactrum tritici* 5bv11 гены устойчивости к Cr^{6+} *chrB*, *chrA*, *chrC* и *chrF* локализованы на транспозоне (*TnOtChr*) [79, 95].

Управление окислительным стрессом, вызванным присутствием в клетках бактерий ТМ. Избыток ТМ служит детонатором развития окислительного стресса в клетках микроорганизмов [96, 97], при котором происходит образование активных форм кислорода (АФК) [78]. Бактерии реагируют на него, вырабатывая различные антиоксидантные ферменты, нейтрализующие свободные радикалы. Сообщается, что у *Exiguobacterium profundum* при воздействии свинца усиливается синтез таких ферментов, как супероксиддисмутаза и каталаза [67], а у устойчивой к свинцу бактерии *Pennisetum purpureum* увеличивается активность пероксидазы, аскорбат-пероксидазы, супероксиддисмутаза и каталазы в присутствии этого металла [98]. В среде с высокой концентрацией хрома у *Spingomonas* sp. LK11, происходит активация генов, кодирующих такие ферменты-антиоксиданты как каталаза, пероксидаза и супероксиддисмутаза, которые участвуют в нейтрализации АФК [99]. Кроме того, пероксидазы могут катализировать разложение перекиси водорода [100].

Микроорганизмы также обладают определенным набором неферментных низкомолекулярных антиоксидантов (аскорбиновая кислота, глутатион, токоферолы, каротиноиды, флавоноиды и др.), обеспечивающих выживание в условиях окислительного стресса, вызванного ТМ. Например, глутатион является главным источником тиоловых групп в большинстве клеток и реагирует с металлами с образованием меркаптидных связей, а также принимает участие в детоксикации H_2O_2 , превращаясь в окисленный глутатион. Установлено, что в присутствии хрома его концентрация в клетках *Spingomonas* sp. LK11 значительно возрастает. Аскорбат вовлечен в аскорбат-глутатионовый цикл, в котором две его молекулы используются аскорбат-пероксидазой для восстановления H_2O_2 до воды с образованием монодегидроаскорбата. Этот цикл играет ведущую роль в де-

токсикации АФК у растений и цианобактерий [101]. Бактерии рода *Leucobacter*, обладающие высокой устойчивостью к хрому, могут повышать стабильность мембраны за счет синтезируемого каротиноида, нейтрализующего возбужденные электроны и снижающего концентрацию АФК, образовавшихся в результате воздействия хрома [102].

Заключение. Несмотря на то, что некоторые ТМ необходимы для нормального функционирования клеток, их повышенная концентрация, а также действие металлов, не выполняющих биологической функции, оказывают негативный эффект на живые объекты. На сегодняшний день выделено и идентифицировано большое количество бактерий, способных выживать в присутствии ТМ путем выработки различных адаптивных механизмов. Самой первой реакцией микроорганизмов на токсическое воздействие металлов является изменение морфологии клеток. Дальнейшая стратегия направлена на снижение концентрации ТМ с помощью адсорбции ионов на поверхности клеток, их оттока из цитоплазмы путем активного транспорта, внутри- и внеклеточной секвестрации и превращения в менее токсичные формы. Микроорганизмы демонстрируют и непрямые механизмы толерантности к ТМ, направленные на поддержание целостности клеток путем защиты их от окислительного стресса. Микробиологические преобразования ТМ представляют собой реакции окисления, восстановления, метилирования и деметилирования. Многочисленные гены, локализованные на хромосомах и внехромосомных генетических элементах, кодируют бактериальную устойчивость к присутствию ТМ, однако полностью молекулярные основы этого процесса еще не выяснены.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Минобрнауки России по теме № 122031100163-4.

Литература

1. Singh R., Gautam N., Mishra A., Gupta R. Heavy metals and living systems: an overview // *Indian J. Pharmacol.* 2011. V. 43 (3). P. 246–253. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.81505>
2. Igiri B., Okoduwa S., Idoko G., et al. Toxicity and bioremediation of heavy metals contaminated ecosystem from tannery wastewater: a review // *Hindawi J. Toxicol.* 2018. V. 9. P. 1–16. <https://doi.org/10.1155/2018/2568038>

3. Margaryan A., Panosyan H., Birkeland N. Heavy Metal Resistance in Prokaryotes: Mechanism and Application // *Microbial Communities and their Interactions in the Extreme Environment, Microorganisms for Sustainability*. 2021. V. 32. P. 273–313. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3731-5_13
4. Блайда И.А., Васильева Т.В., Слюсаренко Л.И., Васильева Л.Ю. Устойчивость к тяжелым металлам ацидофильных хемолитотрофных бактерий, выделенных из техногенного сырья // *Микробиология и биотехнология*. 2019. Т. 1. С 24–35.
5. Ананина Е.А. Изучение физиологии сульфатредуцирующих бактерий, устойчивых к тяжелым металлам: магистерская диссертация по направлению подготовки: 06.04. 01-Биология. 2018.
6. Ahemad M. Implications of bacterial resistance against heavy metals in bioremediation: a Review // *IOABJ*. 2012. V. 3(3). P. 39–46.
7. Masood F., Malik A. Current Aspects of Metal Resistant Bacteria in Bioremediation: From Genes to Ecosystem // *Management of Microbial Resources in the Environment*. 2013. V. 11. P. 289–311. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5931-2_11
8. Sevak P.I., Pushkar B.K., Kapadne P.N. Lead pollution and bacterial bioremediation: a review. // *Environmental Chemistry Letters*. 2021. V. 19(6). P. 4463–4488.
9. Ma Y., Oliveira R.S., Freitas H., Zhang C. Biochemical and molecular mechanisms of plant-microbe-metal interactions: relevance for phytoremediation // *Front. Plant Scienco*. 2016. V. 7, P. 1–19. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00918>
10. Garbisu C., Garaiyurrebaso O., Epelde L., Grohmann E., Alkorta I. Plasmidmediated bioaugmentation for the bioremediation of contaminated soils // *Front. Microbiol*. 2017. V. 8. P. 1–13.
11. Nanda M., Kumar V., Sharma D.K. Multimetal tolerance mechanisms in bacteria: The resistance strategies acquired by bacteria that can be exploited to 'clean-up' heavy metal contaminants from water // *Aquatic toxicology*. 2019. V. 212. P. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.04.011>
12. Усмонкулова А.А.К., Кадырова Г.Х., Садуллаева М.С.К., Нармухамедова М.К.К., Кадырова А.Ф., Шонахунов Т.Э. Морфологические и биохимические особенности бактерий при стрессе тяжелых металлов // *Universum: химия и биология*. 2022. № 12-1(102). С. 31–37.
13. Mohite B.V., Koli S.H., Patil S.V. Heavy metal stress and its consequences on exopolysaccharide (EPS)-producing *Pantoea agglomerans* // *Applied biochemistry and biotechnology*. 2018. V. 186. P. 199–216 <https://doi.org/10.1007/s12010-018-2727-1>
14. Chakravarty R., Manna S., Ghosh A.K., Banerjee P.C. Morphological changes in an *Acidocella* strain in response to heavy metal stress // *Res. J. Microbiol*. 2007. V. 2. P. 742–748.
15. Jacob J.M., Karthik C., Saratale R.G., Kumar S.S., Prabakar D., Kadirvelu K., Pugazhendhi A. Biological approaches to tackle heavy metal pollution: a survey of literature // *Environ Manag*. 2018. V. 217. P. 56–70.
16. Mahmoud G.A.E. Microbial scavenging of heavy metals using bioremediation strategies // *Rhizobiont in bioremediation of hazardous waste*. 2021. P. 265–289.
17. Rigoletto M., Calza P., Gaggero E., Malandrino M., Fabbri D. Bioremediation Methods for the Recovery of Lead-Contaminated Soils: A Review // *Appl. Sci*. 2020. V. 10. P. 3528. <https://doi.org/10.3390/app10103528>
18. Masood F., Malik A. Current aspects of metal resistant bacteria in bioremediation: from genes to ecosystem // *Management of microbial resources in the environment*. 2013. P. 289–311.
19. Фокина А.И., Домрачева Л.И., Широких И.Г., Кондакова, Л.В., Огородникова С.Ю. Микробная детоксикация тяжелых металлов (обзор) // *Теоретическая и прикладная экология*. 2008. № 1. С. 4–10.
20. Fashola M.O., Ngole-Jeme V.M., Babalola O.O. Heavy metal pollution from gold mines: environmental effects and bacterial strategies for resistance // *International journal of environmental research and public health*. 2016. V. 13(11). P. 1047. <https://doi.org/10.3390/ijerph13111047>
21. Переломов Л.В., Сизова О.И., Третьякова А.В., Переломова И.В., Атрощенко Ю.М. Биосорбция тяжелых металлов живыми и разрушенными бактериальными клетками // *Modern Science*. 2022. № 6-1. С. 58–61.
22. Cai Y., Li X., Liu D. A novel Pb-resistant *Bacillus subtilis* bacterium isolate for co-biosorption of hazardous Sb(III) and Pb(II): thermodynamics and application strategy // *Environ Res Public Health*. 2018. V. 15(4). P. 702–719. <https://doi.org/10.3390/ijerph15040702>
23. Belzile N., Chen Y.W., Cai M.F., Li Y. A review on pyrrhotite oxidation // *J. Geochem. Explor*. 2004. V. 84. P. 65–76.
24. Nematshahi N., Lahouti M., Ganjeali A. Accumulation of chromium and its effect on growth of // *Eur. J. Exp. Biol*. 2012. V. 2. P. 969–974.
25. Pepi M., Borra M., Tamburrino S., Saggiomo M., Viol A., Biffali E., Balestra C., Sprovieri M., Casotti R. A *Bacillus* sp. Isolated from sediments of the Sarno River mouth, Gulf of Naples (Italy) produces a biofilm biosorbing Pb (II) // *Sci Total Environ J*. 2016. V. 562. P. 588–595. <https://doi.org/10.1016/j.scito.2016.04.097>
26. Kumari S., Das S. Expression of metallothionein encoding gene *bmtA* in biofilm-forming marine bacterium *pseudomonas aeruginosa* N6P6 and understanding its involvement in Pb(II) resistance and bioremediation // *Environ Sci Pollut Res*. 2019. V. 26(28). P. 28763–28774. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05916-2>
27. Jin Y., Wang X., Zang T., Hu Y., Hu X., Ren G., Xu X., Qu J. Biosorption of Lead(II) by *Arthrobacter* sp. 25: process optimization and mecha-

- nism // J Microbiol Biotechnol. 2016. V. 26(8). P. 1428–1438. <https://doi.org/10.4014/jmb.1603.03074>
28. Mathew B.B., Krishnamurthy N.B. Screening and identification of bacteria isolated from industrial area groundwater to study lead sorption: kinetics and statistical optimization of biosorption parameters // Groundw Sustain Dev. 2018. V. 7. P. 313–327. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2018.07.007>
29. Pugazhendhi A., Boovaragamoorthy G.M., Ranganathan K., Naushad M., Kaliannan T. New insight into effective biosorption of lead from aqueous solution using *Ralstonia solanacearum*: characterization and mechanism studies // J. Clean Prod. 2018. V. 174. P. 1234–1239. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.11.061>
30. Dai Q.H., Bian X.Y., Li R., Jiang C.B., Ge J.M., Li B.L., Ou J. Biosorption of lead (II) from aqueous solution by lactic acid bacteria // Water Sci Technol. 2019. V. 79(4). P. 627–634. <https://doi.org/10.2166/wst.2019.082>
31. Colak F., Atar N., Yazicioğlu D., Olgun A. Biosorption of lead from aqueous solutions by *Bacillus* strains possessing heavy metal resistance // Chem Eng J. 2011. V. 173(2). P. 422–428. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.07.084>
32. Jiang Z., Jiang L., Zhang L., Su M., Tian D., Wang T., Sun Y., Nong Y., Hu S., Wang S., Li Z. Contrasting the Pb (II) and Cd (II) tolerance of *Enterobacter* sp. via its cellular stress responses // Environ Microbiol. 2019. V. 22. P. 1507–1516. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14719>
33. Hynninen A. Zinc, cadmium and lead resistance mechanisms in bacteria and their contribution to biosensing // Academic Dissertation in Microbiology, University of Helsinki. 2010. pp 1–52.
34. Rehan M., Alsohim S. A. Bioremediation of heavy metals // In: Environmental chemistry and recent pollution control approaches. IntechOpen. 2019. V. 8. P. 145. <https://doi.org/10.5772/intechopen.88339>
35. Пищик В.Н., Воробьев Н.И., Проворов Н.А., Хомяков Ю.В. Механизмы адаптации растений и микроорганизмов в растительно-микробных системах к тяжелым металлам // Микробиология. 2016. Т. 85(3). С. 231–247.
36. Sharma B., Shukla P. Lead bioaccumulation mediated by *Bacillus cereus* BPS-9 from an industrial waste contaminated site encoding heavy metal resistant genes and their transporters // J. Hazard Mater. 2021. V. 401. P. 123–285. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123285>
37. Baaziz H., Gambar C., Boyeldieu A., Ali Chaouche A., Alatou R., Mejean V., Fons M. ChrASO, the chromate efflux pump of *Shewanella oneidensis*, improves chromate survival and reduction // PLoS One. 2017. V. 12(11).
38. Chen J., Tian Y. Hexavalent chromium reducing bacteria: mechanism of reduction and characteristics // Environmental Science and Pollution Research. 2021. V. 28. P. 20981–20997. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13325-7>
39. He Y., Dong L., Zhou S., Jia Y., Gu R., Bai Q., Gao J., Li Y., Xiao H. Chromium resistance characteristics of Cr(VI) resistance genes *ChrA* and *ChrB* in *Serratia* sp. S2 // Ecotoxicol Environ Saf. 2018. V. 157. P. 417–42.
40. Gang H., Xiao C., Xiao Y., Yan W., Bai R., Ding R., Yang Z., Zhao F. Proteomic analysis of the reduction and resistance mechanisms of *Shewanella oneidensis* MR-1 under long-term hexavalent chromium stress // Environ Int. 2019. V. 127. P. 94–102.
41. Naik M.M., Khanolkar D., Dubey S.K. Lead-resistant *Providencia alcalifaciens* strain 2EA bioprecipitates Pb⁺² as lead phosphate // Lett Appl Microbiol. 2013. V. 56(2). P. 99–104. <https://doi.org/10.1111/lam.12026>
42. Rodriguez-Sanchez V., Guzman-Moreno J., Rodriguez-Gonzalez V., Flores-de la Torre J.A., Ramirez-Santoyo R.M., Vidales-Rodriguez L.E. Biosorption of lead phosphates by lead-tolerant bacteria as a mechanism for lead immobilization // World J. Microbiol Biotechnol. 2017. V. 33(8). P. 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2314-6>
43. Wang T., Wang S., Tang X., Fan X., Yang S., Yao L., Li Y., Han H. Isolation of urease-producing bacteria and their effects on reducing Cd and Pb accumulation in lettuce (*Lactuca sativa* L.) // Environ Sci Pollut Res. 2020. V. 27(8). P. 8707–8718. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06957-3>
44. Abdel-Razik M.A., Azmy A.F., Khairalla A.S., AbdelGhani S. Metal bioremediation potential of the halophilic bacterium, *Halomonas* sp. strain WQL9 isolated from Lake Qarun Egypt // Egypt J. Aquat Res. 2020. V. 46(1). P. 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2019.11.009>
45. Qiao W., Zhang Y., Xia H., Luo Y., Liu S., Wang S., Wang W. Bioimmobilization of lead by *Bacillus subtilis* X3 biomass isolated from lead mine soil under promotion of multiple adsorption mechanisms // R Soc Open Sci. 2019. V. 6(2). P. 181701. <https://doi.org/10.1098/rsos.181701>
46. Huang D.L., Zeng G.M., Jiang X.Y., Feng C.L., Yu H.Y., Huang G.H., Liu H.L. Bioremediation of Pb-contaminated soil by incubating with *Phanerochaete chrysosporium* and straw // J. Hazard Mater. 2006. V. 134(1–3). P. 268–276. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.11.021>
47. Gnanamani A., Kavitha V., Radhakrishnan N., Suseela Rajakumar G., Sekaran G., Mandal A.B. Microbial products (biosurfactant and extracellular chromate reductase) of marine microorganism are the potential agents reduce the oxidative stress induced by toxic heavy metals // Colloids Surf B: Biointerfaces. 2010. V. 79. P. 334–339.
48. Swapna T.H., Papatoti N.K., Khan M.Y., Reddy G., Hameeda B. Bioreduction of Cr (VI) by biosurfactant producing marine bacterium *Bacillus subtilis* SHB 13 // J. Sci Ind Res India. 2016. V. 75. P. 432–438.

49. Kalita D., Joshi S.R. Study on bioremediation of Lead by exopolysaccharide producing metallophilic bacterium isolated from extreme habitat // *Biotechnol Reports*. 2017. V. 16. P. 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.11.003>
50. Tien Chien-Jund, Sigee D.C., White K.N. Copper adsorption kinetics of cultured algae cells fresh-water phytoplankton with emphasis on cell surface characteristics // *J. Appl. Phycol*. 2005. V. 17. № 5. P. 379–389.
51. Бекасова О.Д., Бреховских А.А., Москвина М.И. О механизме детоксикации ионов кадмия цианобактерией *Nostoc muscorum* при участии ее внеклеточных полисахаридов // *Биофизика*. 2002. Т. 47. № 3. С. 515–523.
52. Kumari S., Das S. Expression of metallothionein encoding gene *bmtA* in biofilm-forming marine bacterium *Pseudomonas aeruginosa* N6P6 and understanding its involvement in Pb (II) resistance and bioremediation // *Environmental Science and Pollution Research*. 2019. V. 26. P. 28763–28774. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05916-2>
53. Mohite B.V., Koli S.H. Prospective of microbial exopolysaccharide for heavy metal exclusion // *Appl Biochem Biotechnol*. 2017. V. 183(2). P. 582–600. <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2591-4>
54. Morillo J.A., Aguilera M., Ramos-Cormenzana A., Monteoliva-Sanchez M. Production of a metal-binding exopolysaccharide by *Paenibacillus jamilae* using two-phase olive-mill waste as fermentation substrate // *Curr Microbiol*. 2006. V. 53. P. 189–193.
55. Li C., Zhou L., Yang H., Lv R. Self-assembled exopolysaccharide nanoparticles for bioremediation and green synthesis of noble metal nanoparticles // *ACS Appl Mater Interfaces*. 2017. V. 9(27). P. 22808–22818. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b02908>
56. Hesse E., O'Brien S., Tromas N., Bayer F., Lujan A.M., van Veen E.M., Hodgson D.J., Buckling A. Ecological selection of siderophore-producing microbial taxa in response to heavy metal contamination // *Ecol Lett*. 2018. V. 21(1). P. 117–127. <https://doi.org/10.1111/ele.12878>
57. Kramer J., Ozkaya O., Kummerli R. Bacterial siderophores in community and host interactions // *Nat Rev Microbiol*. 2020. V. 18(3). P. 152–163. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0284-4>
58. Shi P., Xing Z., Zhang Y., Chai T. Effect of heavy-metal on synthesis of siderophores by *Pseudomonas aeruginosa* ZGKD3 // *Water*. 2017. V. 52(2). P. 1–72. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/5>
59. Yu S., Teng C., Bai X., Liang J., Song T., Dong L., Jin Y., Qu J. Optimization of siderophore production by *Bacillus* sp. PZ-1 and its potential enhancement of phytoextraction of Pb from soil // *J Microbiol Biotechnol*. 2017. V. 8. P. 1500–1512. <https://doi.org/10.4014/jmb.1705.05021>
60. Yongpisanphop J., Babel S., Kurisu F., Kruatrachue M., Pokethitiyook P. Isolation and characterization of Pb-resistant plant growth promoting endophytic bacteria and their role in Pb accumulation by fast-growing trees // *Environ Technol*. 2019. V. 41(27). P. 3598–3606. <https://doi.org/10.1080/09593330.2019.1615993>
61. Liao Q., Tang J., Wang H., Yang W., He L., Wang Y. Dynamic proteome responses to sequential reduction of Cr (VI) and adsorption of Pb(II) by *Pannonibacter phragmitetus* BB // *J. Hazard Mater*. 2020. V. 386. P. 121988. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121988>
62. Raghad J., Amin A.S., Asaad A.T. Bioaccumulation of cadmium and lead by *Shewanella oneidensis* isolated from soil in Basra governorate Iraq // *Afr J. Microbiol Res*. 2016. V. 10(12). P. 370–375. <https://doi.org/10.5897/ajmr2016.7912>
63. Arifiyanto A., Apriyanti F.D., Purwaningsih P., Kalqutny S.H., Agustina D., Surtiningsih T., Shovitri M., Zulaika E. Lead (Pb) bioaccumulation; Genera *Bacillus* isolate S1 and SS19 as a case study // In: *AIP Conference Proceedings*. 2017. V. 1854(1). P. 020003.
64. Xing S.C., Chen J.Y., Lv N., Mi J.D., Chen W.L., Liang J.B., Di L.X. Biosorption of lead (Pb²⁺) by the vegetative and decay cells and spores of *Bacillus coagulans* R11 isolated from lead mine soil // *Chemosphere*. 2018. V. 211. P. 804–816. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.08.005>
65. Aslam F., Yasmin A., Sohail S. Bioaccumulation of lead, chromium, and nickel by bacteria from three different genera isolated from industrial effluent // *International Microbiology*. 2020. V. 23. P. 253–261. <https://doi.org/10.1007/s10123-019-00098-w>
66. Ojuederie O., Babalola O. Microbial and plant-assisted bioremediation of heavy metal polluted environments. A review // *Int J. Environ Res Public Health*. 2017. V. 14(12). P. 1504.
67. Akkoyun M.B., Ozdemir S., Kilinc E., Birhanli E. Investigations of Hg(II) and Pb(II) tolerance, removal and bioaccumulation and their effects on antioxidant enzymes on thermophilic *Exiguobacterium profundum* // *Hum Ecol Risk Assess*. 2019. V. 26(6). P. 1234–1253. <https://doi.org/10.1080/10807039.2018.1562882>
68. Sizentsov A., Karpova G., Klimova T., Salnikova E., Kvan O., Barysheva E., Gavriush I. Evaluation of anionic components of lead on biotoxicity and bioaccumulation ability in respect of probiotic stamps // *Int J. Geomate*. 2019. V. 16(55):8–13. <https://doi.org/10.21660/2019.55.76923>
69. Huang F., Guo C.L., Lu G.N., Yi X.Y., Zhu L.D., Dang Z. Bioaccumulation characterization of cadmium by growing *Bacillus cereus* RC-1 and its mechanism // *Chemosphere*. 2014. V. 109. P. 134–142.
70. Dexilin M., Congeevaram S., Dhanarani S. Biosorption of chromium and nickel by heavy metal resistant fungal and bacterial isolates // *J. Hazard Mater*. 2007. V. 146. P. 270–277.
71. Gupta V.K., Rastogi A., Nayak A. Biosorption of nickel onto treated alga (*Oedogonium hatei*): application of isotherm and kinetic models // *J. Colloid Interface Sci*. 2010. V. 342. P. 533–539.
72. Jafarian V., Ghaffari F. A unique metallothionein-engineered in *Escherichia coli* for

- biosorption of lead, zinc, and cadmium; adsorption or adsorption // *Microbiolog.* 2017. V. 86(1). P. 73–81. <https://doi.org/10.1134/S0026261717010064>
73. Chen B., Fang L., Yan X., Zhang A., Chen P., Luan T., Hu L., Jiang G. A unique Pb-binding flagellin as an effective remediation tool for Pb contamination in aquatic environment // *J. Hazard Mater.* 2018. V. 363. P. 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.10.004>
74. Benhalima L., Amri S., Bensouilah M., Ouzrout R. Heavy metal resistance and metallothionein induction in bacteria isolated from Seybouse river Algeria // *Appl Ecol Environ Res.* 2020. V. 18(1). P. 1721–1737. https://doi.org/10.15666/aeer/1801_17211737
75. Морозова О.В. Участие полифосфат-аккумулирующих бактерий в детоксикации свинца // *Приволжский научный вестник.* 2013. №. 12-1(28). С. 19–21.
76. Alvarez S., Jerez C.A. Copper ions stimulate polyphosphate degradation and phosphate efflux in *Acidithiobacillus ferrooxidans* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2004. V. 70 (9). P. 5177–5182.
77. Арискина Е.В., Вацурина А.В, Сузина Н.Е., Гавриш Е.Ю. Кобальт- и хромсодержащие включения в клетках бактерий // *Микробиология.* 2004. Т. 73. № 2. С. 199–203.
78. Радюкина Н.Л., Михеева Л.Е., Карбышева Е.А. Низкомолекулярные антиоксиданты в клетках цианобактерий и растений // *Успехи современной биологии.* 2019. Т. 139. № 3. С. 254–266.
79. Ahemad M. Bacterial mechanisms for Cr (VI) resistance and reduction: an overview and recent advances // *Folia microbiologica.* 2014. V. 59. P. 321–332.
80. Narayani M., Vidya Shetty K. Chromium-Resistant Bacteria and Their Environmental Condition for Hexavalent Chromium Removal // *A Review, Critical Reviews in Environmental Science and Technology.* 2013. V. 43. P. 955–1009, <https://doi.org/10.1080/10643389.2011.627022>
81. Upadhyay N., Vishwakarma K., Singh J., Mishra M., Kumar V., Rani R., Mishra R.K., Chauhan D.K., Tripathi D.K., Sharma S. Tolerance and Reduction of Chromium(VI) by *Bacillus* sp. MNU16 Isolated from Contaminated Coal Mining Soil // *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8. P. 778. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00778>
82. Sanjay M.S., Sudarsanam D., Raj G. A., Baskar K.. Isolation and identification of chromium reducing bacteria from tannery effluent // *Journal of King Saud University.* 2020. V. 32. Issue 1. P. 265–271. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.05.001>
83. Слободкина Г.Б., Бонч-Осмоловская Е.А., Слободкин А.И. Восстановление хромата, селенита, теллурита и железа(III) умеренно термофильной бактерией *Bacillus thermoamylovorans* // *Микробиология.* 2007. V. 76. № 5. С. 602–607.
84. Li M., He Z., Hu Y., Hu L., Zhong H. Both cell envelope and cytoplasm were the locations for chromium (VI) reduction by *Bacillus* sp. M6 // *Bioresour Technol.* 2019. V. 273. P.130–135.
85. Ianeva O.D. Mechanisms of bacteria resistance to heavy metals // *Mikrobiol Z.* 2009. V. 71 (6). P. 54.
86. Gold B., Deng H., Bryk R., Vargas D., Eliezer D., Roberts J., Jiang X., Nathan C. Identification of a copper-binding metallothionein in pathogenic mycobacteria // *Nat Chem Biol.* 2008. V. 4. P. 609–616.
87. Liu Z., Liu Q., Qi X., Li Y., Zhou G., Dai M., Miao M., Kong Q. Evolution and resistance of a microbial community exposed to Pb(II) wastewater // *Sci Total Environ.* 2019. V. 694. P. 133722. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133722>
88. Manzoor M., Abid R., Rathinasabapathi B., De Oliveira L.M., da Silva E., Deng F., Rensing C., Arshad M., Gul I., Xiang P., Ma L.Q. Metal tolerance of arsenic-resistant bacteria and their ability to promote plant growth of *Pteris vittata* in Pb-contaminated soil // *Sci Total Environ.* 2019. V. 660:18–24. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.013>
89. Hlozkova K., Suman J., Strnad H., Ruml T., Paces V., Kotrba P. Characterization of pbt genes conferring increased Pb²⁺ and Cd²⁺ tolerance upon *Achromobacter xylosoxidans* A8 // *Res Microbiol.* 2013. V. 164(10). P. 1009–1018. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2013.10.002>
90. Ben Fekih I., Zhang C., Li Y.P., Zhao Y., Alwathnani H.A., Saquib Q., Rensing C., Cervantes C. Distribution of arsenic resistance genes in prokaryotes // *Frontiers in microbiology.* 2018. V. 9. P. 2473.
91. Yang H.C., Rosen B.P. New mechanisms of bacterial arsenic resistance // *Biom J.* 2016. V. 39(1). P. 5–13.
92. Hsu-Kim H., Kucharzyk K., Zhang T., Deshusses M. Mechanisms regulating mercury bioavailability for methylating microorganisms in the aquatic environment: a critical review // *Environmental Science and Technology.* 2013. V.19. V. 47(6). P. 2441–2456.
93. Андреева Д.В., Кондратьева Л.М. Сульфатредуцирующие бактерии-индикаторы экологического состояния реки амур // *Чтения памяти Владимира Яковлевича Леванидова.* 2019. № 8. С. 5–13.
94. Regnell O., Watras C.J. Microbial mercury methylation in aquatic environments: a critical review of published field and laboratory studies // *Environmental science & technology.* 2018. V. 53. № 1. P. 4–19.
95. Morais P.V., Branco R., Francisco R. Chromiumresistance strategies and toxicity: what makes *Ochrobactrum tritici* 5bv11 a strain highly resistant // *Biometals.* 2011. V. 24. P. 401–410.
96. Shah Z.H., Rehman H.M., Akhtar T. Redox and ionic homeostasis regulations against oxidative, salinity and drought stress in wheat (a systems biology approach) // *Front. Genet.* 2017. V. 8. P. 141. <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00141>
97. Fryzova R., Pohanka M., Martinkov P., Cihlarova, H., Brtnicky M., Hladky J., Kynicky J. Oxidative stress and heavy metals in plants // *Reviews of environmental contamination and toxicology.* 2018. V. 245. P. 129–156. https://doi.org/10.1007/398_2017_7
98. Das A., Osborne J.W. Monitoring the stress resistance of *Pennisetum purpureum* in Pb (II) contaminated soil bioaugmented with *Enterobacter cloacae* as

defence strategy // *Chemosphere*. 2018. V. 210. P. 495–502. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.050>

99. Bilal S., Khan A.L., Shahzad R., Kim Y.H., Imran M., Khan M.J., Al-Harrasi A., Kim T.H., Lee I.J. Mechanisms of Cr(VI) resistance by endophytic *Sphingomonas* sp. LK11 and its Cr(VI) phytotoxic mitigating effects in soybean (*Glycine max* L.) // *Ecotoxicol Environ Saf*. 2018. V. 164. P. 648–658.

100. Kaszycki P., Dubicka-Lisowska A., Augustynowicz J., Piwowarczyk B., Wesolowski W. *Callitriche cophocarpa* (water starwort) proteome under chromate stress: evidence for induction of a quinone

reductase // *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018. V. 25. P. 8928–8942.

101. Singh D.P., Srivastava P.K., Prasad S.M. Differential effect of UV-B radiation on growth, oxidative stress and ascorbat-glutathion cycle in two cyanobacteria under copper toxicity // *Plant. Physiol. Biochem*. 2012. V. 61. P. 61–67.

102. Sturm G., Brunner S., Suvorova E., Dempwolff F., Reiner J., Graumann P., Bernier-Latmani R., Majzlan J., Gescher J. Chromate resistance Mechanisms in *Leucobacter chromiirestiens* // *Appl Environ Microbiol*. 2018. V. 84(23). <https://doi.org/10.1128/AEM.02208-18>

ADAPTATION OF MICROORGANISMS TO HEAVY METALS

© S.R. Mukhamatdyarova, E.V. Kuzina, M.G. Iskuzhina, T.Yu. Korshunova

Ufa Institute of biology – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre
of the Russian Academy of Sciences,
69, prospect Oktyabrya, 450054, Ufa, Russian Federation

Many heavy metals (HM) (Zn, Cu, Mn, Co, etc.) take an active part in the most important processes of vital activity of microorganisms as microelements. However, at high concentrations they become toxic, and a number of metals (Pb, Hg, Cd, etc.) are highly toxic even at low concentrations. Microorganisms are able to resist the toxic effects of HMs due to the presence of various resistance mechanisms that are aimed at converting cations to a less toxic form or oxidation state, which makes them less mobile and bioavailable. The very first reaction of microorganisms to the toxic effects of metals is a change in cell morphology, their agglomeration, which leads to a decrease in the availability of binding sites for toxic metals. The mechanisms used by bacteria can be divided into biochemical and molecular. Bacterial cells have the ability to sorb metal cations with the help of metal-binding functional groups (carboxylic, sulfhydryl, hydroxyl, sulfate, phosphate, and amino groups) of the cell membrane, preventing their penetration into the cell. Bacteria have a variety of efflux systems for HM outflow from cells with the help of carrier proteins belonging to different families, which maintain a low concentration of HM inside the cell, protecting cellular components. Polysaccharides, biosurfactants, inorganic anions (phosphate, carbonate, and sulfide ions) and other metabolic products of microorganisms participate in extracellular detoxification, and glutathione, metal-binding proteins, intracellular polyphosphate granules, which bind HM cations into poorly soluble compounds, participate in intracellular sequestration. The reduction of HM ions with the help of enzymes leads to the formation of their less toxic forms. The genes responsible for bacterial resistance to toxic metals are localized on chromosomes or plasmids and can be transferred to closely related bacterial species, which plays an important role in the spread of HM resistance in nature. Microorganisms also demonstrate indirect mechanisms of HM tolerance aimed at maintaining cell integrity by protecting them from oxidative stress.

Keywords: heavy metals, toxicity, bacteria, resistance, detoxification, uptake, binding, mechanisms.