

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев ГСП, Д03680, Украина*

МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ БАКТЕРИЙ К ИОНАМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

В ходе эволюции бактерии адаптировались к повышенному содержанию ионов металлов в окружающей среде. Выделяют пять основных механизмов устойчивости бактерий к ионам тяжелых металлов: внеклеточный барьер, активный транспорт ионов металлов из клетки (эффлюкс), внеклеточная секвестрация, внутриклеточная секвестрация, восстановление ионов металлов. Генетические детерминанты устойчивости к ионам тяжелых металлов могут быть локализованы как на бактериальных хромосомах, так и внехромосомных генетических элементах. Большую роль в распространении устойчивости к ионам металлов среди бактерий играет горизонтальный перенос генов.

Процессы взаимодействия между бактериями и ионами тяжелых металлов представляют огромный интерес не только с точки зрения фундаментальной науки, но и в качестве возможного применения в биотехнологических процессах.

Ключевые слова: устойчивость, бактерии, ионы тяжелых металлов, механизмы.

Тяжелые металлы являются важной составной частью земной коры. Многие ионы тяжелых металлов необходимы для нормального функционирования живых организмов. Так, медь исполняет роль кофактора во многих биохимических реакциях [85]; медьсодержащие белки принимают участие в таких важных процессах, как дыхание, транспорт железа, защита от свободных радикалов [101]. Другими примерами металлсодержащих ферментов служат нитрогеназа (Mo/Fe или V/Fe), бактериохлорофилл (Mg), супероксиддисмутазы (Fe, Mn, Cu или Zn), цитохромы (Fe) и целый ряд других [36]. Многие бактерии способны использовать некоторые металлы и металлоиды в качестве доноров или акцепторов электронов в энергетическом обмене [32, 80, 113].

В то же время, даже такие жизненно необходимые микроэлементы в повышенных концентрациях могут быть токсичными для клеток. Токсичность ионов металлов может быть связана с генерацией в клетке ряда радикальных соединений (Cu), формированием прочных связей между ионами металлов и сульфгидрильными группами белков (Cu, Cd, Pb), стереохимическим конкурированием ($\text{VO}_4^{3-}/\text{PO}_4^{3-}$) и рядом других механизмов [104].

В ходе эволюции бактерии адаптировались к повышенному содержанию ионов металлов в местах залежей руд, в гидротермальных источниках и местах обитания вблизи действующих вулканов. Такая адаптация обеспечила появление у бактерий ряда механизмов защиты чувствительных компонентов от действия ионов тяжелых металлов. Устойчивость бактерий к металлу может быть обусловлена несколькими факторами, а именно: типом и количеством путей транспорта ионов металла в клетку, локализацией генов устойчивости на хромосоме, плазмиде или транспозоне, ролью ионов металла в нормальном метаболизме клетки [19]. Согласно Bruins et al., Choudhury et Srivastava, для бактерий характерно несколько механизмов устойчивости к ионам металлов, при этом один штамм может одновременно обладать разными механизмами защиты:

- внеклеточный барьер;
- активный транспорт ионов металлов из клетки (эффлюкс);
- внеклеточная секвестрация;
- внутриклеточная секвестрация;
- восстановление ионов металлов [19, 27].

Внеклеточный барьер как способ предотвращения попадания ионов металлов в клетку. Клеточная стенка, мембрана или капсула могут препятствовать попаданию ионов металлов внутрь клетки. Бактерии, принадлежащие к разным таксономическим группам, могут связы-

© О.Д. Янева, 2009

вать ионы металлов поляризованными группами клеточной стенки или капсулы (фосфатными, карбоксильными, гидроксильными и аминогруппами) [37, 123]. Такая сорбция является пассивным процессом, мертвые клетки бактерий также способны связывать ионы металлов [93, 130]. Было показано, что убитые прогреванием клетки бактерий обладали аналогичной или более высокой сорбционной способностью, что и жизнеспособные клетки [37, 94, 139]. Высокий уровень пассивной сорбции ионов тяжелых металлов наблюдали у нежизнеспособных клеток *Pseudomonas putida* [93], *Brevibacterium* sp. [123], *Bacillus* sp. [46]. Некоторые авторы отмечают, что аккумуляция ионов металлов жизнеспособными клетками бактерий происходит в 2 этапа – быстрая неспецифическая сорбция на поверхности клеточной стенки и позднее длительная аккумуляция ионов металлов в цитоплазме [43, 74].

Ионы тяжелых металлов также могут связываться капсульными полимерами бактерий, преимущественно карбоксильными группами полисахаридов. Способность связывать ионы металлов внеклеточными биополимерами наблюдали у *Enterobacter chloaceae* [58], *Marinobacter* sp. [15], *Klebsiella aerogenes* [109], *Acinetobacter* sp. [8]. Было показано, что клетки *Pseudomonas aeruginosa*, образующие биопленку, обладали значительно более высокой устойчивостью к ионам меди, свинца и цинка по сравнению со свободно плавающими клетками, при этом клетки на периферии биопленки утрачивали жизнеспособность. Полимерные соединения биопленки связывали ионы металлов, предотвращая их попадание внутрь биопленки [124]. Kazy et al. изучали синтез экзополисахаридов (ЭПС) клетками устойчивого и чувствительного к действию ионов меди штаммов *P. aeruginosa*. Было показано, что устойчивый штамм синтезировал в 2 раза больше ЭПС, чем чувствительный. Индукция ионами меди стимулировала продукцию ЭПС и способность связывать ионы меди у клеток устойчивого штамма [60]. Однако имеются данные и про ингибирующее действие ионов металлов на синтез ЭПС бактериями. Так, Richau et al. получили ряд мутантов *Sphingomonas paucimobilis*, устойчивых к меди и дефектных по синтезу ЭПС геллана [102]. Поскольку для синтеза ЭПС клетка тратит значительное количество энергии, авторы объясняли повышенную устойчивость полученных мутантов к ионам меди снижением скорости роста бактерий и возможностью направить сохраненную энергию на защиту от действия ионов меди. Huang et Stuart показали ингибирующее действие соединений висмута на биопленку, образованную клетками *P. aeruginosa* [55].

Попаданию ионов металлов внутрь клетки также может препятствовать изменение проницаемости мембраны. Например, у мутантных штаммов *Escherichia coli*, устойчивых к ионам серебра, наблюдали отсутствие в мембране поринов (белков, образующих поры в цитоплазматической мембране) и низкую способность аккумулировать в клетке серебро [65].

Активный транспорт ионов металлов из клетки (эффлюкс). Активный транспорт или, иначе говоря, эффлюкс представляет наиболее обширную группу систем устойчивости бактерий к ионам металлов. Путем активного транспорта бактерии могут выводить ионы металлов из клетки. Эффлюксные системы могут кодироваться как хромосомными [42, 64, 136], так и плазмидными генетическими детерминантами [49, 86]. Ионы некоторых металлов могут попадать в клетку, используя транспортные системы необходимых клетке ионов: так, хромат попадает в клетку через систему транспорта сульфата [24], а ионы кадмия, цинка, кобальта, никеля и марганца транспортируются в клетки *Ralstonia metallidurans* (*Alcaligenes eutrophus*) через системы транспорта ионов магния [83]. Для экспорта ионов металлов системы эффлюкса используют энергию АТФ [99] или хемиосмотического градиента [84]. В состав систем эффлюкса могут входить белки, принадлежащие к 3 семействам: RND (resistance, nodulation, cell division – резистентность, образование клубеньков, деление клеток), CDF (cation diffusion facilitator – облегченная катионная диффузия) и АТФазы Р-типа. АТФазы Р-типа и CDF белки грамотрицательных бактерий переносят специфические для них субстраты через цитоплазматическую мембрану в периплазматическое пространство. Следует отметить, что АТФазы Р-типа транспортируют в основном ионы металлов, которые связывают сульфгидрильные группы (Cu^+/Ag^+ , $\text{Zn}^{2+}/\text{Cd}^{2+}/\text{Pb}^{2+}$), а CDF-белки специфически взаимодействуют с ионами двухвалентных металлов (Zn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} и Fe^{2+}). На следующем этапе транспортные комплексы, образованные RND-белками, переносят катионы из периплазматического пространства через наружную мембрану [87].

Оперон *czc* мультирезистентного штамма *R. metallidurans* CH34, обеспечивающий устойчивость к ионам меди, кобальта и цинка, кодирует наиболее изученную систему эффлюкса,

которая использует энергию хемиосмотического градиента. Белковый комплекс CzcCB₂A состоит из 3 субъединиц CzcC, CzcB и CzcA. CzcA – это RND-белок, выполняющий роль катион-протонного антипортера; CzcB, являющийся димером, функционирует как «мост» между цитоплазматической и наружной мембранами. Несмотря на то, что белок CzcA может самостоятельно обеспечить некоторую устойчивость штамма к ионам тяжелых металлов, CzcC и CzcB необходимы для полноценного функционирования данной системы эффлюкса [86].

В состав семейства транспортных белков АТФаз Р-типа входят переносчики моновалентных и двухвалентных ионов металлов. АТФазы СРх-типа, принимающие участие в эффлюксе Cu⁺ и Ag⁺, обнаружены у *Enterococcus hirae* (CopA и CopB) [88], *Streptococcus mutans* [129] и ряда других бактерий. У *E. coli* была найдена гомологичная по строению АТФазная помпа CopA [99]. К АТФазам Р-типа, экспортирующим двухвалентные катионы, также относят белки CadA та ZntA. Белок CadA обеспечивает устойчивость к ионам кадмия и был обнаружен у *Staphylococcus aureus* [38, 89] и *P. putida* [64].

Геном штамма *P. putida* КТ2440 был проанализирован на наличие генетических детерминант устойчивости к ионам тяжелых металлов; было идентифицировано несколько систем эффлюкса ионов меди и кадмия, в том числе и хемиосмотические системы эффлюкса, гомологичные системе *czc R. metallidurans*, АТФазы Р-типа *cadA*, обеспечивающие устойчивость к ионам меди и кадмия, и две системы устойчивости к моновалентным катионам (Cu⁺/Ag⁺), а также системы *cadAB*, гомологичные системе *cop P. syringae* и целый ряд систем гомеостаза и устойчивости к другим ионам металлов [20]. Система *czrCBA* обеспечивает устойчивость штамма *P. aeruginosa* SMG103 к ионам кадмия и цинка [52]; на хромосоме *P. aeruginosa* была обнаружена система устойчивости к ионам кадмия, цинка и кобальта *czcCBA* [95], для обеих систем была характерна высокая гомология к системе *czc R. metallidurans*. Белок CadA штамма *P. putida* вместе с продуктом регуляторного гена *cadR* обеспечивает устойчивость к ионам свинца, цинка и кадмия и гомологичен АТФазам грамположительных бактерий, транспортирующим ионы кадмия, и белку ZntA *E. coli*. Оба гена были локализованы на хромосоме [64].

Для некоторых штаммов бактерий характерен двойственный характер устойчивости к ионам металлов, когда наряду с системой эффлюкса задействованы другие системы устойчивости. Так, штамм *P. putida* S4 переносит ионы меди из цитоплазмы АТФ-зависимой системой эффлюкса с последующим связыванием их в периплазматическом пространстве [108]. Еще одним примером таких дуалистических систем служит система устойчивости к мышьяку *ars*, которая состоит из 3–5 генов и обнаружена как среди грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. *Ars*-оперон кодирует АТФазный насос (*ArsA/ArsB*) и редуктазу *ArsC*. Перед эффлюксом арсенат ферментатически восстанавливается до арсенита цитоплазматической арсенат-редуктазой *ArsC* и выводится из клетки через цитоплазматическую мембрану системой эффлюкса [79].

Внутриклеточная секвестрация. Внутриклеточная секвестрация – это связывание ионов металлов биополимерами в цитоплазме клетки. У эукариот известны два типа белков, способных секвестрировать ионы металлов – металлотионеины и фитохелатины, которые содержат большое количество остатков цистеина и связывают ионы металлов сульфгидрильными группами [96]. Фитохелатины – это низкомолекулярные белки, которые состоят из 5–11 аминокислотных остатков и синтезируются из глутатиона, встречаются преимущественно у грибов и растений [28]. Среди прокариот способность синтезировать металлотионеин характерна для цианобактерии *Synechococcus* sp. PCC 7942, однако этот белок содержит гораздо меньше остатков цистеина по сравнению с аналогичным белком эукариот. Синтез металлотионеина *Synechococcus* sp. кодируется двумя генами *smtA* и *smtB* и индуцируется действием ионов кадмия и цинка [138].

Устойчивый к кадмию штамм *P. putida* продемонстрировал способность к внутриклеточной секвестрации ионов тяжелых металлов, клетки данного штамма синтезировали несколько низкомолекулярных белков, богатых остатками цистеина и способных связывать ионы меди, кадмия и цинка [54]. В клетках штамма *Pseudomonas diminuta*, устойчивого к серебру, были обнаружены несколько низко- и высокомолекулярных белков, которые связывали ионы серебра [56]. Еще одним примером внутриклеточной секвестрации ионов металлов бактериями служит индуцированный ионами кадмия синтез низкомолекулярных белков, подобных фитохелатаинам, некоторыми морскими гамма-протеобактериями [57]. Также было по-

казано внутриклеточное связывание ионов кадмия глутатионом в клетках штамма *Rhizobium leguminosarum* [66].

Внеклеточная секвестрация. Внеклеточная секвестрация – это связывание ионов металлов специфическими компонентами клетки в периплазматическом пространстве или наружной мембране. Также к этому механизму относят связывание ионов металлов в виде нерастворимых комплексов.

Штаммы *Pseudomonas syringae*, устойчивые к меди, были способны связывать ионы меди белками CopA, CopB (белки периплазматического пространства) и CopC (белок наружной мембраны), которые синтезировались лишь в случае индукции ионами меди и придавали колониям голубую окраску [26]. Аналогичную картину наблюдали при росте устойчивого штамма *Pseudomonas pickettii* US321 на среде с ионами меди (голубые колонии), в данном случае ионы меди связывались в периплазматическом пространстве или наружной мембране. Авторы предположили, что устойчивый штамм способен аккумулировать ионы меди в связанном виде и транспортировать их в цитоплазму, обеспечивая таким образом необходимое клетке количество меди, в то время как в клетках чувствительного штамма медь находится в свободном ионном состоянии и высоко токсична [45].

Штамм *Pseudomonas stutzeri* AG259, изолированный из почвы шахты, добывающей серебро, был способен расти в присутствии высоких концентраций ионов серебра, гены устойчивости были расположены на плазмиде [53]. Предположили, что данный штамм аккумулировал ионы серебра в виде сульфидных частиц, связанных с поверхностью клетки [114]. Klaus et al. показали аккумуляцию ионов серебра клетками штамма *P. stutzeri* AG259, но в данном случае серебро главным образом аккумулировалось в элементной форме в периплазматическом пространстве бактерий [62].

Известны случаи экспорта ионов металлов из цитоплазмы с последующей секвестрацией ионов в периплазматическом пространстве. Ионы цинка, удаленные из цитоплазмы путем эффлюкса, аккумулировались в периплазме штамма *Synechocystis* PCC 6803 [125], аналогичную стратегию детоксикации ионов металлов наблюдали для штамма *Salmonella* sp., устойчивого к ионам серебра [111], и мультирезистентного штамма *P. putida* S4 [108]. Периплазматический белок SilE штамма *Salmonella* sp. специфически связывал ионы серебра, которые впоследствии удалялись из цитоплазмы через АТФазные насосы SilCBA и SilP [111].

Одним из вариантов внеклеточной секвестрации является осаждение ионов металла в виде нерастворимых комплексов. Ярким примером являются сульфатовосстанавливающие бактерии, продуцирующие в процессе метаболизма большие количества сероводорода, который связывает ряд катионов металлов [71, 133]. Штамм *Klebsiella planticola* в анаэробных условиях продуцирует сероводород из тиосульфата и осаждает ионы кадмия в виде нерастворимого сульфида [110], аналогичный механизм образования сульфида характерен для штамма *P. aeruginosa*, который в аэробных условиях осаждал ионы кадмия [132]. Образование частиц сульфида кадмия на слизистой оболочке клеток показано и для фотосинтезирующей цианобактерии *Nostoc muscorum* [1], при этом за образование подобных частиц, вероятно, ответственны гетероторфные бактерии-спутники данной цианобактерии [7].

Ионы металлов осаждаются бактериями и в виде других нерастворимых комплексов. Так, штамм *Vibrio harveyi* образует сложный фосфатно-свинцовый комплекс [78]. Мультирезистентный штамм *P. putida* S4 в условиях ограничения источников углерода осаждал ионы меди, в осадке кроме ионов меди были обнаружены гидроксильные и фосфатные группы [107].

Восстановление бактериями ионов тяжелых металлов. Бактерии способны восстанавливать широкий спектр ионов тяжелых металлов (табл. 1), и широко распространены в различных экологических нишах [12]. Некоторые бактерии могут использовать ионы металлов и металлоидов в качестве доноров или акцепторов электронов в энергетическом метаболизме. Металлы в окисленном состоянии могут служить терминальными акцепторами электронов в анаэробном дыхании бактерий. Энзиматическое восстановление ионов тяжелых металлов может также иметь целью перевод иона металла в менее токсичную форму, как в случае с ртутью [14] и хромом [131].

Среди систем подобного типа наиболее подробно изучена система устойчивости к ионам ртути, которая кодируется *mer*-опероном. В данном случае Hg^{2+} переносится внутрь клетки

транспортным белком МерТ и восстанавливается до металлической ртути внутриклеточной редуктазой МерА [18].

Генетические детерминанты устойчивости бактерий к ионам тяжелых металлов. Тот факт, что ряд систем устойчивости к ионам металлов локализованы на плаزمидах или транспозонах [87, 112], позволил сделать предположение о том, что такие детерминанты устойчивости переносятся среди бактерий путем горизонтального переноса генов (ГПГ). Роль ГПГ в эволюции бактерий в условиях постоянного изменения условий окружающей среды или экстремальных условий обитания подтверждается многими фактами, а именно: частым выделением из разных природных источников бактерий, содержащих плазмиды или транспозоны; явлением компетентности среди бактерий в природных условиях; выявлением ГПГ в модельных экосистемах и *in vivo*; появлением новых свойств у аборигенной микробиоты при внесении в среду бактерий, несущих конъюгативные плазмиды [30].

Было показано, что ГПГ играл значительную роль в эволюции генов устойчивости к антибиотикам [35] и ионам ртути [91]. Однако, Coombs et Barkay [30] установили, что ГПГ не имел большого значения в эволюции семейства белков АТФаз Р_{IV} типа среди бактерий и археобактерий, а гены АТФаз передавались преимущественно вертикальным путем. Было установлено, что ГПГ играл роль в эволюции генов, отвечающих за гомеостаз ионов металлов в клетках бактерий, обитающих в глубинных водных слоях [29]. Эксперименты по интродукции в природные экосистемы плазмид, несущих гены устойчивости к ионам тяжелых металлов, дали противоречивые результаты [115, 127].

Таблица 1

Восстановление бактериями ионов металлов и металлоидов

Процесс восстановления	Штамм	Ссылка
Hg ²⁺ /Hg ⁰	<i>Bacillus cereus</i>	[50]
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	[140]
	<i>P. stutzeri</i>	[98]
Fe ³⁺ /Fe ²⁺	<i>Geobacter</i> sp.	[116]
	<i>G. metallireducens</i>	[82]
	<i>Bacillus thermoamylovorans</i>	[11]
Cr ⁶⁺ /Cr ³⁺	<i>Desulfomicrobium norvegicum</i>	[77]
	<i>Microbacterium</i> sp.	[92]
	<i>Ochrobacterium intermedium, Brevibacterium</i> sp	[40]
	<i>Pseudomonas</i> spp.	[4]
As ⁵⁺ /As ³⁺	<i>S. aureus</i>	[59]
U ⁶⁺ /U ⁴⁺	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	[70]
	<i>Shewanella putrefaciens</i>	[69]
	<i>Thermoterrabacterium ferrireducens</i>	[61]
Mn ⁴⁺ /Mn ²⁺	<i>Shewanella putrefaciens</i>	[80]
Se ⁶⁺ /Se ⁴⁺ /Se ⁰	<i>R. metallidurans</i>	[105]
	<i>B. thermoamylovorans</i>	[11]
	<i>Shewanella oneidensis</i>	[63]
V ⁵⁺ /V ⁴⁺	<i>S. oneidensis</i>	[22]
	<i>G. metallireducens</i>	[90]
Tc ⁷⁺ /Tc ⁴⁺	<i>Geobacter sulfurreducens</i>	[68]
	<i>S. putrefaciens</i>	[134]
Mo ⁶⁺ /Mo ⁵⁺	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	[119]
Au ³⁺ /Au ⁰	<i>Strenotrophomonas</i> sp.	[117]
Te ⁴⁺ /Te ⁰	<i>B. thermoamylovorans</i>	[11]
	<i>S. oneidensis</i>	[63]

Бактерии, устойчивые к ионам тяжелых металлов, широко распространены в природе. Преимущественно устойчивые к ионам металлов бактерии выделяют из источников, подвергшихся загрязнению тяжелыми металлами. Такие штаммы выделяли из сточных вод промышленных предприятий [41, 75], шахт [108], почв и водоемов, загрязненных тяжелыми

металлами [37, 89, 131], горячих источников [67]. Поскольку устойчивость к ионам тяжелых металлов часто кодируется плазмидами, и перенос генов с помощью указанных генетических детерминант распространен в природе, действие ионов металлов может приводить к селекции штаммов, несущих гены устойчивости. Селекция может быть неспецифической, то есть определенный токсический агент может приводить к возникновению устойчивости бактерий к другим соединениям, поскольку плазмиды зачастую несут целые системы устойчивости к нескольким токсическим агентам [120]. Ярким примером такого явления служит четкая корреляция между устойчивостью бактерий к ионам металлов и антибиотикам [135]. Показано, что частота выделения штаммов, содержащих плазмиды, из загрязненных источников была выше по сравнению с незагрязненными [73, 97].

Однако, известны случаи выделения штаммов, устойчивых к ионам тяжелых металлов, из незагрязненных природных источников [12, 16, 33, 103]. Такие случаи являются подтверждением того факта, что системы устойчивости к ионам металлов появились задолго до техногенного загрязнения окружающей среды [112].

Детерминанты устойчивости к ионам тяжелых металлов были впервые обнаружены на плазмидах бактерий [121]. С получением новых данных о последовательностях геномов разных бактерий было установлено, что хромосомы бактерий содержат ряд подобных плазмидным систем устойчивости к ионам тяжелых металлов. Так, *ars*-опероны, локализованные на хромосомах *E. coli*, *P. aeruginosa* и *Bacillus subtilis*, по строению были похожи на плазмидные генетические детерминанты *ars* [79]. Однако системы устойчивости к ионам металлов, локализованные на хромосомах и плазмидах, различаются по ряду параметров. Так, гены, отвечающие за нормальный метаболизм ионов металлов, необходимых клетке, как правило расположены на хромосомах, а системы устойчивости к токсичным металлам имеют плазмидную природу [19, 25].

Наиболее изученная система устойчивости к ионам тяжелых металлов, *mer*-оперон, обеспечивающий восстановление ионов ртути в металлическую форму, широко распространен среди бактерий и имеет аналогичное строение, не зависимо от локализации на хромосоме [81] или плазмиде [98]. Ключевыми генами *mer*-оперона являются *merA* (ген редуктазы), *merT* (ген транспортного белка), *merP* (ген внеклеточного связывания ионов ртути) и *merR* (ген регуляторного белка), однако некоторые гены не являются конститутивными для *mer*-оперона: *merB* (ген лиазы ртуть-органических соединений), *merC* (ген транспортного белка), *merD* (ген регуляторного белка), *merE* (ген транспортного белка), *merF* (ген транспортного белка), и *merG* (ген устойчивости к фенол-ртутным соединениям) [81].

Также хорошо изучен кластер генов *czc*, который локализован на плазмиде PMOL30 (250kb) мультирезистентного штамма *R. metallidurans* CH34 и обуславливает устойчивость к Cd^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} . В центре оперона располагаются гены *czcCBA*, которые кодируют катион-протонный насос; в состав оперона также входят регуляторные гены *czcR*, *czcD*, *czcS* и *czcE*, промоторы *czcNp*, *czcIp* и *czcCp*, а также гены *czcN* и *czcI*, функции которых на данный момент неизвестны [48]. Штамм *R. metallidurans* CH34 содержит еще одну мегаплазмиду PMOL28 (180kb), кодирующую устойчивость к Co^{2+} , Ni^{2+} и хромату; кроме того, обе плазмиды несут гены устойчивости к Tl^{+} и Hg^{2+} . В последнее время был обнаружен ряд ранее неизвестных генов устойчивости к ионам металлов, локализованных на плазмидах и хромосоме *R. metallidurans* CH34 [75].

Ars-оперон, обуславливающий устойчивость к арсенату, может содержать от 3 до 5 генов (*arsR*, *arsA*, *arsD*, *arsB* и *arsC*). Он широко распространен среди разных систематических групп бактерий [79]. Система устойчивости к ионам кадмия *cad* была обнаружена как среди грамположительных [89], так и среди грамотрицательных бактерий [64] и может варьировать по составу и локализации. Аналогичная ситуация наблюдается в отношении *cop*-оперона, кодирующего устойчивость к ионам меди среди разных групп бактерий (*E. hirae*, *Pseudomonas spp.*) [19].

На сегодня известно значительное количество систем устойчивости бактерий к ионам металлов как плазмидной, так и хромосомной локализации (табл. 2). Устойчивость к ионам тяжелых металлов плазмидной природы в некоторых случаях коррелирует с устойчивостью

к антибиотикам [106, 126], что связывают с локализацией генов устойчивости на одном генетическом элементе (плазмиде или транспозоне). Было показано, что *mer*-локус и гены устойчивости к антибиотикам расположены в непосредственной близости друг от друга [135, 141]. Однако в ряде работ не было установлено четкой зависимости между устойчивостью бактерий к антибиотикам и ионам тяжелых металлов [41, 103].

Фитопатогенные представители рода *Pseudomonas* характеризуются выраженной устойчивостью к ионам меди, поскольку они часто подвергаются действию бактерицидных и фунгицидных препаратов, содержащих медь [23, 128]. Устойчивость к ионам меди среди таких бактерий может быть обусловлена секвестрацией ионов меди белками периплазматического пространства и наружной мембраны *CopA*, *CopB* и *CopC*, синтез которых индуцируется действием ионов меди [26]. Гены устойчивости к ионам меди локализованы преимущественно на плаزمидах, что способствует горизонтальному переносу генов и выживанию бактерий в среде, содержащей токсичные концентрации металла [23, 45]. В то же время были зафиксированы случаи и хромосомной локализации *cop*-оперона [137].

Таблица 2

Системы устойчивости бактерий к ионам тяжелых металлов

Детерминанта устойчивости	Локализация	Ион металла	Штамм	Ссылка
Локус <i>czc</i>	Плаزمида PMOL30	Cd ²⁺ , Zn ²⁺ , Co ²⁺	<i>R. metallidurans</i> CH34	[76]
Локус <i>cnr</i>	Плаزمида PMOL28	Co ²⁺ , Ni ²⁺ , Cr ⁶⁺	<i>R. metallidurans</i> CH34	[76]
Оперон <i>mer</i>	Хромосома	Hg ²⁺	<i>B. cereus</i>	[50]
	Плаزمида pDU1358		<i>Serratia marcescens</i>	[47]
Оперон <i>ars</i>	Плаزمида R773	As ⁵⁺	<i>E. coli</i>	[79]
	Хромосома		<i>E. coli</i>	[21]
Оперон <i>cadCA</i>	Плаزمида PI258	Cd ²⁺	<i>S. aureus</i>	[38]
Локус <i>czr</i>	Хромосома	Cd ²⁺ , Zn ²⁺	<i>P. aeruginosa</i>	[52]
Гены <i>cadA/cadR</i>	Хромосома	Cd ²⁺	<i>P. putida</i>	[64]
Оперон <i>cop</i>	Хромосома	Cu ²⁺	<i>E. coli</i>	[100]
Оперон <i>sil</i>	Плаزمида pMG101	Ag ⁺	<i>Salmonella</i> sp.	[49]

В заключение следует добавить, что бактерии, устойчивые к ионам тяжелых металлов, используются в ряде биотехнологических и биоремедиационных процессов. Издавна известен процесс биологического выщелачивания руд [17], при этом исследования в данной области не утратили своей актуальности и сейчас [2]. Ведутся интенсивные исследования по возможному использованию бактерий в очистке окружающей среды от тяжелых металлов [6, 13]. Одними из наиболее перспективных направлений в данной области считаются биосорбция [39, 44, 51] и осаждение ионов металлов в виде нерастворимых комплексов [5, 34, 44, 72]. Также ведутся работы по использованию микроорганизмов в качестве «биосенсоров», т.е. для мониторинга ионов тяжелых металлов в окружающей среде [3, 9, 10, 31, 118, 122].

О.Д. Янсва

Институт мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України, Київ

МЕХАНІЗМИ СТІЙКОСТІ БАКТЕРІЙ ДО ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Резюме

У процесі еволюції бактерії адаптувалися до підвищеного вмісту іонів металів у навколишньому середовищі. Розрізняють п'ять основних механізмів стійкості бактерій до іонів важких металів: зовнішньоклітинний бар'єр, активний транспорт іонів металів із клітини (ефлюкс), зовнішньоклітинна секвестрація, внутрішньоклітинна секвестрація, відновлення іонів металів.

Генетичні детермінанти стійкості до іонів важких металів можуть бути локалізовані як на бактеріальних хромосомах, так і екстрахромосомних генетичних елементах. Значну роль в розповсюдженні стійкості до іонів металів серед бактерій грає горизонтальний перенос генів.

Процеси взаємодії між бактеріями та іонами важких металів становлять значний інтерес не тільки з погляду фундаментальної науки, а й для можливого застосування в біотехнологічних процесах.

Ключові слова: стійкість, бактерії, іони важких металів, механізми.

MECHANISMS OF BACTERIA RESISTANCE TO HEAVY METALS

S u m m a r y

Bacteria have adapted to the presence of heavy metal ions in their habitats. There are five main mechanisms of heavy metal resistance in bacteria: extracellular barrier, active transport of metal ions (efflux), extracellular sequestration, intracellular sequestration, reduction of metal ions. Genetic determinants of heavy metal resistance can be localized both on bacterial chromosomes and on extrachromosomal genetic elements. Horizontal gene transfer plays an important role in the spread of heavy metal resistance in nature.

Interactions between bacteria and heavy metal ions are of great interest both as a fundamental process and potential bioremedial technology.

The paper is presented in Russian.

Key words: resistance, bacteria, heavy metals ions, mechanisms.

The author's address: O. D. Ianiëva, Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 54 Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.

1. Бекасова О.Д., Орлеанский В.К., Никандров В.В. Образование кристаллитов сульфида кадмия и металлического кадмия на поверхности цианобактерии *Nostoc muscorum* // Физиология растений. – 2000. – № 47. – С. 263–271.
2. Бельй А.В., Пустошилов П.П., Гуревич Ю.Л. и др. Бактериально-химическое выщелачивание марганцевых руд // Прикл. биохимия и микробиология. – 2006. – 42, № 3. – С. 327–331.
3. Грузина Т.Г., Дыбкова С.Н., Чеховская Т.П. и др. Получение биолюминесцентного бактериального штамма *Protobacterium phosphoreum* B7071 (*lux⁺*) для определения концентрации ионов цинка // Укр. біохім. журн. – 2006. – 78, № 1. – С. 143–148.
4. Дмитренко Г.Н., Коновалова В.В., Шум О.А. Восстановление Cr(VI) бактериями рода *Pseudomonas* // Микробиология. – 2003. – 72, № 3. – С. 370–373.
5. Квасников Е.И., Серпокрылов Н.С., Ключникова Т.М. и др. Биологическая очистка хромсодержащих промышленных сточных вод. – Киев: Наук. думка, 1990. – 109 с.
6. Корнилович Б.Ю., Гвоздяк П.И., Пишико Г.Г. и др. Очистка урансодержащих вод с использованием иммобилизованных микроорганизмов // Химия и технология воды. – 2001. – 23, № 5. – С. 545–551.
7. Москвина М.И., Бреховских А.А., Никандров В.В. Роль гетеротрофных спутников цианобактерии *Nostoc muscorum* в синтезе сульфида кадмия // Микробиология. – 2003. – 72, № 2. – С. 284–285.
8. Пирог Т.П. Роль экзополисахаридов *Acinetobacter* sp., синтезируемых в различных условиях культивирования, в защите клеток продуцента от действия Va^{2+} и Zn^{2+} // Микробиол. журн. – 1999. – 61, № 5. – С. 64–71.
9. Расторгуев С.М., Завильгельский Г.Б. *Lux*-биосенсор для детекции ионов мышьяка // Биотехнология. – 2001. – № 2. – С. 77–82.
10. Рильський О.Ф., Гвоздяк П.І. Вплив іонів важких металів на пігментсинтезуючу здатність бактерій // Доповіді НАН України. – 2007. – № 1. – С. 161–164.
11. Слободкина Г.Б., Бонч-Осмоловская Е.А., Слободкин А.И. Восстановление хромата, селенита, теллуриата и железа (III) умеренно термофильной бактерией *Bacillus thermoamylovorans* // Микробиология. – 2007. – 76, № 5. – С. 602–607.
12. Смирнова Г.Ф. Распространение бактерий, устойчивых к кислородсодержащим анионоксенобиотикам // Микробиол. журн. – 2005. – 67, № 5. – С. 11–18.
13. Смирнова Г.Ф. Использование иммобилизованных клеток бактерий при очистке сточных вод от хлоратов и хроматов // Микробиол. журн. – 2006. – 68, № 1. – С. 62–68.
14. Barkay T., Miller S.M., Summers A.O. Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems // FEMS Microbiol. Rev. – 2003. – 27, N 2-3. – P. 355–384.
15. Bhaskar P.V., Bhosle N.B. Bacterial extracellular polymeric substance (EPS): a carrier of heavy metals in the marine food-chain // Environ. Int. – 2006. – 32, N 2. – P. 191–198.
16. Bogdanova E.S., Bass I.A., Minakhin L.S. et al. Horizontal spread of mer operons among Gram-positive bacteria in natural environments // Microbiology. – 1998. – 144, N 3. – P. 609–620.
17. Bosecker K. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms // FEMS Microbiol. Rev. – 1997. – 20, N 3–4. – P. 591–604.
18. Brown N.L., Shih Y.-C., Leang C. et al. Mercury transport and resistance // Biochem. Soc. Trans. – 2001. – 30, N 4. – P. 715–718.
19. Bruins M.R., Kapil S., Oehme F.W. Microbial resistance to metals in the environment // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 2000. – 45, N 2. – P. 198–207.
20. Cánovas D., Cases I., de Lorenzo V. Heavy metal tolerance and metal homeostasis in *Pseudomonas putida* as revealed by complete genome analysis // Environ. Microbiol. – 2003. – 5, N 12. – P. 1242–1256.
21. Carlin A., Shi W., Dey S., Rosen B.P. The *ars* operon of *Escherichia coli* confers arsenical and antimicrobial resistance // J. Bacteriol. – 1995. – 177, N 4. – P. 981–986.
22. Carpentier W., Sandra K., De Smet I. et al. Microbial reduction and precipitation of vanadium by *Shewanella oneidensis* // Appl. Environ. Microbiol. – 2003. – 69, N 6. – P. 3636–3639.

23. Cazorla F.M., Arrebola E., Sesma A. et al. Copper resistance in *Pseudomonas syringae* strains isolated from mango is encoded mainly by plasmids // *Phytopathology*. – 2002. – **92**, N 8. – P. 909 – 916.
24. Cervantes C., Gutierrez-Corona F. Copper resistance mechanisms in bacteria and fungi // *FEMS Microbiol. Rev.* – 1994. – **14**, N 2. – P. 121 – 138.
25. Cervantes C., Campos-Garcia J., Devars S. et al. Interactions of chromium with microorganisms and plants // *FEMS Microbiol. Rev.* – 2001. – **25**, N 3. – P. 335 – 347.
26. Cha J.-S., Cooksey D.A. Copper resistance in *Pseudomonas syringae* mediated by periplasmic and outer membrane proteins // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1991. – **88**, N 20. – P. 8915 – 8919.
27. Choudhury R., Srivastava S. Zinc resistance mechanisms in bacteria // *Curr. Science*. – 2001. – **81**, N 7. – P. 768 – 775.
28. Clemens S., Simm C. *Schizosaccharomyces pombe* as a model for metal homeostasis in plant cells: the phytochelatin-dependent pathway is the main cadmium detoxification mechanism // *New Phytol.* – 2003. – **159**, N 2. – P. 323 – 330.
29. Coombs J.M., Barkay T. Molecular evidence for the evolution of metal homeostasis genes by lateral gene transfer in bacteria from the deep terrestrial subsurface // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2004. – **70**, N 3. – P. 1698 – 1707.
30. Coombs J.M., Barkay T. New findings on evolution of metal homeostasis genes: evidence from comparative genome analysis of bacteria and archaea // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2005. – **71**, N 11. – P. 7083 – 7091.
31. Corbisier P., van der Lelie D., Borremans B. et al. Whole cell- and protein-based biosensors for the detection of bioavailable heavy metals in environmental samples // *Anal. Chim. Acta*. – 1999. – **387**, N 3. – P. 235 – 244.
32. Csolotnyi J.T., Stackebrandt E., Yurkov V. Anaerobic respiration on tellurite and other metalloids in bacteria from hydrothermal vent fields in the Eastern Pacific Ocean // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2006. – **72**, N 7. – P. 4950 – 4956.
33. De J., Ramaiah N., Mesquita A., Verlekar X.N. Tolerance to various toxicants by marine bacteria highly resistant to mercury // *Mar. Biotechnol.* – 2003. – **5**, N 2. – P. 185 – 193.
34. Diels L., van der Lelie N., Bastiaens L. New developments in treatment of heavy metal contaminated soils // *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* – 2002. – **1**, N 1. – P. 75 – 82.
35. Dzidic S., Bedecovic V. Horizontal gene transfer-emerging multidrug resistance in hospital bacteria // *Acta Pharm. Sin.* – 2003. – **24**, N 6. – P. 519 – 526.
36. Ehrlich H.L. Microbes and metals // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 1997. – **48**, N 6. – P. 687 – 692.
37. El-Helou E.R., Sabry S.A., Amer R.M. Cadmium biosorption by a cadmium resistant strain of *Bacillus thuriangiensis*: regulation and optimization of cell surface affinity for metal cations // *BioMetals*. – 2000. – **13**, N 4. – P. 273 – 280.
38. Endo G., Silver S. CadC, the transcriptional regulatory protein of the cadmium resistance system of *Staphylococcus aureus* plasmid pI258 // *J. Bacteriol.* – 1995. – **177**, N 15. – P. 4437 – 4441.
39. Fabre B., Jezequel K., Lebeau T. Maximum uptakes of cadmium on free and immobilized bacteria and actinomycetes cells // *Environ. Chem. Lett.* – 2003. – **1**, N 2. – P. 141 – 144.
40. Faisal M., Hasnain S. Comparative study of Cr(VI) uptake and reduction in industrial effluent by *Ochrobacterium intermedium* and *Brevibacterium* sp. // *Biotechnol. Lett.* – 2004. – **26**, N 21. – P. 1623 – 1628.
41. Filali B.K., Taoufik J., Zeroual Y. et al. Waste water bacterial isolates resistant to heavy metals and antibiotics // *Curr. Microbiol.* – 2000. – **41**, N 2. – P. 151 – 156.
42. Franke S., Grass G., Nies D.H. The product of the *ybdE* gene of the *Escherichia coli* chromosome is involved in detoxification of silver ions // *Microbiology*. – 2001. – **147**, N 4. – P. 965 – 972.
43. Gadd G.M. Heavy metal accumulation by bacteria and other microorganisms // *Cell. Mol. Life Sci.* – 1990. – **46**, N 8. – P. 834 – 840.
44. Gadd M.G. Bioremediation potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2000. – **11**, N 3. – P. 271 – 279.
45. Gilotra U., Srivastava S. Plasmid-encoded sequestration of copper by *Pseudomonas pickettii* strain US321 // *Curr. Microbiol.* – 1997. – **34**, N 6. – P. 378 – 381.
46. Green-Ruiz C. Mercury (II) removal from aqueous solutions by nonviable *Bacillus* sp. from a tropical estuary // *Bioresour. Technol.* – 2006. – **97**, N 15. – P. 1907 – 1911.
47. Griffen H.G., Foster T.J., Silver S., Misra T.K. Cloning and DNA sequence of the mercuric and organomercurial determinates of plasmid pDU1358 // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1987. – **84**, N 10. – P. 3112 – 3116.
48. Große C., Anton A., Hoffmann T. et al. Identification of a regulatory pathway that controls the heavy-metal resistance system *czc* via promoter *czeNp* in *Ralstonia metallidurans* // *Arch. Microbiol.* – 2004. – **182**, N 2-3. – P. 109 – 118.
49. Gupta A., Matsui K., Lo J.-F., Silver S. Molecular basis for resistance to silver cations in *Salmonella* // *Nat. Med.* – 1999. – **5**, N 2. – P. 183 – 188.
50. Gupta A., Phung L.T., Chakravarty L., Silver S. Mercury resistance in *Bacillus cereus* RC607: transcriptional organization and two new open reading frames // *J. Bacteriol.* – 1999. – **181**, N 22. – P. 7080 – 7086.
51. Gutnick D.L., Bach H. Engineering bacterial biopolymers for the biosorption of heavy metals; new products and novel formulations // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2000. – **54**, N 4. – P. 451 – 460.
52. Hassan M.-T., van der Lelie D., Springael D. et al. Identification of a gene cluster, *czt*, involved in cadmium and zinc resistance in *Pseudomonas aeruginosa* // *Gene*. – 1999. – **238**, N 2. – P. 417 – 425.
53. Haefeli C., Franklin C., Hardy K. Plasmid-determined silver resistance in *Pseudomonas stutzeri* isolate from a silver mine // *J. Bacteriol.* – 1984. – **158**, N 1. – P. 389 – 392.
54. Higham D.P., Sadler P.J., Scawen M.D. Cadmium-binding proteins in *Pseudomonas putida*: pseudothioneins // *Environ. Health Perspect.* – 1986. – **65**, N 3. – P. 5 – 11.

55. Huang C.-T., Stewart P.S. Reduction of polysaccharide production in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by bismuth dimercaprol (BisBAL) treatment // J. Antimicrob. Chemother. – 1999. – **44**, N 5. – P. 601 – 605.
56. Ibrahim Z., Ahmad W.A., Baba A.B. Bioaccumulation of silver and the isolation of metal-binding protein from *P. diminuta* // Braz. Arch. Biol. Technol. – 2001. – **44**, N 3. – P. 223 – 225. E.P.,
57. Ivanova E.P., Kurilenko V.V., Kurilenko A.V. et al. Tolerance to cadmium of free-living and associated with marine animals and eelgrass marine gamma-proteobacteria // Curr. Microbiol. – 2002. – **44**, N 4. – P. 357 – 362.
58. Iyer A., Mody K., Iha B. Biosorption of heavy metals by a marine bacterium // Mar. Pollut. Bull. – 2005. – **50**, N 3. – P. 340 – 343.
59. Ji G., Silver S. Reduction of arsenate to arsenite by the ArsC protein of the arsenic resistance operon of *Staphylococcus aureus* plasmid pI258 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1992. – **89**, N 10. – P. 7974 – 7978.
60. Kazy S.K., Sar P., Sen A.K., D'Souza S.F. Extracellular polysaccharides of a copper-sensitive and a copper-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain: synthesis, chemical nature and copper binding // World. J. Microbiol. Biotechnol. – 2002. – **18**, N 6. P. 583 – 588.
61. Khinjiak T.V., Slobodkin A.I. Coker V. Reduction of uranium (VI) phosphate during growth of the thermophilic bacterium *Thermoterrabacterium ferrireducens* // Appl. Environ. Microbiol. – 2005. – **71**, N 10. – P. 6423 – 6426.
62. Klaus T., Joerger R., Olsson E., Granqvist C.-G. Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated // Appl. Phys. Sciences/ Microbiolog. – 1999. – **96**, N 24. – P. 13611 – 13614.
63. Klonowska A., Heulin T., Vermeqio A. Selenite and tellurite reduction by *Shewanella oneidensis* // Appl. Environ. Microbiol. – 2005. – **71**, N 9. – P. 5607 – 5609.
64. Lee S.-W., Glickmann E., Cooksey D.A. Chromosomal locus for cadmium resistance in *Pseudomonas putida* consisting of a cadmium-transporting ATPase and a MerR family response regulator // Appl. Environ. Microbiol. – 2001. – **67**, N 4. – P. 1437 – 1444.
65. Li X.-Z., Nikaido H., Williams K.E. Silver-resistant mutants of *Escherichia coli* display active efflux of Ag⁺ and are deficient in porins // J. Bacteriol. – 1997. – **179**, N 19. – P. 6127 – 6132.
66. Lima A.I.G., Corticeiro S.C., Figueira E.M.A.P. Glutathione-mediated cadmium sequestration in *Rhizobium leguminosarum* // Enzyme Microb. Technol. – 2006. – **39**, N 4. – P. 763 – 769.
67. Llanos J., Capasso C., Parisi E. et al. Susceptibility to heavy metals and cadmium accumulation in aerobic and anaerobic thermophilic microorganisms isolated from deep-sea hydrothermal vents // Curr. Microbiol. – 2000. – **41**, N 3. – P. 201 – 205.
68. Lloyd J.R., Sole V.A., Van Praagh C.V., Lovley D.R. Direct and Fe²⁺ mediated reduction of technetium by Fe³⁺-reducing bacteria // Appl. Environ. Microbiol. – 2000. – **66**, N 9. – P. 3743 – 3749.
69. Lovley D.R., Phillips E.J.P., Corby Y.A., Landa E.R. Microbial reduction of uranium // Nature. – 1991. – **350**, N 6317. – P. 413 – 416.
70. Lovley D.R., Phillips E.J.P. Reduction of uranium by *Desulfovibrio desulfuricans* // Appl. Environ. Microbiol. – 1992. – **58**, N 3. – P. 850 – 856.
71. Luptakova A., Kusnierova M. Bioremediation of acid drainage contaminated by SRB // Hydrometallurgy. – 2005. – **77**, N 1-2. – P. 97 – 102.
72. Macaskie L.E., Bonthron K.M., Yong P., Goddard D.T. Enzymically mediated bioprecipitation of uranium by a *Citrobacter* sp.: a concerted role for exocellular lipopolysaccharide and associated phosphatase in biomineral formation // Microbiology. – 2000. – **146**, N 8. – P. 1855 – 1867.
73. Malik A., Khan I.F., Aleem A. Plasmid incidence in bacteria from agricultural and industrial soils // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2002. – **18**, N 9. – P. 827 – 833.
74. McEldowney S. The impact of surface attachment on cadmium accumulation by *Pseudomonas fluorescens* H2 // FEMS Microbiol. Ecol. – 2000. – **33**, N 2. – P. 121 – 128.
75. Mergeay M., Monchy S., Vallaeys T. et al. *Ralstonia metallidurans*, a bacterium specifically adapted to toxic metals: towards a catalogue of metal-responsive genes // FEMS Microbiol. Rev. – 2003. – **27**, N 2-3. – P. 385 – 410.
76. Mergeay M., Nies D., Schlegel H.G. et al. *Alcaligenes eutrophus* CH34 is a facultative chemolithotroph with plasmid-borne resistance to heavy metals // J. Bacteriol. – 1985. – **162**, N 1. – P. 328 – 334.
77. Michel C., Giudici-Orticoni M.-T., Baymann F., Bruschi M. Bioremediation of chromate by sulfate-reducing bacteria, cytochromes c₃ and hydrogenases // Water, Air, Soil Pollut. – 2003. – N 3. – P. 161 – 169.
78. Mire C.E., Tourjee J.A., O'Brien W.F. et al. Lead precipitation by *Vibrio harveyi*: evidence for novel quorum-sensing interactions // Appl. Environ. Microbiol. – 2004. – **70**, N 2. – P. 855 – 864.
79. Mukhopadhyay R., Rosen B.P., Phung L.T., Silver S. Microbial arsenic: from geocycles to genes and enzymes // FEMS Microbiol. Rev. – 2002. – **26**, N 3. – P. 311 – 325.
80. Myers C.R., Nealson K.H. Bacterial manganese reduction and growth with manganese oxide as the sole electron acceptor // Science. – 1988. – **240**, N 4857. – P. 1319 – 1321.
81. Narita M., Chiba K., Nishizawa H. et al. Diversity of mercury resistance determinants among *Bacillus* strains isolated from sediment of Minamata Bay // FEMS Microbiol. Lett. – 2003. – **223**, N 1. – P. 73 – 82.
82. Nevin K.P., Lovley D.R. Lack of production of electron-shuttling compounds or solubilization of Fe³⁺ during reduction of insoluble Fe³⁺ oxide by *Geobacter metallireducens* // Appl. Environ. Microbiol. – 2000. – **66**, N 5. – P. 2248 – 2251.
83. Nies D.H., Silver S. Metal ion uptake by a plasmid-free metal-sensitive *Alcaligenes eutrophus* strain // J. Bacteriol. – 1989. – **171**, N 7. – P. 4073 – 4075.

84. Nies D.H. The cobalt, zinc, and cadmium efflux system CzcABC from *Alcaligenes eutrophus* functions as a cation-proton-antiporter in *Escherichia coli* // J. Bacteriol. – 1995. – **177**, N 10. – P. 2707 – 2712.
85. Nies D.H. Microbial heavy-metal resistance // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1999. – **51**, N 6. – P. 730-750.
86. Nies D.H. Heavy metal-resistant bacteria as extremophiles: molecular physiology and biotechnological use of *Ralstonia* sp. CH34 // Extremophiles. – 2000. – **4**, N 2. – P. 77 – 82.
87. Nies H.D. Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes // FEMS Microbiol. Rev. – 2003. – **27**, N 2 – 3. – P. 313 – 339.
88. Odermatt A., Suter H., Krapf R., Solioz M. Primary structure of two P-type ATPases involved in copper homeostasis in *Enterococcus hirae* // J. Biol. Chem. – 1993. – **268**, N 17. – P. 12775 – 12779.
89. Oger C., Mahillon J., Petit F. Distribution and diversity of a cadmium resistance (*cadA*) determinant and occurrence of IS257 insertion sequences in *Staphylococcal* bacteria isolated from a contaminated estuary (Seine, France) // FEMS Microbiol. Ecol. – 2003. – **43**, N 2. – P. 173 – 183.
90. Ortiz-Bernad L., Anderson R.T., Vronis H.A., Lovley D.R. Vanadium respiration by *Geobacter metallireducens*: novel strategy for in situ removal of vanadium from groundwater // Appl. Environ. Microbiol. – 2004. – **70**, N 5. – P. 3091 – 3095.
91. Osborn A.M., Bruce K.D., Strike P., Ritchie D.A. Distribution, diversity, and evolution of bacterial mercury resistance (*mer*) operon // FEMS Microbiol. Rev. – 1997. – **19**, N 4. – P. 239 – 262.
92. Pattanapitipaisai P., Brown N.L., Macaskie L.E. Chromate reduction and 16S rRNA identification of bacteria isolated from a Cr(VI)-contaminated site // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2001. – **57**, N 1 – 2. – P. 257 – 261.
93. Pardo R., Herguedas M., Barrado E., Vega M. Biosorption of cadmium, copper, lead and zinc by inactive biomass of *Pseudomonas putida* // Anal. Bioanal. Chem. – 2003. – **376**, N 1. – P. 26 – 32.
94. Parker D.L., Rai L.C., Mallick N. et al. Effects of cellular metabolism and viability on metal ion accumulation by cultured biomass from a bloom of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* // Appl. Environ. Microbiol. – 1998. – **64**, N 4. – P. 1545 – 1547.
95. Perron K., Caille O., Rossier C. et al. CzcR-CzcS, a two-component system involved in heavy metal and carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* // J. Biol. Chem. – 2004. – **279**, N 10. – P. 8761 – 8768.
96. Pinto E., Sigaud-Kutner T.C.S., Leitao M.A.S. et al. Heavy metal-induced oxidative stress in algae // J. Phycol. – 2003. – **39**, N 6. – P. 1008 – 1018.
97. Rasmussen L.D., Sørensen S.J. The effect of longterm exposure to mercury on the bacterial community in marine sediment // Curr. Microbiol. – 1998. – **36**, N 5. – P. 291-297.
98. Reniero D., Mozzon E., Galli E., Barbieri P. Two aberrant mercury resistance transposons in the *Pseudomonas stutzeri* plasmid pPB // Gene. – 1998. – **208**, N 1. – P. 37 -42.
99. Rensing C., Ghosh M., Rosen B. Families of soft-metal-ion-transporting ATPases // J. Bacteriol. – 1999. – **181**, N 9. – P. 5891 – 5897.
100. Rensing C., Fan B., Sharma R. et al. CopA: an *Escherichia coli* Cu⁺-translocating P-type ATPase // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2000. – **97**, N 2. – P. 652 – 656.
101. Rensing C., Grass G. *Escherichia coli* mechanisms of copper homeostasis in a changing environment // FEMS Microbiol. Rev. – 2003. – **27**, N 2-3. – P. 197 -213.
102. Richau J.A., Choquet D., Fialho A.M., Sá-Correira I. Emergence of Cu⁺⁺-tolerant mutants defective in gellan synthesis in Cu⁺⁺-stressed cultures of *Sphingomonas paucimobilis* // Res. Microbiol. – 1997. – **148**, N 3. – P. 251 – 261.
103. Roane T.M., Kellogg S.T. Characterization of bacterial communities in heavy metal contaminated soils // Can. J. Microbiol. – 1996. – **42**, N 7. – P. 593 -603.
104. Rouch D.A., Lee B.T.O., Morby A.P. Understanding cellular responses to toxic agents: a model for mechanism-choice in bacterial metal resistance // J. Ind. Microbiol. – 1995. – **14**, N 2. – P. 132 – 141.
105. Roux M., Sarret G., Pignot-Paintrand I. et al. Mobilization of selenite by *Ralstonia metallidurans* CH34 // Appl. Environ. Microbiol. – 2001. – **67**, N 2. – P. 769 – 773.
106. Sabry S.A., Ghozlan H.A., Abou-Zeid D.M. Metal tolerance and antibiotic resistance patterns of a bacterial population isolated from sea water // J. Appl. Microbiol. – 1997. – **82**, N 2. – P. 245 – 252.
107. Saxena D., Srivastava S. Carbon source-starvation-induced precipitation of copper by *Pseudomonas putida* strain S4 // World J. Microbiol. Biotechnol. – 1998. – **14**, N 6. – P. 921 – 923.
108. Saxena D., Joshi N., Srivastava S. Mechanism of copper resistance in a copper mine isolate *Pseudomonas putida* strain S4 // Curr. Microbiol. – 2002. – **45**, N 6. – P. 410 – 414
109. Scott J.A., Palmer S.J. Sites of cadmium uptake in bacteria used for biosorption // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1990. – **33**, N 2. – Vol. 221 – 225.
110. Sharma P.K., Balkwill D.L., Frenkel A., Vairavamurthy M.A. A new *Klebsiella planticola* strain (Cd-1) grows anaerobically at high cadmium concentrations and precipitates cadmium sulfide // Appl. Environ. Microbiol. – 2000. – **66**, N 7. – P. 3083 – 3087.
111. Silver S. Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds // FEMS Microbiol. Rev. – 2003. – **27**, N 2-3. – P. 341 -353.
112. Silver S., Phung L.T. Bacterial heavy metal resistance: new surprises // Annu. Rev. Microbiol. – 1996. – **50**. – P. 573 – 589.
113. Silver S., Phung L.T. Genes and enzymes involved in bacterial oxidation and reduction of inorganic arsenic // Appl. Environ. Microbiol. – 2005. – **71**, N 2. – P. 599 – 608

114. Slawson R.M., Trevors J.T., Lee H. Silver accumulation and resistance in *Pseudomonas stutzeri* // Arch. Microbiol. – 1992. – **158**, N 6. – P. 398 – 404.
115. Smets B.F., Morrow J.B., Pinedo C.A. Plasmid introduction in metal-stressed, subsurface-derived microcosms: plasmid fate and community response // Appl. Environ. Microbiol. – 2003. – **69**, N 7. – P. 4087 – 4097.
116. Snoeyenbos-Wet O., Nevin K.P., Anderson R.T., Lovley D.R. Enrichment of *Geobacter* species in response to stimulation of Fe³⁺ reduction in sandy aquifer sediments // Microb. Ecol. – 2000. – **39**, N 2. – P. 153 – 167.
117. Song H.P., Li X.G., Sun J.S., Xu S.M., Han X. Application of magnetotactic bacterium, *Strenotrophomonas* sp. to the removal of Au(III) from contaminated wastewater with a magnetic separator // Chemosphere. – 2008. – **72**, N 4. – P. 616 – 621.
118. Srivastava S., Singh P., Bhagat R., Tripathi V.N. Application of bacterial biomass as a potential metal indicator // Curr. Science. – 2005. – **89**, N 7. – P. 1248 – 1251.
119. Sugio T., Tsujita Y., Katagiri T. et al. Reduction of Mo⁶⁺ with elemental sulfur by *Thiobacillus ferrooxidans* // J. Bacteriol. – 1988. – **170**, N 2. – P. 5956 – 5959.
120. Summers A.O. Generally overlooked fundamentals of bacterial genetics and ecology // Clin. Infect. Dis. – 2002. – **34**, N 1. – P. 85 – 92.
121. Summers A.O., Silver S. Mercury resistance in a plasmid-bearing strain of *Escherichia coli* // J. Bacteriol. – 1972. – **112**, N 3. – P. 1228 – 1236.
122. Tada Y., Inoue T. Use of oligotrophic bacteria for the biological monitoring of heavy metals // J. Appl. Microbiol. – 2000. – **88**, N 1. – P. 154 – 160.
123. Taniguchi J., Hemmi H., Tanahashi K. et al. Zinc biosorption by a zinc-resistant bacterium, *Brevibacterium* sp. strain HZM-1 // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2000. – **54**, N 4. – P. 581 – 588.
124. Teitzel G.M., Parsek M.R. Heavy metal resistance of biofilm and planctonic *Pseudomonas aeruginosa* // Appl. Environ. Microbiol. – 2003. – **69**, N 4. – P. 2313 – 2320.
125. Thelwell C., Robinson N.J., Turner-Cavet J.S. An SmtB-like repressor from *Synechocystis* PCC 6803 regulates a zinc exporter // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1998. – **95**, N 18. – P. 10728 – 10733.
126. Timoney J.F., Port J., Giles J., Spanier J. Heavy-metal resistance and antibiotic resistance in the bacterial flora of sediments of New York bight // Appl. Environ. Microbiol. – 1978. – **36**, N 3. – P. 465 – 472.
127. Top E.M., De Rore H., Collard J-M. et al. Retromobilization of heavy metal resistance genes in unpolluted and heavy metal polluted soil // FEMS Microbiol. Ecol. – 1995. – **18**, N 3. – P. 191 – 203.
128. Yanneste J.L., McLaren G.F., Yu J. et al. Copper and streptomycin resistance in bacterial strains isolated from stone fruit orchards in New Zealand // N. Z. Plant. Prot. – 2005. – **58**. – P. 101 – 105.
129. Vats N., Lee S.F. Characterization of copper transport operon, copYAZ, from *Streptococcus mutans* // Microbiology. – 2001. – **147**, N 3. – P. 653 – 662.
130. Vecchio A., Finoli C., Di Simone D., Andreoni V. Heavy metal biosorption by bacterial cells // Fresenius J. Anal. Chem. – 1998. – **361**, N 4. – P. 338 – 342.
131. Viti C., Pace A., Giovannetti L. Characterization of Cr(VI)-resistant bacteria isolated from chromium-contaminated soil by tannery activity // Curr. Microbiol. – 2003. – **46**, N 1. – P. 1 – 5.
132. Wang C.L., Ozuna S.C., Clark D.S., Keasling J.D. A deep-sea hydrothermal vent isolate, *Pseudomonas aeruginosa* CW961, requires thiosulfate for Cd²⁺ tolerance and precipitation // Biotechnol. Lett. – 2002. – **24**, N 8. – P. 637 – 641.
133. White V.E., Knowles C.J. Effect of metal complexation on the bioavailability of nitroacetate acid to *Chelatobacter heintzii* ATCC 29600 // Arch. Microbiol. – 2000. – **173**, N 5 – 6. – P. 373 – 382.
134. Wildung R.E., Gorby Y.A., Krupka K.M. et al. Effect of electron donor and solution chemistry on products of dissimilatory reduction of technetium by *Shewanella putrefaciens* // Appl. Environ. Microbiol. – 2000. – **66**, N 6. – P. 2451 – 2460.
135. Wireman J., Liebert C.A., Smith T., Summers A.O. Association of mercury resistance with antibiotic resistance in the gram-negative fecal bacteria of primates // Appl. Environ. Microbiol. – 1997. – **63**, N 11. – P. 4494 – 4503.
136. Xiong A., Jayaswal R.K. Molecular characterization of a chromosomal determinant conferring resistance to zinc and cobalt ions in *Staphylococcus aureus* // J. Bacteriol. – 1998. – **180**, N 16. – P. 4024 – 4029.
137. Yang C.-H., Menge J.A., Cooksey D.A. Role of copper resistance in competitive survival of *Pseudomonas fluorescens* in soil // Appl. Environ. Microbiol. – 1993. – **59**, N 2. – P. 580 – 584.
138. Ybarra G.R., Webb R. Effects of divalent metal cations and resistance mechanisms of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC 7942 // J. Hazard. Subst. Res. – 1999. – **2**. – P. 1 – 9.
139. Yilmaz E.I. Metal tolerance and biosorption capacity of *Bacillus circulans* EB1 // Res. Microbiol. – 2003. – **154**, N 6. – P. 409 – 415.
140. Zeroual Y., Moutaouakkil A., Blaghen M. Volatilization of mercury by immobilized bacteria (*Klebsiella pneumoniae*) in different support by using fluidized bed bioreactor // Curr. Microbiol. – 2001. – **43**, N 5. – P. 322 – 327.
141. Zscheck K.K., Murray B.E. Evidence for a staphylococcal-like mercury resistance gene in *Enterococcus faecalis* // Antimicrob. Agents Chemother. – 1990. – **34**, N 6. – P. 1287 – 1289.

Отримано 02.03.2008