

Тяжёлые металлы как фактор изменения метаболизма у микроорганизмов (обзор)

© 2015. А. И. Фокина¹, к.б.н., доцент,
Т. Я. Ашихмина^{1,2}, д.т.н., профессор, зав. кафедрой, зав. лабораторией,
Л. И. Домрачева^{2,3}, д.б.н., в.н.с., профессор, Е. А. Горностаева³, аспирант,
С. Ю. Огородникова^{1,2}, к.б.н., доцент, с.н.с.,

¹Вятский государственный гуманитарный университет,

²Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,

³Вятская государственная сельскохозяйственная академия,

e-mail: ecolab2@gmail.com

В обзоре рассматриваются различные аспекты влияния тяжёлых металлов (ТМ) на функционирование микроорганизмов. Рассмотрены механизмы биосорбции металлов на примерах внутриклеточного, внеклеточного взаимодействия и взаимодействия на поверхности клетки. Показано, что под влиянием подобного антропогенного фактора происходят существенные изменения в морфологических, анатомических, биохимических и физиологических показателях микробных клеток. Характер изменений во многом определяется свойствами ТМ, их концентрацией, внешними условиями (рН, аэрация, солевой режим). В то же время специфика ответных реакций на действие токсикантов зависит от систематического положения микроорганизмов, возраста и физиологического состояния культуры, активности ферментов, особенностей экзометаболизма. Обсуждена сравнительная адсорбционная способность микроорганизмов на примере ряда грамположительных и грамотрицательных гетеротрофных бактерий, цианобактерий, зелёных водорослей, дрожжей и плесневых грибов к различным соединениям тяжёлых металлов (свинец, кадмий, хром, цинк, кобальт, серебро, марганец, молибден, титан, радий и др.). Отмечено, что на биодоступность ТМ влияет ряд факторов: подкисление среды, концентрация соединений металлов, природные органические соединения (гумус, полимерные компоненты, полисахариды, пентогликаны) и анионные лиганды.

The review discusses the various aspects of heavy metals' (HM) impact on the functioning of organisms. The mechanisms of biosorption of metals by the examples of intracellular interaction, extracellular interaction, and interaction at the cell surface are considered. It is shown that under the influence of anthropogenic factors there take place significant changes in the morphological, anatomical, physiological and biochemical indicators of microbial cells. The nature of the changes is largely determined by the properties of HM, their concentrations, as well as by the external conditions (pH, aeration, salt regime). At the same time the specificity of responses to toxicants depends on the taxonomic position of microorganisms, the age and physiological state of the culture, enzyme activity, and exometabolites. Comparative adsorption capacity of microorganisms a number of gram-positive and gram-negative heterotrophic bacteria, cyanobacteria, green algae, yeast, and molds to various compounds of heavy metals (lead, cadmium, chromium, zinc, cobalt, silver, manganese, molybdenum, titanium, radium and etc.) is discussed. It is noted that the bioavailability of HM is affected by several factors: acidification of the medium, the concentration of the metal compounds, natural organic compounds (humus polymer components polysaccharides pentoglycans) and anionic ligands.

Ключевые слова: тяжёлые металлы, адаптация, метаболизм, микроорганизмы, бактерии, водоросли, микромицеты, адсорбция, биоремедиация.

Keywords: heavy metals, adaptation, metabolism, microorganisms, bacteria, algae, micromycetes, adsorption, bioremediation.

Тяжёлые металлы (ТМ), циркулирующие в окружающей среде (ОС) в результате антропогенной деятельности, в той или иной степени оказывают влияние на все живые организмы, включая микробиоту. Ответные реакции микроорганизмов (МО) на стрессовые воздействия можно рассматривать в различных аспектах: как примеры адаптационных возможностей, как фактор селекции на резистентные и неустойчивые штаммы, как вероятность использования в качестве тест-организмов или

организмов-индикаторов и, наконец, как перспективу использования отдельных микробных группировок, микробных консорциумов или растительно-микробных ассоциаций для биоремедиации химически загрязнённых сред.

Попадая в ОС, ионы ТМ, в первую очередь, сталкиваются с экзометаболитами живых организмов, в частности, микроорганизмов, и компонентами клеточных стенок. При этом активная концентрация ионов поллютантов в среде может значительно изменяться.

Способность микроорганизмов снижать концентрацию ТМ в окружающей среде. Особенности химического строения клеток микроорганизмов и специфика функционирования в присутствии ионов ТМ определяет их способность к изменению концентрации металлов в окружающей среде.

В соответствии с локализацией процесса биосорбции металлов механизмы биосорбции могут быть классифицированы как внутриклеточное взаимодействие, взаимодействие на поверхности клетки, внеклеточное взаимодействие.

При этом большую роль играет физико-химическое взаимодействие между ионами металлов и поверхностью МО. Биосорбция, главным образом, – пассивное, не зависящее от метаболизма взаимодействие с металлами. Если элементы питания не поддерживают жизнедеятельность МО, то для удаления ТМ эффективно используются как живые, так и мёртвые клетки [1].

Внутриклеточное взаимодействие. Активный транспорт металла через мембраны клетки приводит к его внутриклеточному накоплению, которое зависит от метаболизма бактерии [2]. Эссенциальные металлы активно поглощаются специализированными системами поглощения, так как они необходимы, но другие, второстепенные, металлы также могут быть поглощены из-за того, что их ошибочно принимают за микроэлемент [3].

При высоких концентрациях токсичных металлов МО активно поглощают ионы металлов, чтобы детоксицировать среду своего обитания.

Фактически виды бактерий способны к преобразованию ионов металлов и неметаллов до органометаллических и органонеметаллических лигандов внутри клетки, типа металлотиионеинов [4].

У МО также имеются метаболические процессы, типа биоосаждения для усиления поглощения металлов [5, 6]. Осаждение ТМ в клетках обусловлено работой ферментных систем, преобразующих одну форму металла в другую, при этом образуется осадок.

Нерастворимое металлосодержащее вещество осаждается в виде ионов металлов, объединённых с различными анионами, образующимися при метаболизме клетки [7]. Например, *Citrobacter sp.* может накапливать высокие уровни урана, никеля и циркония путём формирования осадков фосфатов металлов [8]. Иногда осаждение тяжёлых металлов не является результатом непосредственного на них

действия химических веществ микроорганизмов. Так, в присутствии желатина сульфатредуцирующие бактерии активно продуцируют сероводород, последний в свою очередь осаждает практически все ионы ТМ. Осадок может адсорбироваться на поверхности клеток или выпадать независимо от организмов.

Взаимодействие на поверхности клетки. Сорбция на поверхности клеток обусловлена наличием в клеточных стенках соединений, имеющих функциональные группы (фосфатная, карбоксильная, сульфгидрильная, гидроксильная и др.), способные связывать положительно заряженные ионы ТМ. Такой вид сорбции происходит быстро, обратимо, часто не зависит от температуры и энергетического метаболизма.

Механизмы, которыми металл связывается на поверхности клетки, вероятно, включают электростатические взаимодействия, ван-дер-ваальсовы силы, ковалентное взаимодействие комбинацию этих процессов [9, 10]. В случае физико-химического взаимодействия, основанного на физической адсорбции, ионном обмене и комплексообразовании между металлом и функциональными группами поверхности клетки, поглощение металлов не зависит от метаболизма [11, 12].

Показано, что за биосорбцию кобальта морскими водорослями могут быть ответственны электростатические взаимодействия [13].

Отрицательно заряженные группы, такие, как карбоксильные, гидроксильные, фосфорильные группы клеточной оболочки бактерий, адсорбируют катионы металлов силами электростатического поля.

Сорбция металлов может также иметь место через комплексообразование на поверхности клетки между металлами и металлсвязывающими белками [14]. Биосорбция урана и тория у *Rhizopus arrhizus* имеет механизм, основанный не только на физической адсорбции, но также и на комплексообразовании на клеточной стенке [15].

Бактерии могут использоваться как превосходный биосорбент для сорбции металлов, так как они имеют большую удельную поверхность связывания с активными центрами сорбции в бактериальных клеточных оболочках [16]. В частности, чистые микробные штаммы имеют чрезвычайно большие ёмкости селективного поглощения металлов из разбавленных металлсодержащих растворов [17, 18].

Внеклеточное взаимодействие. Некоторые бактерии могут производить большое количество внеклеточных полимерных веществ

(ВПВ), включая отрицательно заряженные функциональные группы [19, 20]. ВПВ могут связывать и аккумулировать катионогенные металлы, такие, как магний и кадмий. Полимер из *Alteromonas macleodii* обладал сродством к свинцу, кадмию и цинку. Свинец поглощался избирательно, но между цинком и кадмием отмечали конкуренцию за одни и те же центры связывания [24].

Поверхности клетки грамположительных и грамотрицательных бактерий, живые или неживые, имеют множество функциональных групп, которые связывают ионы металлов с ВПВ. Они также содержат фосфатные, карбоксильные, гидроксильные и аминные функциональные группы. У грамотрицательных бактерий ВПВ составлены из полисахаридов и белков, которые менее жёстко связаны с поверхностью клетки. Внешние полисахариды грамотрицательных бактерий представлены многими функциональными группами, например, карбоксильными, гидроксильными, сульфатными, фосфатными и аминными группами, которые могут координационно взаимодействовать с ионами ТМ. У грамположительных бактерий тейхоевые кислоты, равно как полисахариды и белки, которые не закреплены в клеточной оболочке, вносят свой вклад в ВПВ. Поэтому они могут накапливать больше ионов ТМ, чем грамотрицательные бактерии [1].

Снижение концентрации ионов металлов может происходить не только за счёт сорбции на внешней стороне клеточной стенки и осаждения, но и при биоаккумуляции внутри клеток.

Необходимо отметить, что снижение концентрации ТМ в среде часто носит характер ответной реакции на увеличение содержания токсиканта и направлен на его детоксикацию.

Так как явление снижения концентрации ионов ТМ в среде имеет большое прикладное значение, исследователи ограничиваются изучением остаточного содержания токсиканта в культуральной жидкости, тем самым обозначая всё количество ТМ, независимо от его формы и местонахождения относительно клетки (внутри или на клеточной стенке), более общим понятием – сорбционная ёмкость, сорбционная активность и т. д., а процесс накопления – сорбция, биосорбция и т. п. Хотя встречаются исследования, где отражено накопление металла в различных частях клетки, фракциях или в результате различных процессов.

Подавляющее большинство изученных МО обладают определённой сорбционной активностью по отношению к ТМ. Скорость и величина биосорбции определяются многими

факторами и зависят от вида и возраста культур МО, времени контакта, рН, концентрации ТМ в окружающей среде.

Показано, что биосорбция Cu^{2+} *Ganoderma lucidum* и *Aspergillus niger* из водного раствора зависит от рН среды: связывание металла имело тенденцию к увеличению при рН от 2 до 6, с максимумом между 5 и 6 [22].

Адсорбция ионов кобальта (II), никеля (II) и хрома (III) на *Pseudomonas aeruginosa* сильно зависит от рН раствора. Процент адсорбции металла при более низких уровнях рН (1-3) был значительно ниже из-за конкуренции с ионами H^+ за центры связывания на поверхности бактерий. Увеличение рН способствовало сорбции металлов, главным образом за счёт повышенного содержания отрицательно заряженных групп на поверхности клеток [1].

При исследовании многокомпонентной микробной системы в качестве биосорбента было показано, что уровень сорбции возрастает при повышении значения рН [23]. В противоположность этому снижение рН с 4,5 до 2,0 вызывало увеличение извлечения ТМ автотрофной бактерией *Thiobacillus spp.* из растворов, содержащих Cd, Co, Cu, Ni, Pb, Sr, Ti, Zn. Максимальное извлечение (более 90%) установлено для Cu и Pb, для Cd, Co, Ni, Sr – 60-80% [24]. При значениях рН < 2 было возможным селективное извлечение Ag и Au из растворов биомассой МО, отходов микробиологических производств антибиотиков (*Aspergillus terreus*, *Rhizopus arrhizus*, кормовых дрожжей) с отделением сопутствующих ТМ – Cu и Ni [25]. При этом биосорбционная активность изученных МО достигает 94,0–98,8%, такой же величины, как у активированного угля (98,8%).

Поглощение ионов определённых ТМ из ОС иногда регулируется другими ионами. Так, показано, что ионы Mg^{2+} регулируют поглощение ионов Ni^{2+} клетками бактерий р. *Pseudomonas*, защищая таким образом их от этого токсичного металла [26]. Особенности биосорбции ТМ из смешанных растворов клетками цианобактерии (ЦБ) *Spirulina platensis* существенно изменяются в зависимости от концентрации ТМ, состояния клеток и преинкубации с солями ТМ: сорбционная способность живых клеток выше, чем у мёртвых; если концентрация таких ионов, как Co^{2+} или Mn^{2+} , не превышает $0,1 \cdot 10^{-3}$ моль/л. При более высоких концентрациях этих ионов сорбция в обоих случаях близка для живых и инактивированных клеток и составляет около 1 мг металла на 1 г сухой биомассы. Преинкубация культуры ЦБ с солями кобальта и марганца приводит к

тому, что сорбционные параметры инактивированных клеток превышают таковые показатели для метаболизирующих клеток [27].

Максимальной биосорбционной активности биоплёнок *Arthobacter vicosus* (до 50–100% удаления Pb из раствора) способствовало размещение биоплёнки на активированном угле [28]. Способностью в 10^4 – 10^5 раз концентрировать катионы ТМ обладают биоплёнки морских прокариот *Hyphomonas sp.* и *Shewanella colwelliana* за счёт выделения экзополисахаридов [29].

Например, при экспонировании двух видов зелёных водорослей (*Chlorella pyrenoidosa* и *Scenedesmus obliquus*) при разных концентрациях Zn^{2+} и Cu^{2+} в течение 8 дней было отмечено, что эффективность удаления из среды соединений Zn^{2+} резко увеличивалась в 1-й день, затем стабилизировалась. Эффективность удаления соединений Cu^{2+} медленно нарастала в течение всего периода опыта. Во всех культурах количества обоих металлов, удаляемых интерцеллюлярно, были намного меньше адсорбируемых поверхностью клеток. Максимальная эффективность удаления обоих металлов из водных растворов приближалась к 100%. Ионы Cu^{2+} эффективнее удаляла *Chlorella pyrenoidosa*, чем *Scenedesmus obliquus*, который, в свою очередь, эффективнее удалял ионы Zn^{2+} , чем Cu^{2+} [30].

Размеры сорбции колеблются в зависимости от вида МО и формы присутствия ТМ в ОС. При исследовании биоаккумуляции ионов Cu^{2+} клетками зелёной водоросли *Dunaliella viridis* было установлено, что при внесении в среду 10 мг/л $CuSO_4 \cdot 7H_2O$ в клетках обнаружилось до 1,8 г/кг ионов Cu^{2+} [31]. При изучении биоаккумуляции цинка, осуществляемой популяциями зелёной водоросли *Spirogyra fluviatilis*, установлено, что поглощение ионов Zn^{2+} усиливалось при возрастании его концентрации в среде вне зависимости от уровня органического загрязнения местообитаний [32]. При исследовании сравнительной способности к удалению ионов Cu^{2+} у образующих экзополисахариды ЦБ в разных технологических условиях было установлено, что эффект удаления металла напрямую связан с высоким соотношением поверхности к объёму в системе ЦБ-ТМ, при этом биомасса ЦБ могла многократно использоваться в циклах сорбции-десорбции металла без снижения эффекта его удаления [33]. В серии опытов было показано, что к сорбции ряда ТМ (Cd, Cu, Pb, Mn, Zn) способны очищенные капсулярные полисахариды ЦБ. Потенциал насыщающего связывания полисахаридами этих металлов варьировал в пределах 1,2–4,0

мМ металла/г капсулы, что соответствует 1 металлоэквиваленту на 2–4 сахаридные субъединицы полимера [34].

При изучении сорбционной активности меланизированных грибов *Alternaria alternata* и *Aspergillus carbonarius* было показано, что меланинсодержащая биомасса и чистые меланины микромицетов различаются по величине сорбционной ёмкости по отношению к различным ТМ, по селективности их извлечения из растворов, при этом очистка пигментов от других компонентов биомассы улучшает их сорбционные свойства [35].

Высокая сорбционная способность по отношению к ТМ нашла отражение в создании и патентовании множества биосорбентов.

В способе биологической очистки водных растворов от хрома сорбцией мицелием грибов *Aspergillus flaeres* при исходной концентрации хрома (VI) 11,4 г/л и хрома (III) 0,39 г/л степень очистки составляет 72,8% [36].

Контактирование водных растворов $CuSO_4$ с суспензией гомогенизированной биоплёнки с доминированием безгетероцистных цианобактерий рода *Phormidium* в течение 1–3 часов в соотношении 0,2 г биомассы на 1 литр раствора. При этом из индивидуальных растворов с максимальной концентрацией Cu^{2+} 20 мг/дм³ степень очистки составляет 95,7–99,4%, что соответствует снижению концентрации меди до уровня близкого к ПДК (0,1 мг/дм³). Уже в первые минуты после контакта концентрация металла снижается на 99,4%. Из растворов, содержащих смесь с ионами меди (II), за промежуток времени, равный 1–3 часам, концентрация меди снижается на 98,9%. При проведении очистки воды от ионов меди нет необходимости в постоянном встряхивании, достаточно перемешать культуру ЦБ в растворе, содержащем ионы Cu^{2+} , 1–2 раза в течение времени контакта (от 1 до 3 часов). Достижение необходимого положительного результата стало возможным при следующем составе доминирующих видов: *Phormidium ambiguum* (Jom.), *Phormidium boryanum* (Kütz.), *Leptolyngbya foveolarum* (Rabenhorst ex Gom), *Plectonema boryanum* (Gom. f. boryanum) [37]. Подобный эффект наблюдается и по отношению к ионам никеля. Контактирование водных растворов $NiSO_4$ с суспензией гомогенизированной культуры от 1 до 3 часов в соотношении 0,2 г биомассы на литр раствора. При этом из индивидуальных растворов с концентрацией Ni^{2+} 20 мг/дм³ степень очистки составляет 99,4–99,9%, что соответствует снижению концентрации никеля до уровня ПДК (0,1 мг/дм³) и менее. Уже

в первые минуты после контакта концентрация металла снижается на 98,5% [38].

Большой сорбционный потенциал отмечен у родококков. О способности родококков аккумулировать металлы из загрязнённых естественных мест обитаний отмечается в работах [39]. В предложенном [40] способе извлечения металла цезия автор использует виды *Rhodococcus erythropolis* CS 98 и *Rhodococcus sp.* strain CS 402. Решаются задачи по подбору оптимальных условий эффективного извлечения цезия с учётом температуры, pH, источника углерода, соотношения ионов K^+ и Cs^+ в среде культивирования [39].

Оптимальными условиями, при которых происходит интенсивное (от 49 до 70%) извлечение металлов Zn, Cd, Pb из среды, оказались следующие: температура 25–28°C; pH 7,8–8,0; источник углерода – ацетат аммония; присутствие металлов (Pb, Zn или Cd) в концентрации от 0,29 до 2,47 мг/дм³. По полученным данным наиболее активными биоаккумуляторами Zn, Pb и Cd являются коллекционные штаммы *R. ruber* [41].

Отмечено влияние на биодоступность кадмия и цинка таких комплексобразователей как ЭДТА, фитохелатины и цистеин фитопланктоном. Отмечено одиночное влияние комплексобразователей как при различных pH, так и совместное. Подкисление ведёт к уменьшению биодоступности [42]. Влияет на биодоступность меди для цианобактерий *Nostoc linckia* содержание в среде восстановленного глутатиона (GSH). При концентрации Cu^{2+} в водном растворе 1 мг/дм³ при увеличении мольной доли GSH к металлу от 1:1 до 1:4 наблюдается тенденция к возрастанию биодоступности [43]. Выявлена роль природного органического вещества (гумусовые и другие полимерные природные компоненты, например, полисахариды и пептогликаны) на биодоступность и токсичность для некоторых микроорганизмов (бактерии и микроводоросли, обитающие в морской воде) компонентов нанопокровов, содержащих селен, цинк, серу, кадмий, галлий, титан, серебро и некоторые другие химические элементы. При исследованиях учитывалась возможность перехода элементов в водную среду в ходе применения и образования соединений с природными лигандами при различных уровнях кислотности. Было обнаружено ослабление действия ионов серебра цистеином. Уменьшение биодоступности связано не только со снижением проникающей способности ионов металла, но и с уменьшением возможности сорбироваться на

поверхности клеток и, как следствие, снижать приклеточную концентрацию токсиканта [44].

Широко распространённые бактерии серебряных рудников *Thiobacillus ferrooxidans* и *Th. thiooxidans* накапливают около Ag 250 мг/г сухой биомассы. Количество связанного серебра зависит от условий проведения реакций – от pH, регулирующего степень ионизации поверхностных групп клетки, и от присутствия анионных лигандов в среде. Так, ЭДТА, сульфат, хлорид, фосфат, глутамат и карбонат ингибируют связывание ионов серебра клетками микроорганизмов. Перспективны микробиологические методы сорбции и осаждения ионов металлов. Для извлечения металлов из растворов могут быть использованы представители различных таксономических групп. Так, клетки *Th. ferrooxidans* извлекают из раствора ионы Cd(II), Co(II), Cu(II), Cr(VI), Fe(III), Ni(II), Ag⁺, Au(III); цианобактерии – Cd(II), Au(III); клетки хлореллы – Cd(II), Ni(II), Co(II), Zn(II), Sr(II), Mo(II); дрожжи *Candida lipolytica*, *Candida utilis*, *Rhodotorula mucilaginosa* – Cd(II), Co(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II); мицелиальные грибы рода *Aspergillus* – Co(II), Ra(II) [45].

Кроме того, на степень поглощения микроорганизмами поллютантов влияет форма нахождения культуры в среде. Показано, что цианобактериальные сообщества в виде плёнок поглощают ТМ меньше, чем те же сообщества, но в гомогенизированном состоянии [46].

Более подробное изучение способности накапливать ТМ, чем определение остаточного содержания в фильтрате, даёт больше информации. Например, изучение накопления меди в различных фракциях культуры ЦБ *Nostoc linckia* 271 в ходе её контакта с раствором $CuSO_4$ помогло установить временную динамику содержания металла в различных частях клетки, предположить механизм адаптации культуры к действию токсиканта [47].

В первую очередь результатом контакта катионов металлов и микроорганизмов является изменение физиолого-биохимических свойств, состава и структуры клеток МО.

Влияние тяжёлых металлов на состав и структуру микробных клеток

Многочисленные исследования показали, что ТМ оказывают разнообразное действие на химический состав компонентов микробных клеток. Одновременно и чувствительность многих МО к действию токсикантов определяется составом органических веществ микроб-

ных клеток. В частности, при исследовании влияния состава жирных кислот в мембранах цитоплазмы на чувствительность дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* было показано, что клетки, обогащённые линолевой кислотой, более чувствительны к действию меди. После добавления нитрата меди скорость оттока K^+ (нарушение целостности мембраны) в 2 раза выше у клеток с линолевой кислотой, чем у контрольных клеток. У клеток, снабжаемых линолевой кислотой в процессе роста, выше уровень накопления клеточной Cu . После 10-минутной экспозиции культуры дрожжей с ионами меди остаются жизнеспособными только 5% клеток, обогащённых линолевой кислотой, однако 100% клеток остаются жизнеспособными, если они были выращены в отсутствие линолевой кислоты [48].

Изменение функционирования клеток при стрессе, вызванном воздействием ТМ, ведёт к появлению морфологических аномалий МО, что часто выражается в изменении их формы и размеров [49, 50]. Так, при культивировании *Escherichia coli* на средах в присутствии высоких концентраций ТМ её клетки приобретают несвойственные нитевидные формы. В большинстве случаев эти нарушения связаны с разобщением процессов роста и деления клеток [51]. У кислотолюбивых гетеротрофных бактерий *Acidophilium symbioticum* было отмечено максимальное изменение в размерах, когда бактерии подвергали субингибирующим концентрациям соединений Cu и Cd (до 12,5 ммоль/л $CuSO_4$ и до 500 ммоль/л $CdSO_4$) [52]. Формировались цепи коккоидальной формы с линзовидными сужениями на стыках между клетками в присутствии соединений Cd^{2+} . При постепенном увеличении концентрации ионов Cd^{2+} снижалось отношение площади поверхности к объёму, в результате чего клетки становились более удлинёнными. В Ni-стрессовых условиях происходила агрегация клеток (концентрация до 25 ммоль/л $NiSO_4$), но, как и в случае с соединениями Cd , при увеличении концентрации ионов Ni^{2+} значительно снижалось отношение площади поверхности к объёму. Под действием соединений меди клетки становились округлой либо удлинённой формы. Меньшие морфологические нарушения наблюдались при воздействии соединений Zn (до 100 ммоль/л $ZnSO_4$) – форма бактерий, в целом, сохранялась, углубления на поверхности клеток практически отсутствовали. При воздействии ТМ были обнаружены делящиеся клетки. Таким образом, морфологический анализ показал, что *A. symbioticum* обходит

токсическое воздействие ТМ за счёт уменьшения отношения площади поверхности клетки к объёму ячейки через изменение клеточной структуры. Так, в присутствии Cd наблюдалось максимальное увеличение объёма клеток, а воздействие Cu уменьшало их объём до минимума. Аналогичным защитным механизмом обладает и бактериальный штамм *Acidocella sp.* [53]. Другими авторами также было показано, что уменьшение клеточной поверхности относительно объёма клеток играет ключевую роль в последующем снижении токсических воздействий за счёт уменьшения открытой поверхности клетки для прикрепления поллютанта [54].

Увеличение размера клетки наблюдается и у фототрофных бактерий после воздействия оксианионов, таких как хроматы, селенаты, арсенаты [55]. Была изучена реакция ЦБ *Spirulina platensis*-S5 к действию Pb , Cu , Zn в концентрациях 0,05; 0,10; 0,15 и 0,20 мг/дм³. Степень токсичности увеличивалась с увеличением концентрации металлов. Обнаружено пожелтение и фрагментация нитей, а также уменьшение числа спиралей [56]. Наибольшее воздействие металлы оказывали на длину вегетативных клеток, гетероцист, длину и ширину акинет ЦБ *Cylindrospermum michailovskoense*. В целом, по степени влияния на морфометрические характеристики и выживаемость как вегетативных клеток, так гетероцист и спор ТМ можно расположить в следующей последовательности: $Cd > Cu > Pb > Ni > Mn$ [57].

Интересная реакция ЦБ *Nostoc paludosum*, *N. linckia* и *N. muscorum* прослеживается на действие Pb в виде ацетата и меди в виде сульфата в концентрации 15 мг/кг. Действие Cu вызвало полную гибель всех трёх видов ЦБ, однако микроскопирование показало, что под влиянием меди сохраняются структурные особенности нитей и клеток, форма, их размеры, т.е. происходит своеобразная «мумификация» клеток [58].

Замечена чувствительность ЦБ *Synechocystis aquatilis* к сульфату цинка с концентрацией 0,001-0,05 мг/дм³. Частота патоморфологических отклонений клеток возрастала с увеличением концентрации ТМ. При действии ионов Zn^{2+} (0,03 мг/дм³) в клетке происходили заметные изменения в её ультраструктуре, что выражалось в агглютинации тилакоидов и формировании скоплений фикобилисом. Также на внешней стороне клетки образовывались электронно-плотные отложения [59]. В присутствии солей ТМ ($AgNO_3$; $3CdSO_4 \cdot 8H_2O$; $Hg(CH_3COO)_2$; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$) у *Synechocystis sp.* обнаружено, что данный штамм в нетипичных

условиях способен формировать многоклеточные агрегаты и цепочки, содержащие до 10 клеток. Произошло утолщение клеточной стенки, был зарегистрирован плазмолиз, т.к. местами пептидогликановый слой утолщался и становился менее электронноплотным, в результате чего происходило отслоение клеточной стенки от протопласта [60].

Деструктивное действие соединений Pb^{2+} на морфологическом уровне для *N. commune* проявляется в сокращении числа трихомов, в более активном продуцировании клетками рыхлой слизи. Чехлы ЦБ становятся толстыми с неровными краями [61].

Исследование изменений структурных особенностей биоплёнок с доминированием ЦБ рода *Phormidium* методом растровой электронной микроскопии показало, что при любой продолжительности контакта с токсикантом наблюдается разрыв связей между компонентами биоплёнки. В контрольном варианте нити ЦБ облеплены бактериями-спутниками. Под действием токсикантов бактерии-спутники выстраиваются в отдельные самостоятельные колонии. Ионы металлов, вступая во взаимодействие с компонентами слизистых чехлов ЦБ, нарушают физико-химические свойства чехла, делая его непригодным для существования в нём спутников [62].

Показано действие никеля и нефтепродуктов в концентрациях 2 и 20 г/л на интенсивность развития ЦБ *Nostoc linckia* и бактерий-спутников. Поллютанты оказывают сильное действие как на культуру ЦБ *N. linckia*, так и на состояние популяций бактерий-спутников. Действие это различно: применяемые токсиканты в любой концентрации вызывают угнетение развития фототрофной бактерии и увеличение процентного содержания в её популяции мёртвых клеток, что особенно чётко проявляется во всех вариантах с внесением ионов Ni^{2+} . В то же время с ингибированием развития *N. linckia* происходит активизация размножения бактерий-спутников [63].

Учёт численности клеток *Scenedesmus obliquus* и биомассы *N. linckia* показал, что степень угнетения альгокультуры возрастала с увеличением концентрации токсиканта – катионов Cd^{2+} в культуральной среде. Токсикант не оказывал летального действия, но, начиная с 3-х суток, размеры клеток *Scenedesmus* в опыте стали больше, чем в контроле. Авторы предполагают, что это связано с тем, что аплантоспоры, образующиеся в клетках, не выходят из материнской оболочки, которая служит защитой от ТМ. Носток стал образовывать большое число

спорообразующих клеток, которые были значительно крупнее. При концентрации токсиканта 10 мг/дм³ размеры клеток ЦБ отличались от контроля на протяжении всего времени эксперимента, хотя при других концентрациях размеры изменялись, но на непродолжительные моменты [64].

Проведены наблюдения за тератологическими изменениями ЦБ и водорослей под действием ионов Cu^{2+} и Ni^{2+} [65–69]. Основные изменения были следующие: 1) изменение окраски ЦБ на светло-жёлтую и полное обесцвечивание зелёных водорослей; 2) измельчение клеток; 3) интенсивное развитие слизи у ЦБ; 4) лизис клеток при высоких концентрациях металлов, причём клеточные оболочки зелёных водорослей сохраняются очень долго; 5) образование газовых вакуолей у ЦБ.

При исследовании действия дихромата калия в концентрациях до 10 мг/дм³ на лабораторную культуру микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* наблюдалось укрупнение средних размеров клеток, причём увеличение пропорционально повышению концентрации токсиканта в среде [70]. При изучении влияния хлоридов Cu , Ni и Mn на морфологию водоросли *Xanthonema exile* установлено, что ряд токсичности изученных металлов следующий: $Cu > Ni > Mn$. Все ТМ вызывали уменьшение длины нитей. Ионы меди (II) в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ – 10^{-2} моль/л вызывали полное разрушение клеток, а при концентрации $1 \cdot 10^{-7}$ – 10^{-6} моль/л была замечена гранулированность цитоплазмы, причём при увеличении концентрации увеличивалось число гранулированных клеток. Так, число клеток возрастало на 40–50% при концентрации меди 10^{-6} моль/л. Замечено, что при внесении ТМ прослеживалось увеличение длины клеток. Происходило изменение длины нитей и ширины клеток с увеличением концентрации ТМ [71]. Такая же реакция на действие сульфата Cu была и у морских водорослей *Platymonas arnoldii* и *Cladophora vagabunda* [72].

При изучении сравнительной токсичности ионов C^{2+} и Cd^{2+} для *Chlamydomonas reinhardtii* в различных биотестах было установлено, что общий глутатион и отношение восстановленного к окисленному глутатиону различались у клеток водоросли при экспозиции с различными металлами [73].

При изучении влияния Cu , Pb , Cd , Co , Ni и Zn -ионов было установлено, что при 20% от летальной концентрации металлоионы приводили к морфологической деформации клеток ЦБ *Anabaena variabilis* и *Synechocystis aqua-*

tilis [74]. В клетках происходили деструкция и перераспределение фикобилисом, дезинтеграция тилакоидов, снижение процентного содержания хлорофилла. Ионы Ni и Cd влияли на формирование муреинового слоя в клеточной стенке, появление внеклеточных капсул, деление клетки на неравные части. Ионы цинка специфически влияли только на *Synechocystis aquatilis*, где ионы сорбировались белками внешнего слоя клеточных капсул.

Исследование биоплёнок диатомей в загрязнённых пресноводных водоёмах показало, что органический матрикс на поверхности биоплёнки действует как барьер против вредоносного влияния ТМ на диатомовые сообщества. Действие подобного барьера осуществляется несколькими механизмами: градиентами, лимитирующими диффузию ионов Cd и Zn во внутреннюю часть биоплёнки; усилением отмирания поверхностных клеток, образующих тонкий защитный слой; продуцированием большого количества комплексирующих металлы экзополисахаридов [75].

Изучение влияния ионов Zn на клетки ЦБ *Synechococcus sp.*, *Anabaena variabilis* и *Nostoc sp.* показало, что наиболее чувствительными тест-параметрами, наблюдаемыми на электронном уровне для всех культур, являются изменение формы и размера клеток за счёт варьирования толщины и нарушения целостности пептидогликанового слоя, увеличения объёма клеток в 1,5-2 раза, расхождение тилакоидных мембран с образованием внутритилакоидных пространств, а также накопление полифосфатных и липидных гранул [50]. Наиболее уязвимыми оказываются клетки, лишённые внешних защитных приспособлений в виде слизистых чехлов.

Резистентность клеток ЦБ к действию ТМ, в частности меди, возрастает в условиях усиленного синтеза клеточных полисахаридов [76].

В условиях возрастающих концентраций Cd, Zn и Pb реакция одноклеточной зелёной водоросли *Scenedesmus bernardii* проявлялась в образовании одиночных клеток, обильной секреции слизи, встречаемости компактных ценобиов и их агрегатов [77].

Через 1 сутки экспозиции цианобактериального сообщества с доминированием ЦБ рода *Phormidium* с растворами солей меди происходит резкое увеличение доли азотсодержащих соединений (в 3,3–3,5 раза) и чуть в меньшей степени – серосодержащих (в 2,1–3,0 раза). Обращает на себя внимание тот факт, что чем выше концентрация Cu^{2+} в растворе, тем меньше доля азот- и серосодержащих ве-

ществ. К 14-м суткам вклад серосодержащих соединений в вариантах с ионами меди (II) практически сводится к нулю. При этом доля азотсодержащих соединений существенно возрастает (практически до 100%). Уменьшение серосодержащих соединений на 14-е сутки, возможно, связано с биоразложением углеводородного радикала и высвобождением соли меди с кислотным остатком, содержащим серу. Под действием ионов Cu^{2+} разнообразие соединений резко уменьшается. Через 1 сутки резко уменьшается количество углеводов, а аминов возрастает. Почти во всех вариантах увеличивается доля кетонов и уменьшается эфиров. Через 14 суток экспозиции с токсикантами в культуральной жидкости всех вариантов, подвергшихся воздействию меди, не удалось обнаружить углеводов, кислот и ангидридов, фосфорсодержащих соединений. Увеличивается количество кетонов и эфиров, по сравнению с контролем. Следует отметить, что разнообразие соединений в фильтрате снижается в ряду: контрольный вариант → 24-часовая экспозиция → 2-недельная экспозиция. Таким образом, выявлено, что полярные соединения (непредельные углеводороды, карбоновые кислоты и ангидриды кислот, фосфорорганические соединения) участвуют в связывании ионов меди (II). Ионы меди (II) стимулируют образование азотсодержащих соединений, способствующих детоксикации. Этот факт может служить биоиндикационным признаком на присутствие соединений меди в окружающей среде [62].

Влияние тяжёлых металлов на физиолого-биохимические процессы у микроорганизмов

Изменение биосинтетических процессов у МО под влиянием ТМ носит различный характер. Отмечено, в частности, что такие ТМ, как Zn и Cu, подавляли рост, снижали содержание фотосинтетических пигментов и нарушали ультраструктуру клеток зелёных микроводорослей *Chlorella pyrenoidosa* и *Scenedesmus obliquus* [30]. Cd в диапазоне концентраций 0,001-10 мг/л ослаблял жизнеспособность у зелёных водорослей *Sc. quadricauda*, *Ch. vulgaris* и ЦБ *Nostoc linckia*, снижал их фотосинтетическую активность. Предполагают, что в данном случае механизм токсичности обусловлен дестабилизацией белково-пигментного комплекса, нарушением функций пигментных систем [78]. Снижение скорости роста, содержания пигментов и активности фотосинтеза под влиянием Cu

происходило и у двух видов красных водорослей (*Gracillaria femaneiformis* и *G. lichenoides*) [79]. На примере представителя рода зелёных водорослей *Sc. quadricauda* на разных стадиях роста в широком диапазоне численности клеток (0,008-1,0000 млн. кл./мл) исследовали воздействие различных концентраций меди. Были определены минимально действующая, токсичная и летальная концентрации меди для культур с различной плотностью клеток. В результате было показано, что токсический эффект меди определяется количеством металла, приходящимся на одну клетку [80]. Влияние Cu и Pb в концентрациях 0,05; 0,5 и 1,0 мг/л исследовали на культурах *Microcystis aeruginosa* и *Ch. vulgaris*. Ионы свинца меняли темпы прироста количества клеток, их сухой массы и содержания хлорофилла а. Cu была очень токсична для *M. aeruginosa*, отмирание её клеток наблюдалось уже при концентрации 0,5 мг/л. *C. vulgaris* была более устойчива [81]. При изучении влияния Cd на диатомеи было установлено, что на фоне снижения скорости роста наблюдаются симптомы окислительного стресса, индуцированного увеличением продукции реактивных форм кислорода [82]. Действие Cu на диатомеи проявлялось в существенном повышении активности клеточной эстеразы, автофлуоресценции хлорофилла и содержании липидов [83]. При стрессах ряд микроводорослей синтезирует много триацилглицерина (до 20-50% сухой массы клетки), что происходит в результате активации фермента фосфолипид диацилглицеринацилтрансферазы, расщепляющей мембранные липиды [84].

Установлено изменение биохимической активности бактерий под влиянием свинцового загрязнения дерново-подзолистой почвы [85]. В ходе проведения модельных опытов с возрастающими концентрациями свинца (80, 800, 8000 и 80000 мг/кг) у *Bacillus idosus* и *B. mycoides* произошло существенное снижение активности таких ферментов, как протеаза, амилаза, нитратредуктаза, а также снижение аммонифицирующей способности и образования нитратов по мере увеличения свинцового стресса. Однако невысокие дозы свинца (80 мг/кг) несколько стимулировали активность энзиматического аппарата, что связывают с предположительной активизацией защитных механизмов до определённого уровня загрязнения, после которого происходят более глубокие нарушения функционирования микробных клеток, приводящие к резкому снижению и полному подавлению клеточных ферментов. Такой ТМ, как ванадий, обладает определён-

ными особенностями его токсического воздействия на ЦБ: увеличение проницаемости мембран, измеряемое по изменению (возрастанию) электропроводности среды культивирования, и увеличение каталазной активности [86]. Каталазная активность клеток *Anacystis nidulans* возрастает в течение лаг-фазы и начала экспоненциальной фазы роста, а затем снижается. Наблюдаемые изменения мембранной проницаемости и каталазной активности клеток под действием ионов ванадия предшествуют появлению видимых симптомов поражения клеток.

ТМ оказывают влияние и на состав биоэлементов в микробных клетках. Так, при обработке ЦБ р. *Nostoc* кадмием данный ТМ вызывал существенное повышение содержания Zn и Mn; добавка в среду соединений Ca оказывал защитное действие от потерь Fe, Mg и K, что объясняют антагонистической функцией кальция в отношении кадмиевого токсикоза [87].

Ингибирование процесса азотфиксации и повышение активности супероксиддисмутазы под влиянием Ni отмечено в лабораторной культуре и в природе у *Trichodesmium* [88].

Выявлены молекулярные механизмы, регулирующие потребление ионов Cu^{2+} у мицелиального гриба *Humicola lutea*, внутриклеточное их распределение, хранение и вывод из клетки. Повышенное содержание ионов ТМ приводит к ультраструктурным изменениям у гриба. Первой мишенью являются митохондрии. Действие меди на активность ключевых ферментов включают 3 основных пути метаболизма – гликолиз, пентозофосфатный цикл и цикл трикарбоновых кислот [89].

Под влиянием ТМ существенно меняется характер продуцируемых МО экзометаболитов. Очень часто это выражается в синтезе веществ, которые являются вредными для высших растений и становятся причиной токсикоза почвы. Так, например, показано, что под влиянием соединений Pb в дерново-подзолистой легкосуглинистой почве под культурами гороха и овса происходили изменения метаболических процессов у грибов р. *Alternaria*, выражающиеся в образовании токсичных для растений соединений [90].

Вторичные метаболиты, в частности, токсины, образуемые некоторыми видами динофлагеллят и ЦБ, способны блокировать поглощение меди [91].

При действии на культуры ЦБ возрастающих концентраций ионов Zn^{2+} отмечалось возрастание в среде содержания углеводов и белков [50].

В растворе с концентрацией Cu^{2+} 20 мг/дм³ биоплёнка с доминированием ЦБ р. *Phormidium* даёт существенный физиолого-биохимический отклик по определяемым показателям устойчивости (жизнеспособность клеток, каталазная активность, интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ), содержание хлорофилла *a*), что является основой для **создания биотестера**. Под воздействием Cu^{2+} через 1 час контакта концентрация хлорофилла *a* в растворе снижается, появляется феофитин, усиливается интенсивность процессов перекисного окисления липидов. Несмотря на высокую гибель клеток ЦБ, через сутки экспозиции с растворами токсикантов микроорганизмы адаптируются к возникшим экстремальным условиям, о чём свидетельствует высокая каталазная активность, снижение интенсивности процессов ПОЛ и восстановление уровня хлорофилла *a* [62]. Появление феофитина и активация каталазной активности под действием ионов меди отмечена также у природной биоплёнки с доминированием ЦБ *N. commune* [46].

Изменение на физиолого-биохимическом уровне, на уровне структуры и состава клеток естественно отражается на количественном составе и структуре микробсообществ.

Влияние тяжёлых металлов на структуру и количественный состав микробсообществ

Многочисленные альгологические, бактериологические и микологические исследования показывают, что ТМ являются активными регуляторами состава и численности природных микробных комплексов. Под влиянием конкретных ТМ происходят такие изменения, как возрастание или снижение общей численности определённых МО, увеличение или снижение видового разнообразия, смена доминирующих и соподчинённых видов и т.д.

На примере конкретных почв показано, что эти процессы во многом регулируются типом почвы, количеством органического вещества, содержащегося в ней. Так, при внесении ТМ в чернозём обыкновенный в концентрации 1 и 5 ПДК уже в течение первого месяца происходит восстановление общего количества МО до уровня контроля, что свидетельствует о формировании стабильного ценоза [92]. При действии смеси ТМ в концентрациях до 15 ПДК формирование стабильного ценоза происходит в течение двух месяцев. Однако действие высоких концентраций ТМ приводит к существенному изменению ценоза актиномицетов – их

численность не восстанавливается даже через 2 месяца после внесения токсикантов.

В аллювиальных почвах выявлена корреляционная зависимость между следующими показателями: С и N микробной биомассы, дегидрогеназной активностью, содержание общего углерода и общего азота в почве, содержанием ТМ – Cu, Pb, As. Микробная биомасса в расчёте на единицу почвенного органического вещества уменьшалась с увеличением концентрации ТМ, особенно в присутствии Cu. Также снижалась и дегидрогеназная активность с возрастанием содержания Cu [93].

При высоком содержании в водной среде As и Cu в перифитоне снижалась роль диатомовых водорослей и ЦБ и снижалось видовое разнообразие сообществ [94].

В сериях альгологических работ показано, что ТМ провоцируют явление, которое получило название цианофитизация и которое проявляется в значительном численном преобладании ЦБ над эукариотными водорослями при техногенном загрязнении почвы [95, 96]. Предлагается схема причин устойчивости ЦБ к ТМ, которые могут быть разделены на:

1) факторы внешней среды; 2) неспецифические механизмы защиты клеток и 3) специфические механизмы, возникающие в ответ на действие конкретного токсического металла [97].

Есть и другие сведения. Например, в работах флористической направленности отмечается, что такие ТМ, как Cd и Ni, внесённые в лугово-чернозёмную почву, уменьшают видовое разнообразие альгофлоры, но не влияют на её структуру: лидирующие позиции занимают зелёные водоросли, на долю которых приходится от 45 до 60% от общего видового состава [98]. Действие ТМ практически всегда проявляется в изменении комплексов МО. Чувствительными группировками являются, например, почвенные альгоценозы. Неоднократно в различных климатических зонах отмечалось, что под влиянием ТМ уменьшается видовое разнообразие микрофототрофов. Под влиянием антропогенных факторов на лидирующие позиции выходят новые виды водорослей и ЦБ, по сравнению с почвами фоновых территорий [98].

Доказано, что при воздействии различных солей ТМ наблюдается перераспределение диатомовых водорослей в бациллярноценозе: полидоминантное сообщество диатомовых водорослей, наблюдаемое в контроле, при внесении ТМ постепенно превращается в монодоминантное, т.е. вдоль вектора загрязнения из сообщества

последовательно «выбивались» виды, обладающие разной чувствительностью [99].

В водной среде на примере техногенно загрязнённой реки было установлено, что при высоком содержании в среде As и Co в перифитоне происходили изменения таксономического состава перифитона; снижалась роль диатомовых водорослей и нитчатых ЦБ, снижалось видовое разнообразие сообщества, в котором доминировали одиночные ЦБ [94].

На листьях винограда отмечалось обильное развитие меланизированных грибов, обладающих устойчивостью к сульфату меди, используемому для фитосанитарной обработки виноградников [100].

Прикладной аспект в исследовании действия ТМ на МО проявляется в попытке их использования для очистки ОС от нежелательных видов. До сих пор большой проблемой является «цветение» воды, вызванное массовым размножением цианобактерий. При оценке эффективности сульфата меди, хлора, перманганата калия, перекиси водорода и озона в отношении *Microcystis aeruginosa* было показано, что сульфат меди не только нарушал жизнеспособность клеток ЦБ, но и проявлял сильнейший альгистатический потенциал через 7 суток после обработки [101].

Установлено что диоксид титана обладает антифунгальным действием и способствует снижению скорости роста фитопатогенного гриба *Fusarium oxysporum* на 8-13% от контроля в зависимости от его концентрации [102].

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ МК-3964.2015.5.

Литература

1. Ким К.В., Канг С.Ю. Бактериальная биосорбция микроэлементов // Микроэлементы в окружающей среде: биогеохимия, биотехнология и биоремедиация / Под ред. М.Н.В. Прасада и др. М.: ФИЗМАТЛИТ, 2009. С. 381–386.
2. Veglio F., Beolchini F. Removal of metals by sorption: a review // Hydrometallurgy, 1997. V. 44. P. 301–316.
3. Ledin M. Accumulation of metals by microorganisms – process and importance for soil systems // Eath Sci. Rev. 2000. V. 51. P.1–31.
4. Robinson N.J., Whitehall S.K., Cavet J.S. Microbial metallothioneins // Adv. Microbiol. Phisiol. 2001. V. 44. P. 173–213.
5. Gadd G.M. Bioremedial potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization // Curr. Opin. Biotechnol. 2000. V. 11. P. 271–279.
6. Vails M., de Lorenzo V. Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for the remediation of

heavy metal pollution // FEMS Microbiol. Rev. 2002. V. 26. P. 327–338.

7. Kotrba P., Ruml T. Bioremediation of heavy metal pollution exploiting constituents, metabolites and metabolic pathways of livings // Collect. Czech. Chem. Commun. 2000. V. 65. P. 1205–1247.

8. Basnakova G., Macaskie L. E. Accumulation of zirconium and nickel by *Citrobacter* sp. // J. Chem. Technol. Biotechnol. 1999. V. 74. P. 509–514.

9. Flemming H. C. Sorption sites in biofilms // Water Sci. Tech. 1995. V. 32. P. 27–33.

10. Beveridge T.I., Fyfe W. S. Metal fixation by bacterial cell walls // Can. J. Earth Sci. 1985. V. 22. P. 1893–1898.

11. Gadd G.M. Metals and microorganisms // FEMS Microbiol. Lett. 1992. V. 100. P. 197–204.

12. Volesky B. Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century // Hydrometallurgy. 2001. V. 59. P. 203–216.

13. Kuyucak N., Volesky B. Accumulation of cobalt by marine alga // Biotechnol. Bioeng. 1989. Ч. 33. P. 809–814.

14. White C., Wilkinson S. C., Gadd G.M. The role of microorganisms in biosorption of toxic metals and radionuclides // Int. Biodeterior. Biodegr. 1995. V. 35. P. 17.

15. Tsezos M., Volesky B. Biosorption of uranium and thorium // Biotechnol. Bioeng. 1981. V. 23. P. 583–604.

16. Beveridge T.J. Role of cellular design in bacterial metal accumulation and mineralization // Annu. Rev. Microbiol. 1989. V. 43. P. 147–171.

17. Nourbakhsh M.N. et al. Biosorption of Cr⁶⁺, Pb²⁺, Cu²⁺ ions in industrial waste water on *Bacillus* sp. // Chem. Eng. J. V.85. 2002. P. 351–355.

18. Kang S. Y., Lee J. U., Kim K. W. Selective biosorption of chromium (III) from wastewater by *Pseudomonas aeruginosa* // The 227th American Chemical Society National Meeting, Anaheim Division of Environmental Chemistry. 2004. ENVR. 91.

19. Marqués R. X., Simon-Pujol D.M., Fuste M. C., Congregado F. Uranium accumulation by *Pseudomonas* sp. EPS-5028 // Appl. Microbiol. Biotechnol. 1991. V. 35. P. 406–410.

20. Christensen B.E. The role of extracellular polysaccharides in biofilms // J. Biotechnol. 1989. V. 10. P. 181–202.

21. Loaec M., Olier R., Guezennec J. G. Uptake of lead, cadmium and zinc by a novel bacterial exopolysaccharide // Water Res. 1997. V. 31. P. 1171–1179.

22. Rao C.R.N., Lyengar L., Venkobachar C. Sorption of copper (II) from aqueous phase by waste biomass // J. Environ. Eng. 1993. V. 119. P. 369–377.

23. Ledin M., Krantz-Rulcker C., Allard B. Microorganisms as metal sorbents. Comparison with other soil constituents in multi-compartment systems // Soil Biol. and Biochem. 1999. V. 31. № 12. P. 1639-1648.

24. Kayser G., Koeckritz T., Markert B. Bioleaching zur Reinigung schwermetallbelasteter Boden mit *Thiobacillus* spp. // Wasser und Boden. 2001. V. 53. № 1-2. P. 54-58.

25. Каравайко Г.И., Захарова В.И., Авакян З.А., Стрижко Л.С. Селективное извлечение благородных металлов из растворов микроорганизмами // Прикл. биохим. и микробиол. 1996. Т. 32. № 5. С. 562–566.
26. Tripathi V.N., Strivastova S. Ni²⁺-uptake in *Pseudomonas putida* strain S4: A possible role of Mg²⁺-uptake pump // J. Biosci. 2006. V. 31. № 1. P. 61-67.
27. Карамушка В.И., Грузина Т.Г., Ульберг З.Р. Особенности биосорбции тяжёлых металлов из смешанных растворов клетками *Spirulina platensis* // Коллоид. ж. 1998. Т. 60. № 3. С. 327-330.
28. Quintelas C., Tavares T. Lead (II) and Iron (II) removal from aqueous solution: Biosorption by a bacterial biofilm // Resour. and Environ. Biotechnol. 2002. V. 3. № 4. P. 193-202.
29. Weiner R., Kovach J., Chang E., Walch M. Influence of microbial biofilms on the cycling and impact of heavy metals // 37th Conf. Int. Assoc. Great Lakes Res. and Estuarine Res. Fed. Windsor, 1994. P. 99.
30. Zhou Guang-Cu, Peng Fu-Qiang, Zhang Li-Juan, Ying Guang-Guo Biosorption of zinc and copper from aqueous solutions by two freshwater green microalgae *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus* // Environ. Sci. and Pollut. Res. 2012. V. 19. №7. P. 2918-2929.
31. Голтвянский А.В. Биоаккумуляция ионов металлов клетками *Dunaliella viridis* Teod. (Chlorophyta) // Альгология. 1999. Т. 9. № 2. С. 33.
32. Saygideger S. Bioaccumulation and toxicity of zinc in *Spirogyra fluviatilis* Hilse (Chlorophyta) // Water, Air and Soil Pollut. 1998. V. 101. № 1-4. P. 323-331.
33. Paperi R., Micheletti E., De Phillppis R. Optimizatiuon of copper sorbing-desorbing cycles with confined cultures of the exopolysaccharide-praducing cyanobacterium *Cyanospira capsulatan* // J. Appl. Microbiol. 2006. V. 101. № 6. P. 1351-1356.
34. Parker D.L., Michalick J.E., Plude J.L., Plude M.J., Clark T.P., Egan L., Flom J.J., Rau L.C., Kumar H.D. Sorption of metals by extracellular polymers from the cyanobacterium *Mycrocystis aeruginosa* f. *flos-aquae* strain C3-40 // J. Appl. Phycol. 2000. V. 12. № 3-5. P. 219-224.
35. Ровбель Н.М., Гочарова И.А., Бабицкая В.Г., Соколова Т.В. Томсон А.Э. Биосорбция ионов тяжёлых металлов грибами *Alternaria alternate* и *Aspergillus carbonarius* // Микробиология и биотехнология на рубеже 21 столетия. Матер. междунар. конф. Минск, 2000. С. 78-79.
36. Роуз Э. Химическая микробиология. М.: Мир, 1971, 291 с.
37. Патент РФ. 2501745 «Способ очистки водного раствора, содержащего соль меди, от ионов меди».
38. Патент РФ. 2521653 «Способ очистки водного раствора, содержащего соль никеля, от ионов никеля».
39. Пешкур Т.А. Оптимальные условия эффективного извлечения цезия бактериями рода *Rhodococcus* // Охрана природы и здоровья человека. – Оренбург. 2000. С. 50-52.
40. Tomioka N., Uchiyama H., Yagi O. Cesium accumulation and growth characteristics of *Rhodococcus erythropolis* CS98 and *Rhodococcus* sp. strain CS402 // Appl. Env. Microbiol. 1994. V. 14, 2. P. 283-290.
41. Патент РФ. 2216525 «Способ микробиологической очистки сточных вод промышленных предприятий от ионов тяжелых металлов: цинка, кадмия и свинца».
42. Aristilde L., Xu Y., Morel F. M. M. Weak Organic Ligands Enhance Zinc Uptake in Marine Phytoplankton // Environ. Sci. Technol. 2012. V. 46 (10). P. 5438–5445.
43. Фокина А.И., Лялина Е.И., Ашихмина Т.Я., Жаворонков В.И., Петраш В.В., Данилов Д.Н. Исследование состава, устойчивости и токсичности медьсодержащих соединений глутатиона в водном растворе // Фундаментальные исследования. 2014. № 9 (часть 4). С. 757-762.
44. Quigg A., Chin W.C., Chen C.S., Zhang S., Jiang Y., Miao A.J., Schwehr K.A., Xu C., Santschi P.H. Direct and Indirect Toxic Effects of Engineered Nanoparticles on Algae: Role of Natural Organic Matter // ACS Sustainable Chem. Eng. 2013. V. 1 (7). P. 686–702
45. Бурукаева А. Д., Русанов А.М., Лантух В.П. Роль микроорганизмов в очистке сточных вод от тяжёлых металлов. Оренбург, 1999. 53 с.
46. Горностаева Е.А., Фокина А.И., Кондакова Л.В., Огородникова С.Ю., Домрачева Л.И., Лаптев Д.С., Сластинова Е.М. Потенциал природных биоплёнок *Nostoc commune* как сорбентов тяжёлых металлов в водной среде // Вода: химия и экология. 2013. № 1. С. 93–101.
47. Фокина А.И., Черезова К.О., Кузнецова Е.О., Лялина Е.И. Тактика исследования трансформации соединений меди и никеля в клетках почвенных цианобактерий // Закономерности функционирования природных и антропогенно трансформированных экосистем: Материалы всерос. науч. конф. Киров, 2014. С. 305–309.
48. Avery S.V., Howlett N.G., Radice S. Copper toxicity towards *Saccaromyces cerevisiae*: Dependence on plasma membrane fatty acid composition // Appl. and Environ. Microbiol. 1996. V. 62. № 11. P. 3960-3966.
49. Левин С.В., Гузев В.С., Асеева И. В., Бабьева И.П., Марфенина О.Е., Умаров М.Н. Тяжелые металлы как фактор антропогенного воздействия на почвенную микробиоту // Микроорганизмы и охрана почв. М.: Изд-во МГУ. 1989. С. 5–14.
50. Савельев И.Б., Селях И.О. Влияние ионов цинка на морфологию и ультраструктуру клеток цианобактерий // Автотрофные микроорганизмы: Материалы междунар. науч. конф. М.: МАРС Пресс. 2000. С. 159–160.
51. Багаева Т.В., Ионова Н.Э., Надеева Г.В. Микробиологическая ремедиация природных систем от тяжелых металлов. Казань: Казанский университет, 2013. 56 с.
52. Chakravarty R., Banerjee P. C. Morphological changes in an acidophilic bacterium induced by heavy metals // Extremophiles. 2008. Т. 12. № 2. P. 279–284.
53. 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. № 2. P. 742–748.

54. Neumann G., Veeranagouda Y., Karegoudar T.B., Sahin O., Mausezahl I., Kabelitz N., Kappelmeyer U., Heipieper H.J. Cells of *Pseudomonas putida* and *Enterobacter* sp. adapt to toxic organic compounds by increasing their size // Extremophiles. 2005. V. 9. P. 163–168.

55. Nepple B.B., Flynn I., Bachofen R. Morphological changes in phototrophic bacteria induced by metalloid oxyanions // Microbiol Res. 1999. V. 154. P. 191–198.

56. Choudhary M., Jetley U.K., Khan M.A., Zutshi S., Fatma T. Effect of heavy metal stress on proline, malondialdehyde, and superoxide dismutase activity in the cyanobacterium *Spirulina platensis* S5 // Ecotoxicology and environmental safety. 2007. T. 66. №. 2. P. 204–209.

57. Зарипова Л.Х. Биология и экология почвенной цианобактерии *Cylindrospermum michailovskoënsë* (CYANOPROKARYOTA). Автореф. дис. ... канд. биол. наук: Уфа, 2009.

58. Огородникова С.Ю., Зыкова Ю.Н., Березин Г.И., Домрачева Л.И., Калинин А.А. Комплексная оценка состояния цианобактерий *Nostoc paludosum* Kutz при воздействии различных поллютантов // Теоретическая и прикладная экология. 2010. № 3. С. 47–52.

59. Волошко Л.Н., Гаврилова О.В. Чувствительность *Synechocystis aquatilis* Sauv. (Cyanophyta) к ионам цинка // Альгология. 1992. Т. 2. № 1. С. 77–80.

60. Богачева, А.С. Чувствительность цианобактерий к токсическому действию солей тяжёлых металлов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Санкт–Петербург. 2011.

61. Домрачева Л. И., Кондакова Л. В., Пегушина О. А., Фокина А. И. Биоплёнки *Nostoc commune* – особая микробная сфера // Теоретическая и прикладная экология. 2007. № 1. С. 15–19.

62. Гребёнкина О.Н., Фокина А.И., Жмак М.С., Огородникова С.Ю., Васильева А.Н. Исследование влияния ионов меди и никеля на почвенные цианобактерии // Закономерности функционирования природных и антропогенно трансформированных экосистем: Материалы всероссийской научной конференции. Киров, 2014. С. 193–197.

63. Зыкова Ю.Н., Фокина А.И., Домрачева Л.И. Развитие цианобактерии *Nostoc linckia* и бактерий-спутников при действии никеля и нефтепродуктов // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: Труды международной конференции. Владикавказ. 2011. С. 21–25.

64. Рублева И. М., Жарова О. А., Светлова А. Э., Ульданова А. И. Устойчивость низших растений к действию тяжёлых металлов // Эколого-биологические проблемы Воляжского региона и Северного Прикаспия: Мат-лы V-й Всероссийской науч. конф. Астрахань, 2002. С. 165–167.

65. Штина Э.А., Андропова М.Ф. Почвенные водоросли как индикаторы загрязнения почвы промышленными выбросами // Бюл. Почвенного института им. В.В. Докучаева. 1983. Вып. 35. С. 58–72.

66. Штина Э.А., Неганова Л.Б., Ельшина Т.А., Шилова И.И., Андропова М.Ф. Особенности почвенной альгофлоры в условиях техногенного загрязнения // Почвоведение. 1985. № 10. С. 97–106.

67. Штина Э.А., Евдокимова Г.А. Реакция водорослей на загрязнение почвы тяжёлыми металлами // Биологические проблемы Севера: Тез. докл. XXI Всесоюзн. Симп. Якутск, 1986. Вып. 2. С. 92–93.

68. Штина Э.А. Микроскопические водоросли как индикаторы загрязнения почвы токсическими веществами // Тр. ВНИИСХ Микробиологии. Л. 1987. С. 45–46.

69. Штина Э.А. Водоросли как экологические индикаторы // Водная токсикология и радиоэкология. 1990. Т. 26. № 5. С. 93–96.

70. Артюхова В.И., Дмитриева А.Г., Филленко О.Ф., Ицзюнь Ч. Последствие действия бихромата калия на культуру *Scenedesmus quadricauda* (Turpin) Vreb. (Chlorophyta) при изменениях токсической нагрузки // Альгология. 1996. Т. 6. №2. С.142–149.

71. Гайсина Л. А., Фазлутдинова А.И., Кабиров Р.Р. Популяционная альгология. Уфа: Гилем, 2008. 152 с.

72. Ткаченко Ф.П., Кирсанова Е. В. Влияние тяжёлых металлов (Cd, Cu, Hg) на морфофизиологические показатели у зелёных водорослей *Cladophora vagabunda* (L.) Hoek и *Platymonas arnoldii* (Proch. – Lavr.) Matv. // I съезд гидробиологов Молдавии: Тез. докл. Кишинев, 1986. С. 97–99.

73. Stoiber T.L., Shafer M.M., Armstrong D.E. Differential effects of copper and cadmium exposure on toxicity endpoints and gene expression in *Chlamydomonas reinhardtii* // Environ. Toxicol. and Chem. 2010. V. 29. № 1. P. 191–200.

74. Voloshko L.N., Gavrilova O.V. Influence of heavy metals over growth cuves and ultrastructure of blue-green algae // 15th Int. Congr. Yokogama. Aug. 28 Sept. 1993. P. 3287.

75. Soizic M., Duony T.T., Boutry S., Coste M. Modulation de la toxicité des métaux vis-à-vis du development des biofilms de cours d'eau (basin versant de Decazeville, France) // Coste Michel. Cryptogamie. algol. 2008. V. 29. № 3. P. 201–216.

76. Хасанова Л.А., Иванов А.Ю., Полякова Л.Р., Яппарова Э.И., Хасанова З.М. Изучение устойчивости клеток *Anacystis nidulans* Drouert (Cyanophyta) // Альгология. 1999. Т. 9. №2. С. 150.

77. Димитрова-Дюлгерова И., Иванова Д., Стоянов П., Тенева И., Белкинова Д. *Scenedesmus bernardtii* G.M. Smith – чувствительный биоиндикатор за наличие на тежке метали във води // Науч. тр. Биол.- Plant. Пловдив. унив. 2011. Т. 41. № 6. С. 125–140.

78. Рублева И.М., Ирбе И.К., Мерещанова А.Ю., Басова Е.Е. Фотосинтез как индикатор устойчивости альгокультуры к тяжёлым металлам // I Всерос. конф. фотобиологов. Пуцзино, 28–30 мая 1996. Пуцзино. 1996. С. 45–46.

79. Huang H., Liang J., Wu X., Zhang H., Li Q., Zang Q. Comparison in copper accumulation and physiological

responses of *Gracillaria femaneiformis* and *G. lichenoides* (Rhodophyceae) // Chin. J. Oceanol. and Limnol. 2013. V. 31. № 4. P. 803-812.

80. Шавырина О.Б., Гапочка Л.Д. Устойчивость *Scenedesmus quadricauda* к воздействию меди в зависимости от фазы роста и плотности культуры // Гидробиотика: Тр. 5 Всерос. конф. по водным растениям. Борок, 10-13 окт. 2000. Борок. 2000. С. 91-92.

81. Ключенко П.Д., Медведь В.А. Влияние свинца и меди на некоторые показатели жизнедеятельности зелёных и синезелёных водорослей // Гидробиол. ж. 1999. Т. 35. № 6. С. 52-62.

82. Morelli E., Cioni P., Posarelli M., Gabellieri E. Chemical stability of CdSe quantum dots in seawater and their effects on a marine microalga // Aquat. Toxicol. 2012. V. 122-123. P. 153-162.

83. Lelong A., Jolley D.F., Soudant P., Hegaret H. Impact of copper exposure on *Pseudo-nitzschia spp.* physiology and domoic acid production // Aquat. Toxicol. 2012. V. 1 18-119. P. 37-47.

84. Kangsup Y., Danxiang H., Yantao L., Sommerfeld M., Qiang H. Phospholipid: Diacylglycerol acyltransferase is a multifunctional enzyme involved in membrane lipid turnover and degradation while synthesizing triacylglycerol in the unicellular green microalga *Chlamydomonas reinhardtii* // Plant Cell. 2012. V. 24. № 9. P. 3708-3724.

85. Довлетярова Э.А. Изменение биохимической активности бактерий под влиянием свинцового загрязнения дерново-подзолистой почвы // Докл. ТСХА (Московская с.х. акад. им. Тимирязева). М., 2004. Вып. 276. С. 342-346.

86. Саванина Я.В., Лебедева А.Ф. Использование микроводорослей для определения токсичности ванадия // Альгология. 1999. Т. 9. № 2. С. 129.

87. Fernandez-Pinas F., Mateo P., Bonilla I. Effect of cadmium on the bioelement composition of *Nostoc UAM208*: Interaction with calcium // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. 1997. V. 58. № 4. P. 543-549.

88. Ho T.-Y. Nickel limitation of nitrogen fixation in *Trichodesmium* // Limnol. and Oceanogr. 2013. V. 58. №1. P. 112-120.

89. Krumova E.T., Stoitsova S.R., Paunova-Krasteva T.S., Pashova S.B., Angelova M.B. Copper stress and filamentous fungus *Humicola lutea* 103 – ultrastructural changes and activities of key metabolic enzymes // Can. J. Microbiol. 2012. V. 58. № 12. P. 1335-1343.

90. Мосина Л.В., Давлетярова Э.А. Тяжёлые металлы в почве как источник опасности микотоксинов // Докл. ТСХА. 2012. № 284. Ч. 1. С. 207-209.

91. Cusick K.D., Weyzel R.K., Minkin S.C., Dodani S.C., Wilhelm S.W., Saylor G.S. Paralytic shellfish toxins

inhibit copper uptake in *Chlamydomonas reinhardtii* // Environ. Toxicol. and Chem. 2013. V. 32. № 6. P. 1388-1395.

92. Сыщиков О.В., Гришко В.Н. Действие тяжёлых металлов на количественный состав микробценоза чернозёма обыкновенного // Экология и биология почв. Ростов-на-Дону. 2004. С. 275-279.

93. Masakazu A., Toshiyuki N. Factors affecting microbial biomass and dehydrogenase activity in apple orchard soils with heavy metal accumulation // Soil Sci. and Plant Nutr. 1996. V. 42. № 4. P. 821-831.

94. Genter R.B., Lehman R.M. Metal toxicity inferred from algal population density, heterotrophic substrate use, and fatty acid profile in a small stream // Environ. Toxicol. and Chem. 2000. V. 19. № 4. P. 869-878.

95. Кондакова Л.В. Альго-цианобактериальная флора и особенности её развития в антропогенно нарушенных почвах (на примере почв подзоны южной тайги Европейской части России): Автореф. ... дис. докт. биол. наук. Сыктывкар, 2012. 34 с.

96. Карапун М.Ю., Камуквамбе М., Мусаева Ж.К. Альгобактериальные сообщества почв промышленной зоны г. Актау (Республика Казахстан) // Биодиагностика в экологической оценке почв и сопредельных сред: Тезисы докл. Междун. конф., Москва, 4-6 февр. 2013. М. 2013. С. 90.

97. Гусев М.В., Лебедева А.Ф., Саванина Я.В., Барский Е.Л. Устойчивость культур цианобактерии *Anacyctis nidulans* и микроводоросли *Dunaliella maritime* к токсическому действию ванадия: влияние фосфата, железа и цистеина // Вест. МГУ, 1997. Сер. 16. № 2. С. 17-21.

98. Трубина Н.К. Влияние кадмия и никеля на видовой состав альгофлоры лугово-чернозёмной почвы Омского Прииртышья // Совр. состояние чернозёма: Матер. Междунар. научной конф. Ростов-на-Дону, 24-26 сент., 2013. Ростов-на-Дону. 2013. С. 3116-318.

99. Фазлутдинова А.И. Влияние солей тяжёлых металлов на состояние комплексов почвенных *Bacillariophyta* // Проблемы ботан. на рубеже 20-21 веков. 1998. С. 119-120.

100. Grube M., Shmidt F., Berg G. Black fungi and associated bacterial communities in the phyllosphere of grapevine // Fungal Biol. 2011. V. 115. 10. P. 978-986.

101. Fan J., Ho L., Hobson P., Brookes J. Evaluation the effectiveness of copper sulfate, chlorine, potassium permanganate, hydrogenate peroxide and ozone on cyanobacterial cell integrity // Water Res. 2013. V. 47. №14. P. 5153-5164.

102. Сухушина А.О., Минаева О.М. Влияние наночастиц диоксида титана на скорость роста гриба *Fusarium oxysporum* // Проблемы современной биологии: Матер. 10 Междунар. научно-практ. конф. Москва, 15 окт., 2013. М. 2013. С. 25-27.