

А.Н. Сизенцов¹,
Е.В. Бибарцева²,
Д.М. Синеок¹ ✉

¹ Оренбургский государственный университет, Оренбург, Российская Федерация
² Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург, Российская Федерация

✉ kwan111@yandex.ru

Поступила в редакцию:
30.06.2022

Одобрена после рецензирования:
29.08.2022

Принята к публикации:
29.09.2022

Aleksey N. Sizentsov,
Elena V. Bibartseva,
Dar'ya M. Sineok ✉

¹ Orenburg State University, Orenburg, Russian Federation
² Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

✉ kwan111@yandex.ru

Received by the editorial office:
30.06.2022

Accepted in revised:
29.08.2022

Accepted for publication:
29.09.2022

Сравнительная оценка уровня толерантности почвенных изолятов *Bacillus subtilis* в отношении химических соединений меди

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Биологический потенциал микроорганизмов обусловленный высоким уровнем физиолого-адаптационных характеристик к действию абиотических факторов (формирование резистентных форм) и имеет более широкий спектр применения в отличие от заместительной терапии. В нашей работе представлены экспериментальные данные по оценке уровня толерантности выделенных почвенных изолятов *Bacillus subtilis* в отношении различных химических соединений меди и степень влияния массивной катионной нагрузки на рост наиболее резистентных штаммов.

Методы. Для реализации поставленных задач использовали методы выделения и идентификации чистых культур микроорганизмов (получение бактериальных изолятов), диффузионный метод агаровых лунок (оценка ингибирующих характеристик химических соединений) и нефелометрический метод (влияние тяжелых металлов на рост микроорганизмов). В ходе выполнения эксперимента нами были выделены девять изолированных чистых культур исследуемых бактерий.

Результаты. Проведенный сравнительный анализ уровня биотоксичности меди позволил нам выявить наличие общей закономерности устойчивости штаммов к ацетату меди, наиболее высокие ингибирующие характеристики зарегистрированы у $\text{CuCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Наиболее устойчивым штаммом к химической нагрузке является изолят *B. subtilis* P-8, проявляющий резистентность к сверхвысоким концентрациям меди: $\text{CuCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и CuSO_4 — 0,125 М/л, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ — 0,250 М/л, в то время как штамм *B. subtilis* P-6 является наиболее чувствительным к двум из трех химических соединений. При проведении исследований по оценке уровня влияния сульфата меди на рост популяции отобранных нами штаммов было установлено, что данное соединение оказывает выраженное пролонгирующее действие на рост популяции клеток *B. subtilis* P-6 и *B. subtilis* P-8 с увеличением времени наступления стационарной фазы роста на 6 часов по отношению к контрольным показателям.

Ключевые слова: почвенная микрофлора, *Bacillus subtilis*, биотоксичность, медь, диффузионный метод, нефелометрический метод

Для цитирования: Сизенцов А.Н., Бибарцева Е.В., Синеок Д.М. Сравнительная оценка уровня толерантности почвенных изолятов *Bacillus subtilis* в отношении химических соединений меди. Аграрная наука. 2022; 363 (10): 86-90. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-363-10-86-90>

© Сизенцов А.Н., Бибарцева Е.В., Синеок Д.М.

Comparative assessment of the level of tolerance of *Bacillus subtilis* soil isolates in relation to chemical copper compounds

ABSTRACT

Relevance. The biological potential of microorganisms due to the high level of physiological and adaptive characteristics to the action of abiotic factors (the formation of resistant forms) and has a wider range of applications in contrast to substitution therapy. Our work presents experimental data on the assessment of the level of tolerance of soil isolates of *Bacillus subtilis* in relation to various chemical compounds of copper and the degree of influence of a massive cationic load on the growth of the most resistant strains.

Methods. To implement the tasks set, we used the methods of isolation and identification of pure cultures of microorganisms, the diffusion method of agar wells (assessment of the inhibitory characteristics of chemical compounds), and the nephelometric method (the effect of heavy metals on the growth of microorganisms).

Results. The most resistant strain to chemical stress is the *B. subtilis* P-8, isolate, which exhibits resistance to extremely high concentrations of copper: $\text{CuCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ and CuSO_4 — 0.125 M/l, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ — 0.250 M/l, while the strain *B. subtilis* P-6 is the most sensitive to two of the three chemicals. When conducting studies to assess the level of copper sulfate fusion on the growth of the population of strains selected by us, it was found that this compound has a pronounced prolonging effect on the growth of the cell population of *B. subtilis* P-6 and *B. subtilis* P-8 with an increase in the time of onset of the stationary phase of growth by 6 hours, relative to benchmarks.

Key words: soil microflora, *Bacillus subtilis*, biotoxicity, copper, diffusion method, nephelometric method.

For citation: Sizentsov A.N., Bibartseva E.V., Sineok D.M. Comparative assessment of the level of tolerance of *Bacillus subtilis* soil isolates in relation to chemical copper compounds. Agrarian science. 2022; 363 (10): 86-90. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-363-10-86-90> (In Russian).

© Sizentsov A.N., Bibartseva E.V., Sineok D.M.

Введение / Introduction

Популяризация научных данных в области биоэкологии и нутрициологии, по мнению многих ученых, является одним из наиболее перспективных направлений в области профилактики заболеваний человека и животных различной этиологии [1, 2]. Однако следует отметить, что основной упор делается на методы коррекции элементного статуса, обусловленного дефицитом эссенциальных элементов.

В условиях интенсивно развивающихся металлургических отраслей повышается риск техногенного воздействия на экологические системы различного уровня организации. Следует отметить, что в зависимости от уровня поступления жизненно важных концентраций элементов в организм их условно можно разделить на дефицитные, физиологически значимые (референтные) и избыточные (токсичные) концентрации. Одним из ключевых критериев является форма поступающего микронутриента, уровень усвоения которого обеспечивает полный физиологический цикл как на уровне клетки, так и на уровне систем организма и организма в целом.

В экологических системах немаловажным критерияльным показателем биологического действия тяжелых металлов является их способность к кумулятивному эффекту как в объектах внешней среды (вода, почва) [3, 4], так и в биологических объектах (растение, животное, человек). Соответственно при помощи воздействия на определенные звенья данной экологической цепи взаимодействия объектов появляется весьма перспективная возможность снижения уровня техногенной и геохимически аномальной нагрузки на многоклеточные сложноорганизованные биологические системы [5–7].

Оренбургская область является крупным многоотраслевым регионом, в котором наряду с высоким антропогенно-техногенным воздействием (газо-, нефте-, горнодобывающие и перерабатывающие предприятия) на экологические системы, существенно влияние и геохимически аномального распределения отдельных химических элементов. Данные показатели, в свою очередь, делают данную территорию универсальным полигоном для проведения исследований, связанных с методами коррекции содержания химических элементов в различных объектах экологической системы [8–13].

Одним из возможных методических подходов в решении данной проблемы является использование для регуляции валовых и подвижных форм тяжелых металлов различных микроорганизмов с выраженными сорбционными и биотрансформирующими характеристиками [14–17].

Исходя из вышеизложенного перед нами была поставлена цель оценить уровень толерантности почвенных изолятов *Bacillus subtilis* в отношении различных химических соединений меди.

Материалы и методы / Materials and methods

На текущем этапе проводилось комплексное исследование уровня биотоксичности солей меди с высоким уровнем диссоциации в водных растворах, что, в свою очередь, позволяет в условиях проводимого нами эксперимента создать массивную катионную нагрузку на субстрат.

На предварительном этапе исследования был произведен отбор почвенных образцов с территорий с высоким уровнем антропогенной сельскохозяйственной нагрузки. Отбор образцов производился в 5 точках определенного нами участка с глубины более 40 см.

В эксперименте использовалась усредненная проба. В качестве основных биологических объектов в работе использовались бактериальные штаммы *Bacillus subtilis*, выбор которых обусловлен их высоким биологическим потенциалом использования (интенсивный рост, высокие антагонистические характеристики, отсутствие патогенетического действия на организм человека и животных).

С целью выделения тестируемых штаммов из почвенных образцов нами производилась предварительная пробоподготовка, направленная на снижение общего уровня контаминации проб вегетативными формами различных бактериальных клеток. Для этого почвенные образцы ($50,0 \pm 2,0$ г) помещались в стерильные колбы и выдерживались на водяной бане в течение 90 минут. Высокий уровень резистентности спор исследуемого микроорганизма обеспечил нам возможность их выделения на плотных питательных средах.

Следующий этап — это выделение изолированных штаммов бактерий *Bacillus subtilis*, в рамках которого использовались следующие методические подходы: метод серийных разведений (1:10, 1:100...1:10 000), высев газонем на плотные питательные среды (метод Дригальского), выделение чистых культур (метод Коха) и идентификация микроорганизмов по культуральным характеристикам роста на плотных средах и окраске по Грамму.

Использование представленных методических подходов позволило нам выделить 9 изолированных штаммов, получивших штаммовую маркировку от Р (почвенный) - 1 до Р-9.

Далее — происходила оценка биотоксичности исследуемых химических соединений меди в отношении выделенных штаммов; следует отметить, что отбор солей производился с учетом уровня их диссоциации в водных растворах, что, в свою очередь, позволяло создать массивную катионную нагрузку на субстрат, а также оценить степень влияния анионного компонента в структуре соли на устойчивость и рост микроорганизмов.

Для реализации данной задачи нами использовался комбинированный метод диффузии в агаре с методом серийных разведений [18, 19]; для получения достоверно значимых результатов осуществлялось пятикратное дублирование эксперимента. Суть используемой методики заключается в оценке воздействия абиотического фактора на клетки в период начальной (лаг) фазы роста, что позволяет не только визуализировать степень воздействия тестируемых соединений на микроорганизмы, но и произвести статистическую обработку полученных результатов.

Наряду с результатами исследования толерантности и токсичности соединений, были определены рабочие концентрации (РК) исследуемых соединений меди, которые будут использоваться в различных экспериментах, сопряженных с реализацией, поставленной перед нами проблемы. В частности, на данном этапе реализации такие РК использовались для оценки степени влияния катионов меди на рост тестируемых штаммов в условиях периодического культивирования в жидких питательных средах.

Использование нефелометрического метода позволяет определить степень влияния исследуемых химических веществ на рост тестируемых штаммов для определения времени выхода популяции на стационарную фазу, в условиях периодического культивирования, с учетом достижения максимальных показателей оптической плотности. Динамику изменения оптической плотности

проводили с помощью интервального (3 часа) замера до получения трехкратных близких по значению результатов. Идентичность данных исследования свидетельствовала о наступлении фазы максимальной концентрации роста. В рамках реализации данной методики нами была разработана схема выполнения эксперимента (таблица 1). Суть предложенной методики заключается в использовании интервального внесения тестируемого вещества в РК, определенных диффузионным методом, в комбинации с серийным разведением исследуемого микроорганизма для сбора данных как в дневное, так и в ночное время суток.

Разработанный методический подход (таблица 1) к реализации, поставленной перед нами задачи позволит нам провести не только оценку степени влияния тяжелых металлов на бактериальную популяцию, но и время наступления фазы максимальной концентрации роста. Преимущество используемой методики заключается не только в простоте выполнения, но и в увеличении кратности повторов проводимых замеров для получения достоверно значимых результатов проводимого исследования.

Таблица 1. Схема интервального внесения металлов и бактериальных штаммов для определения динамического изменения оптической плотности популяции

Table 1. The scheme of interval application of metals and bacterial strains to determine the dynamic change in the optical density of the population

Интервал замеров	Время в часах	Исследуемые группы			
		1-я (n = 10)	2-я (n = 10)	3-я (n = 10)	4-я (n = 10)
0	8:00	0			
3	11:00	3	0		
6	14:00	6	3	0	
9	17:00	9	6	3	0
12	20:00	12	9	6	3
15	23:00*	15*	12*	9*	6*
18	2:00*	18*	15*	12*	9*
21	5:00*	21*	18*	15*	12*
24	8:00	24	21	18	15
27	11:00	27	24	21	18
30	14:00	30	27	24	21
33	17:00	33	30	27	24
36	20:00	36	33	30	27
39	23:00	39	36	33	30

Примечание: * — невозможность проведения замеров в связи с ночным временем суток

Таблица 2. Биологическое тестирование уровня резистентности тестируемых штаммов почвенных изолятов *B. subtilis* в отношении химических соединений меди

Table 2. Biological testing of the resistance level of tested strains of soil isolates of *B. subtilis* against chemical compounds of copper

Соли металлов	Концентрация исследуемых солей, моль/л						
	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,03125	0,01562
Bacillus subtilis P-1							
CuCl ₂ · 7H ₂ O	29,00±1,52	22,66±1,76	19,00±2,08	12,66±1,33	R	R	R
CuSO ₄	22,66±0,66	14,66±0,33	11,66±0,66	9,33±1,20	8,00±0,00	R	R
Cu(CH ₃ COO) ₂	17,00±0,00	10,66±0,66	R	R	R	R	R
Bacillus subtilis P-2							
CuCl ₂ x·7H ₂ O	30,00±0,57	27,33±0,33	22,66±0,33	11±1,54	R	R	R
CuSO ₄	23,00±1,00	19,66±1,20	14,00±0,00	R	R	R	R
Cu(CH ₃ COO) ₂	18,00±0,57	10,33±0,33	R	R	R	R	R
Bacillus subtilis P-3							
CuCl ₂ · 7H ₂ O	35,00±0,00	35,00±0,00	16,33±0,33	R	R	R	R
CuSO ₄	22,66±0,88	23,66±2,72	21,66±1,85	20,66±0,88	R	R	R
Cu(CH ₃ COO) ₂	15,00±2,51	10,33±1,45	R	R	R	R	R
Bacillus subtilis P-4							
CuCl ₂ · 7H ₂ O	27,00±1,00	24,33±0,66	20,00±0,00	13,33±1,66	R	R	R
CuSO ₄	24,66±1,20	19,00±0,57	R	R	R	R	R
Cu(CH ₃ COO) ₂	14,66±1,45	9,33±0,88	R	R	R	R	R
Bacillus subtilis P-5							
CuCl ₂ x·7H ₂ O	27,00±1,52	22,33±0,66	16,33±1,45	12,00±0,57	10,00±0,57	R	R
CuSO ₄	25,00±1,15	20,33±1,20	10,33±1,85	R	R	R	R
Cu(CH ₃ COO) ₂	14,33±0,66	R	R	R	R	R	R
Bacillus subtilis P-6							
CuCl ₂ · 7H ₂ O	28,66±1,33	27,00±1,00	20,00±1,51	15,33±3,33	9,33±0,66	9,00±0,00	R
CuSO ₄	26,66±1,45	21,66±2,18	16,00±2,88	15,00±3,05	R	R	R
Cu(CH ₃ COO) ₂	19,00±1,00	R	R	R	R	R	R
Bacillus subtilis P-7							
CuCl ₂ · 7H ₂ O	28,33±1,2	25,66±2,4	18,33±1,45	13,33±0,33	R	R	R
CuSO ₄	23,66±1,66	19,00±0,57	17,00±2,88	11,00±0,57	R	R	R
Cu(CH ₃ COO) ₂	17,00±0,57	R	R	R	R	R	R
Bacillus subtilis P-8							
CuCl ₂ · 7H ₂ O	34,00±0,57	27,00±2,08	17,66±2,02	R	R	R	R
CuSO ₄	28,33±3,84	22,66±2,90	21,33±0,88	R	R	R	R
Cu(CH ₃ COO) ₂	15,66±2,02	9,66±2,18	R	R	R	R	R
Bacillus subtilis P-9							
CuCl ₂ · 7H ₂ O	29,33±1,76	23,33±0,88	15,33±1,76	14,00±0	10,00±0,57	R	R
CuSO ₄	24,33±0,33	18,33±1,45	12,33±0,33	R	R	R	R
Cu(CH ₃ COO) ₂	17,33±1,45	10±0,57	R	R	R	R	R

Таблица 3. Определение степени влияния сульфата меди на рост популяции тестируемых штаммов *B. subtilis* в условиях периодического культивирования в жидких питательных средах, относительная оптическая плотность

Table 3. Determination of the degree of influence of copper sulfate on the growth of the population of tested strains of *B. subtilis* under conditions of periodic cultivation in liquid nutrient media, relative optical density

Время, ч.	Контроль, отн. ед.		Культивирование штаммов в присутствии рабочих концентраций CuSO_4	
	<i>Bacillus subtilis</i> P-6	<i>Bacillus subtilis</i> P-8	<i>Bacillus subtilis</i> P-6	<i>Bacillus subtilis</i> P-8
0	0,003±0,0006	0,001±0,0003	0,002±0,0002	0,002±0,0002
3	0,024±0,0007	0,014±0,0003	0,024±0,0007	0,027±0,0007
6	0,033±0,0006	0,033±0,0003	0,035±0,0003	0,035±0,0003
9	0,047±0,0009	0,046±0,0003	0,041±0,0007*	0,042±0,0012
12	0,053±0,0007	0,054±0,0003	0,047±0,0006**	0,047±0,0006**
15	0,082±0,0003	0,057±0,0006	0,055±0,0009	0,058±0,0003
18	0,097±0,0003	0,075±0,0003	0,076±0,0006	0,064±0,0003**
21	0,114±0,0003	0,088±0,0003	0,082±0,0003***	0,072±0,0009**
24	0,144±0,0006	0,089±0,0006	0,086±0,0003	0,076±0,0003**
27	0,145±0,0007	0,124±0,0007	0,098±0,0003***	0,086±0,0003***
30	0,145±0,0003	0,155±0,0003	0,111±0,0058**	0,095±0,0003***
33	0,145±0,0003	0,155±0,0001	0,119±0,0003***	0,097±0,0003***
36	0,145±0,0003	0,155±0,0003	0,119±0,0003**	0,122±0,0003***
39	0,145±0,0001	0,155±0,0003	0,120±0,0001***	0,122±0,0003***

Примечание: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Результаты и их обсуждение/Results and discussion

В рамках реализации задачи, направленной на оценку уровня биологического действия химических соединений меди на почвенные изоляты бактерий *Bacillus subtilis*, нами было установлено отсутствие индифферентных значений у всех исследуемых штаммов в отношении 1-молярных концентраций исследуемых солей (таблица 2).

Данные, представленные в таблице 2, свидетельствуют, что наиболее выраженным ингибирующим действием в отношении всех исследуемых штаммов обладает CuCl_2 , зоны ингибирования которого находились в диапазоне средних значений от 27 мм (штаммы *B. subtilis* P-4 *B. subtilis* P-5) до 35 мм (*B. subtilis* P-3). Минимальные значения биотоксичности фиксировались в образцах с внесением $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, где диаметральные значения отсутствия роста имели существенно более низкие показатели. Так, в случае внесения CuCl_2 и CuSO_4 в концентрации 1 М/л зоны ингибирования роста превышали показатели образцов с $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ для P-1 — на 41,38% и 24,98%, P-2 — на 40,00% и 21,74%, P-3 — на 57,14% и 33,80%, P-4 — на 45,70% и 40,55%, P-5 — на 46,93% и 42,68%, P-6 — на 33,71% и 28,73%, P-7 — на 39,99% и 28,15%, P-8 — на 53,94% и 44,72%, P-9 — на 40,91% и 28,77% соответственно.

Следует отметить, что по мере снижения концентрации исследуемых химических соединений меди до 0,5 М/л у всех исследуемых штаммов сохраняется общая тенденция выраженной чувствительности к присутствию CuCl_2 и CuSO_4 , в то время как по отношению к $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ три тестируемых штамма проявили выраженную резистентность (*B. subtilis* P-5, *B. subtilis* P-6, *B. subtilis* P-7).

Максимальный уровень антимикробной активности CuCl_2 установлен в отношении штамма *B. subtilis* P-6, минимальная ингибирующая концентрация (МИК) составила 0,031 М/л, CuSO_4 — *B. subtilis* P-1 (МИК — 0,0625 М/л).

Критерием предварительного отбора штаммов «биоремедиаторов» в условиях повышенной факторной

нагрузки, обусловленной избыточным поступлением меди, являлась их устойчивость ко всем тестируемым химическим соединениям. Обобщенный анализ полученных данных позволяет нам гипотетически определить наиболее перспективный штамм *B. subtilis* P-8 проявляющий выраженную толерантность (в концентрациях 0,125 моль/л) к соединениям меди независимо от анионного компонента в их структуре.

Заключительный этап выполняемого блока экспериментальных исследований заключался в оценке степени влияния исследуемых соединений меди на рост популяции тестируемых штаммов (таблица 3).

Полученные в ходе эксперимента данные свидетельствуют о наличии выраженного биологического действия всех исследуемых солей на тестируемые штаммы проявляющегося в виде существенного пролонгирования экспоненциальной фазы роста на фоне более низких характеристик интенсивности роста по отношению к контрольным значениям. В качестве примера в таблице 3 приведены динамические характеристики роста популяции штаммов с минимальными и максимальными значениями резистентности в отношении сульфата меди.

Выводы / Conclusion

Полученные в результате системного анализа данные, позволили нам установить наиболее толерантный к факторной нагрузке штамм *B. subtilis* P-8, что, в свою очередь, гипотетически обусловлено значительными биоаккумулирующими характеристиками (депонирование и биотрансформация элемента), обеспечивающими устойчивость к токсическому действию меди. Использование нефелометрического метода определения относительной оптической плотности позволило нам установить оптимальное время (39 часов инкубирования в среде с добавлением РК солей) отбора биомассы (популяции) тестируемых штаммов для определения уровня накопительного эффекта (биоремедиационные характеристики), который будет исследован в рамках реализации следующего блока экспериментов.

Все авторы несут ответственность за свою работу и представленные данные.
Все авторы внесли равный вклад в эту научную работу.
Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

All authors bear responsibility for the work and presented data.

All authors have made an equal contribution to this scientific work.
The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism.
The authors declare no conflict of interest.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Киричук А.А., Горбачев А.Л., Тармаева И.Ю. под редакцией Скальный А.В. Биоэлементология как интегративное направление науки о жизни. Издательство: РУДН Москва. 2020, 110 с.
2. Скальный А.В., Киричук А.А. Химические элементы в экологии, физиологии человека и медицине. Издательство: РУДН Москва. 2020, 209.
3. Skalnyi A.V., Salnikova E.V., Burtseva T.I., Skal'naya M.G., Tinkov A.A. Zinc, copper, cadmium, and lead levels in cattle tissues in relation to different metal levels in ground water and soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26 (1), 559:569.
4. Сальникова Е.В., Бурцева Т.И., Кудрявцева Е.А., Кустова А.С. Экологическая оценка содержания цинка в экосистеме (почва, вода, продукты питания) на территории Оренбургской области. *Вестник Оренбургского государственного университета*, 2012, 6 (142), 184:187.
5. Babita Sharma, Pratyosh Shukla. Lead bioaccumulation mediated by *Bacillus cereus* BPS-9 from an industrial waste contaminated site encoding heavy metal resistant genes and their transporters. *Journal of Hazardous Materials*. 2021 Jan 5;401:123285. doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.123285.
6. Lina Velásquez, Jenny Dussan. Biosorption and bioaccumulation of heavy metals on dead and living biomass of *Bacillus sphaericus*. *Journal of Hazardous Materials*. 2009 Aug 15;167 (1-3):713-6. doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.01.044.
7. Pooja Sharma, Deblina Dutta, Aswathy Udayan, Ashok Kumar Nadda, Su Shiung Lam, Sunil Kumar. Role of microbes in bioaccumulation of heavy metals in municipal solid waste: Impacts on plant and human being. *Environmental Pollution*. 2022 Jul 15;305:119248. doi: 10.1016/j.envpol.2022.119248.
8. Гарицкая М.Ю. и др. Геоинформационный мониторинг химического загрязнения почв различных функциональных зон города Оренбурга. *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*, 2016, 3 (59), 171:173.
9. Белов В.С. и др. Госдоклад «О состоянии и об охране окружающей среды Оренбургской области в 2017 году». Оренбург, 2018.
10. Гулак Н.В. Состояние окружающей среды Оренбургской области и правовые средства ее охраны. *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*, 2010, 3 (21:1), 255-257.
11. Чибилёв А.А. Бассейн Урала: история, география, экология. Екатеринбург: УрО РАН, 2008, 312.
12. Смирнова Е.В. Современное состояние качества вод реки Урал в пределах Оренбургской области. *Экология и безопасность в техносфере: современные проблемы и пути решения: сборник трудов Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов*, 2017, 386:389.
13. Алферов И.Н., Яковенко Н.В. Проблема обеспечения качественной питьевой водой населения вододефицитного региона Оренбургской области. *Экология человека*, 2016, 4, 3:8.
14. Mishra A., Malik A. Simultaneous bioaccumulation of multiple metals from electroplating effluent using *Aspergillus lentulus*. *Water research*, 2012, 46 (16), 4991:4998.
15. Li Z. and al. A review of soil heavy metal pollution from mines in China: pollution and health risk assessment. *Science of the total environment*, 2014, 468, 843:853.
16. Gola D. and al. Multiple heavy metal removal using an entomopathogenic fungi *Beauveria*. *Bioresource technology*, 2016, 218, 388:396.
17. Chojnacka K. Biosorption and bioaccumulation – the prospects for practical applications. *Environment international*, 2010, 36 (3), 299:307.
18. Быков А.В., Межуева Л.В., Кван О.В., Сизентсов А.Н., Быкова Л.А. Устройство для получения однородных смесей. Патент 2688599, 2019.
19. A. Sizentsov, O. Davydova, H. Nikiyan, Ya. Sizentsov, E. Barysheva, A. Bykov. Assessment the technology for heavy metal biotoxicity and biosorption by bacterial cells. *Biochemical and Cellular Archives*, 2021, 21 (1), 901:906.

ОБ АВТОРАХ:

Алексей Николаевич Сизентцов, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и микробиологии, Оренбургский государственный университет, 13, пр. Победы, Оренбург, 460018, Российская Федерация
e-mail: kwan111@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1099-3117>

Елена Владимировна Бибарцева, кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии, Оренбургский государственный медицинский университет, 45, ул. М. Горького, Оренбург, 460000, Российская Федерация
e-mail: l.vladi2010@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3765-5740>

Дарья Михайловна Синеок, студент, Оренбургский государственный университет, 13, пр. Победы, Оренбург, 460018, Российская Федерация
e-mail: dashasineok@mail.ru

REFERENCES

1. Kirichuk A.A., Gorbachev A.L., Tarmaeva I.Yu. edited by Skalny A.V. Bioelementology as an integrative direction of life science. Publishing House: RUDN Moscow. 2020, 110 (In Russian)
2. Skalny A.V., Kirichuk A.A. Chemical elements in ecology, human physiology and medicine. Publishing House: RUDN Moscow. 2020, 209. (In Russian)
3. Skalnyi A.V., Salnikova E.V., Burtseva T.I., Skal'naya M.G., Tinkov A.A. Zinc, copper, cadmium, and lead levels in cattle tissues in relation to different metal levels in ground water and soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26 (1), 559:569.
4. Salnikova E.V., Burtseva T.I., Kudryavtseva E.A., Kustova A.S. Ecological assessment of the zinc content in the ecosystem (soil, water, food) in the Orenburg region. *Bulletin of the Orenburg State University*, 2012, 6 (142), 184:187. (In Russian)
5. Babita Sharma, Pratyosh Shukla. Lead bioaccumulation mediated by *Bacillus cereus* BPS-9 from an industrial waste contaminated site encoding heavy metal resistant genes and their transporters. *Journal of Hazardous Materials*. 2021 Jan 5;401:123285. doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.123285.
6. Lina Velásquez, Jenny Dussan. Biosorption and bioaccumulation of heavy metals on dead and living biomass of *Bacillus sphaericus*. *Journal of Hazardous Materials*. 2009 Aug 15;167 (1-3):713-6. doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.01.044.
7. Pooja Sharma, Deblina Dutta, Aswathy Udayan, Ashok Kumar Nadda, Su Shiung Lam, Sunil Kumar. Role of microbes in bioaccumulation of heavy metals in municipal solid waste: Impacts on plant and human being. *Environmental Pollution*. 2022 Jul 15; 305: 119248. doi: 10.1016/j.envpol.2022.119248.
8. Garitskaya M.Yu. End al. Geoinformation monitoring of chemical contamination of soils of various functional zones of the city of Orenburg. *Proceedings of the Orenburg State Agrarian University*, 2016, 3 (59), 171:173. (In Russian)
9. Belov V.S. and al. State Report «On the state and environmental protection of the Orenburg region in 2017». Orenburg, 2018. (In Russian)
10. Gulak N.V. State environment of the Orenburg region and legal means of its protection. *Proceedings of the Orenburg State Agrarian University*, 2010, 3 (21:1), 255-257. (In Russian)
11. Chibilev A.A. Ural basin: history, geography, ecology. Yekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2008, 312. (In Russian)
12. Smirnova E.V. The current state of the water quality of the Ural River within the Orenburg region. Ecology and safety in the technosphere: modern problems and solutions: proceedings of the All-Russian Scientific and Practical Conference of Young Scientists, postgraduates and Students, 2017, 386:389. (In Russian)
13. Alferov I.N., Yakovenko N.V. The problem of providing quality drinking water of the population of the water-deficient region of the Orenburg region. *Human ecology*, 2016, 4, 3:8. (In Russian)
14. Mishra A., Malik A. Simultaneous bioaccumulation of several metals from wastewater electroplating using *Aspergillus lentulus*. *Water research*, 2012, 46 (16), 4991:4998.
15. Li Z. and al. A review of soil heavy metal pollution from mines in China: pollution and health risk assessment. *Science of the total environment*, 2014, 468, 843:853.
16. Gola D. and al. Multiple heavy metal removal using an entomopathogenic fungi *Beauveria*. *Bioresource technology*, 2016, 218, 388:396.
17. Chojnacka K. Biosorption and bioaccumulation – the prospects for practical applications. *Environment international*, 2010, 36 (3), 299:307.
18. Bykov A.V., Mezhujeva L.V., Kvan O.V., Sizentsov A.N., Bykova L.A. Device for obtaining homogeneous mixtures. Patent 2688599, 2019. (In Russian)
19. A. Sizentsov, O. Davydova, H. Nikiyan, Ya. Sizentsov, E. Barysheva, A. Bykov. Assessment the technology for heavy metal biotoxicity and biosorption by bacterial cells. *Biochemical and Cellular Archives*, 2021, 21 (1), 901:906.

ABOUT THE AUTHORS:

Alexey Nikolaevich Sizentsov, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Biochemistry and Microbiology, Orenburg State University, 3, Pobedy Ave., Orenburg, 460018, Russian Federation
e-mail: kwan111@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1099-3117>

Elena Vladimirovna Bibartseva, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology, Immunology, Orenburg State Medical University, 45, st. M. Gorky, Orenburg, 460000, Russian Federation
e-mail: l.vladi2010@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3765-5740>

Darya Mikhailovna Sineok, student, Orenburg State University, 3, Pobedy Ave., Orenburg, 460018, Russian Federation
e-mail: dashasineok@mail.ru