

УДК 553.411:579.66

**ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА СООБЩЕСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ,
ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ КЕКА ФИЛЬТРАЦИИ ПОСЛЕ ПЕРЕРАБОТКИ
СУЛЬФИДНОЙ ЗОЛОТОСОДЕРЖАЩЕЙ РУДЫ****Пашкевич Р.И., Хайнасова Т.С.***ФГБУН «Научно-исследовательский геотехнологический центр» Дальневосточного отделения
Российской академии наук (НИГТЦ ДВО РАН), Петропавловск-Камчатский, e-mail: nigtc@nigtc.ru*

Золотодобывающая промышленность и ряд производств используют в своей деятельности цианиды и их производные, которые являются чрезвычайно токсичными химическими веществами. Из-за способности образовывать стойкие соединения с металлами и инактивировать ферменты дыхательной цепи проблема детоксикации цианидов актуальна для многих стран. Несмотря на токсичность этих соединений, некоторые организмы, в том числе бактерии, грибы, водоросли, растения и животные, способны к синтезу и ассимиляции цианидов. В настоящей работе представлены результаты высокопроизводительного секвенирования маркерного гена 16S рРНК сообщества микроорганизмов, выделенного из полученного при переработке золотосодержащей руды месторождения Аметистовое (Камчатский край) кека фильтрации. Анализ таксономического состава показал присутствие группы хорошо известных и некультивируемых микроорганизмов, представленных на уровне домена главным образом бактериями. В сообществе доминировали грамотрицательные мезофильные аэробные микроорганизмы, для которых характерен гетеротрофный способ питания. В составе доминирующих представителей сообщества были обнаружены как типичные бактерии, способные к ассимиляции и деструкции цианида и его производных (роды *Rhizobium*, *Sediminibacterium*, *Sphingomonas*, *Acidovorax*, *Acinetobacter*, *Hafnia*, *Pseudomonas* и др.), так и микроорганизмы, принимающие участие в окислительно-восстановительных реакциях трансформации серо- и металлосодержащих соединений (роды *Herminiimonas* и *Cupriavidus*). Преобладающим по количеству (32%) являлся род *Sediminibacterium*, роль которого в синтезе или деструкции цианидов неизвестна. Он, как и остальные представители анализируемого сообщества, недостаточно изучен на сегодняшний день. Данные микроорганизмы встречаются в природных и техногенных объектах, что не исключает их потенциальной роли в ассимиляции и диссимиляции цианосодержащих соединений.

Ключевые слова: высокопроизводительное секвенирование, цианиды, тиоцианаты, цианирование, бактерии**STUDY OF THE COMPOSITION OF THE MICROORGANISM COMMUNITY
ISOLATED FROM THE FILTRATION CAKE OBTAINED
FROM THE PROCESSING OF GOLD BEARING ORE****Pashkevich R.I., Khaynasova T.S.***Research Geotechnological Center, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences
(RGC FEB RAS), Petropavlovsk-Kamchatsky, e-mail: nigtc@nigtc.ru*

The gold mining industry and a number of industries use cyanides and their derivatives which are extremely toxic chemicals. The problem of cyanide detoxification is relevant for many countries because cyanides are able to form stable compounds with metals and inactivate respiratory chain enzymes. Despite the toxicity of cyanides many organisms including bacteria, fungi, algae, plants and some animals are able to synthesize and assimilate these compounds. This work presents the results of high-throughput sequencing of the marker gene 16S rRNA of a community of microorganisms isolated from the filtration cake obtained from the processing of gold ore from the Amethystovoye deposit (Kamchatka Krai). Analysis of the taxonomic composition showed a group of well-known and uncultivated microorganisms represented at the domain level mainly by bacteria. Gram-negative mesophilic aerobic heterotrophic microorganisms dominated the community. Typical bacteria capable of assimilation and destruction of cyanide and its derivatives (genera *Rhizobium*, *Sediminibacterium*, *Sphingomonas*, *Acidovorax*, *Acinetobacter*, *Hafnia*, *Pseudomonas*, etc.) as well as microorganisms involved in redox and sulfur- and metal transformation reactions (genera *Herminiimonas* and *Cupriavidus*) were found in the community. The genus *Sediminibacterium* whose role in the synthesis or destruction of cyanides is not known prevailed in number (32%). It like other representatives of the analyzed community is found in natural and technogenic objects which do not exclude their potential role in the assimilation and dissimilation of cyanide compounds.

Keywords: high throughput sequencing, cyanides, thiocyanates, cyanidation, bacteria

Основная часть золота, ежегодно добываемого во всем мире, в частности в США, Китае, Австралии, России, странах Европы и Африки, извлекается с помощью цианистого выщелачивания. Используемые цианиды являются чрезвычайно токсичными химическими соединениями, способными связываться

с металлами и инактивировать ферменты дыхательной цепи [1]. Помимо золотодобывающей промышленности, источниками цианидов служат гальваническое, газовое, лакокрасочное и металлургическое производство, газификация угля. В связи с этим на сегодняшний день актуальна проблема их утилизации [2].

Соединения, содержащие циано-группу ($-C\equiv N$), в природе присутствуют в различных формах, но токсичность их зависит от способности образовывать свободный цианид (CN^-). Чаще они встречаются в виде металл-цианидных комплексов. Например, в виде легко диссоциируемых комплексов с никелем, медью и цинком или более устойчивых соединений с железом и кобальтом. Другие важные производные цианида представлены цианатом (OCN^-), образующимся при окислении цианида, тиоцианатом (SCN^-) – продуктом взаимодействия между свободной формой цианида и присутствующей в рудах восстановленной серой, нитрилами или циангидринами, органическими формами цианида. Пути разложения цианидов различны. Они основываются на реакциях окисления, восстановления, замещения, присоединения и гидролиза.

Несмотря на токсичность этих соединений, многие организмы, в том числе бактерии, грибы, водоросли, растения и некоторые животные, способны как синтезировать цианиды, так и ассимилировать. Обширная группа микроорганизмов использует в своем метаболизме CN^- и SCN^- в качестве источников энергии и серы и/или азота, что делает ее потенциальным объектом для использования в биологической детоксикации сточных вод и растворов металлургических производств. Такая способность обнаружена у бактерий родов *Arthrobacter*, *Pseudomonas* (*P. pseudoalcaligenes*, *P. fluorescens*, *P. stutzeri*, *P. putida*, *P. diminuta*), *Bacillus* (*B. pumilus*), *Acinetobacter* (*A. johnsonii*), *Halomonas* (*H. meridians*), *Klebsiella* (*K. pneumoniae*), *Ralstonia*, *Acidovorax*, *Escherichia*, *Methylobacterium*, *Thiobacillus* (*T. thioparvus*), а также у *Alcaligenes xylosooxidans* subsp. *denitrificans*, *Paracoccus thiocyanatus*, *Thioalkalivibrio thiooxyanoxidans*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Thiohalophilus thiocyanoxidans* и др. При этом некоторые микроорганизмы, помимо цианидов, попутно окисляют тиосульфаты, тетрагидраты, сульфиды и элементную серу, расширяя области возможного промышленного применения [2, 3].

Цель работы: исследовать таксономический состав сообщества микроорганизмов, выделенного из кека фильтрации после переработки сульфидной золотосодержащей руды и принимающего участие в ассимиляции и диссимиляции цианидов и извлечения золота, с помощью высокопроизводительного секвенирования.

Материалы и методы исследования

В работе использовали микробное сообщество, выделенное в НИГТЦ ДВО РАН из кека фильтрации, полученного после цианирования золотосодержащей руды месторождения Аметистовое (Камчатский край). Технологическая усредненная проба кека, светло-коричневого цвета, без запаха, влажностью 21,5% и сохраненная при температуре от -10 до $+30$ °С, имела содержание золота 0,39 г/т, серебра – 5,6 г/т.

Выделение микробной биомассы осуществляли в периодическом режиме в биореакторе с механическим перемешиванием путем добавления к кеку (225 г) дистиллированной воды (1800 мл) в соотношении Т:Ж 1:8. Культивирование происходило при средней температуре 27 °С в течение 8 дней. На момент окончания процесса количество микроорганизмов в растворе, определяемое прямым подсчетом на микроскопе с фазово-контрастной насадкой «МИКРОМЕД 3 вар. 3-20» (Россия, Китай), насчитывало $3,6 \cdot 10^7$ кл/мл.

Таксономический состав выделенной биомассы исследовали с помощью высокопроизводительного секвенирования маркерного гена 16S рРНК, выполненного в Федеральном исследовательском центре «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук (Москва) по договору о НИР [4].

В ходе молекулярно-биологических исследований ДНК выделяли следующим стандартным методом. Образец ресуспендировали в 200 мкл лизирующего буфера (0,15 М NaCl, 0,1 М Na_2EDTA (pH 8,0)), содержащего 15 мг/мл лизоцима. После чего инкубировали на водяной бане при 37 °С в течение 60 мин, тщательно встряхивая лизат каждые 10 мин. Затем вносили аналогичное количество 200 мкл буфера (0,1 М NaCl, 0,5 М Tris-HCl (pH 8,0)) и додецилсульфат натрия до конечной концентрации 0,5%. Дальнейшее разрушение клеток осуществляли с помощью гомогенизатора FastPrep® 24 (MP Biomedicals, США) в соответствии с инструкциями производителя. После гомогенизации проводили обработку протеиназой К, которую добавляли до конечной концентрации 100 мкг/мл, после чего лизат инкубировали в течение 40 мин на водяной бане при 50 °С. Эффективность лизиса определяли подсчетом клеток в световом микроскопе с фазово-контрастным устройством. Затем к лизату добавляли равный объем смеси фенол-хлороформ (фенол был насыщен

0,1 М Tris-HCl (pH 8,0); хлороформ представлял собой смесь хлороформа и изоамилового спирта в соотношении 24:1). Полученную смесь аккуратно перемешивали в течение 10–20 мин. Смесь центрифугировали при 12000 x g в течение 8 мин. Затем отбирали супернатант, который еще 2 раза аналогичным образом обрабатывали хлороформом. К получившемуся объему супернатанта добавляли 0,1 часть 3 М ацетат натрия (pH 5,2) и 3 части 96% спирта. Для осаждения ДНК данную смесь инкубировали при –20°C в течение ночи. Затем ДНК осаждали центрифугированием при 12000 x g в течение 20 мин. Осадок последовательно промывали и центрифугировали при 12000 x g в течение 8 мин сначала в 70% спирте, затем в 96%, после чего супернатант удаляли. Полученный осадок тщательно высушивали и растворяли в 30–50 мкл ТЕ буфера (10 мМ Tris-HCl, 1 мМ EDTA (pH 8,0)). Получившийся раствор ДНК очищали от примесей РНК путем инкубации с РНКазой А (конечная концентрация 0,2 мг/мл) в течение 2 ч при 37°C. Также ДНК очищали с помощью набора крупных фрагментов ДНК Wizard® DNA Clean-Up System (Promega, США). Качественная и количественная оценка полученных препаратов ДНК производилась на спектрофотометре DropSense-96® (Trinean, Бельгия). После лизиса буфер с раствором ДНК хранили при –20°C в течение приблизительно 70 сут [4].

Библиотеки для секвенирования были приготовлены в соответствии с ранее описанным протоколом. В качестве универсальных использовали праймеры Pro341F(5'-ССТACGGGNBGCASCAG-3') и Pro805R(5'-GACTACNVGGGTATСТААТСС-3'), которые позволяют амплифицировать варибельные участки генов 16S рРНК V3 и V4. Для дальнейшего секвенирования полученные ампликоны разделяли с помощью электрофореза в агарозном геле. Вырезанные из геля ампликоны очищали с помощью набора для очистки ДНК из геля и реакционных смесей Cleanup Standard (Евроген, Россия) [4].

Секвенирование проводили при помощи набора реагентов, обеспечивающего длину прочтения 300 нуклеотидов с каждого конца ампликона. Первичная обработка (фльтрация и демультимплексирование) полученных прочтений производилось при помощи ПО CLC Genomics Workbench 7.5 (Qiagen, США). Полученные данные были обработаны с помощью онлайн-сервиса SILVangs

(<https://www.arb-silva.de/ngs/>). Всего было проанализировано 59392 фрагмента средней длиной 486 нуклеотида [4].

Результаты исследования и их обсуждение

Оценка выделенных таксономических единиц в ходе метагеномного секвенирования 16S рРНК показала присутствие 181 известного рода и неклассифицированных групп микроорганизмов. Таксономическое разнообразие на уровне доменов было представлено практически только бактериями. Археи насчитывали лишь тысячные доли процента (рисунок, таблица). До вида идентифицировать микроорганизмы не удалось.

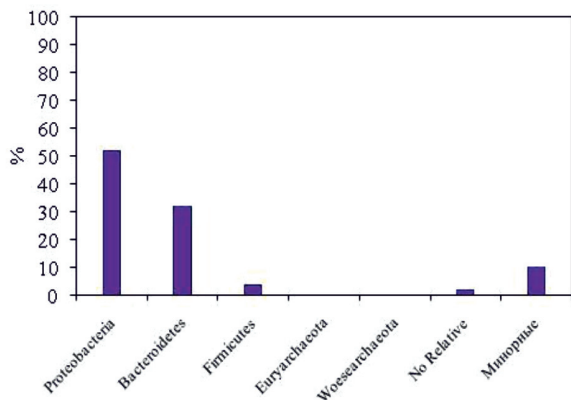
Дальнейшему анализу подвергали доминирующие таксономические единицы, доля которых составляла $\geq 1\%$. На уровне филумов бактерии характеризовались присутствием *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* и *Firmicutes*. Причем на протеобактерии приходилось более 50%. Таксономический состав включал 5 классов, представленных главным образом *Bacteroidia*, *Betaproteobacteria* и *Alphaproteobacteria*, 9 порядков с доминированием *Chitinophagales*, *Rhizobiales* и *Burkholderiales*, 13 семейств с явным преобладанием *Chitinophagaceae* и 15 родов, среди которых преобладал *Sediminibacterium*.

Бактерии рода *Sediminibacterium* представлены строго аэробными грамотрицательными палочками, способными к гетеротрофному росту и выделяемыми из почв и различных водных объектов (сточные воды, пресная вода и др.) [5]. Информации о непосредственной причастности данных бактерий к синтезу или разрушению цианидов в литературе не имеется. Однако в результате того, что микроорганизмы были выделены сравнительно недавно и слабо изучены, о действительной их роли сложно судить.

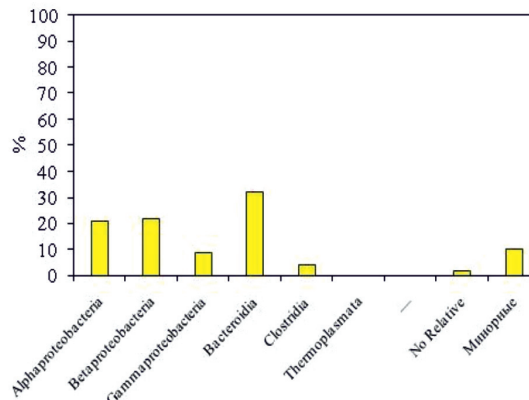
Микроорганизмы, которые имеют отношение к ассимиляции или разложению цианидов, в анализируемом сообществе были представлены в меньшем количестве. Так, бактерии рода *Rhizobium* – второго (11%) рода после *Sediminibacterium*, ранее выделяемые из перерабатывающих никель-содержащие цианиды биореакторов, способны к ассимиляции большого количества цианида [6]. Есть сведения о том, что идентифицированные в настоящей работе представители родов *Sphingomonas* (например,

S. paucimobilis) и *Acidovorax* способны к де-струкции цианида и тиоцианата. Немало-важная роль *Acinetobacter* подтверждается данными о способности разрушать широ-

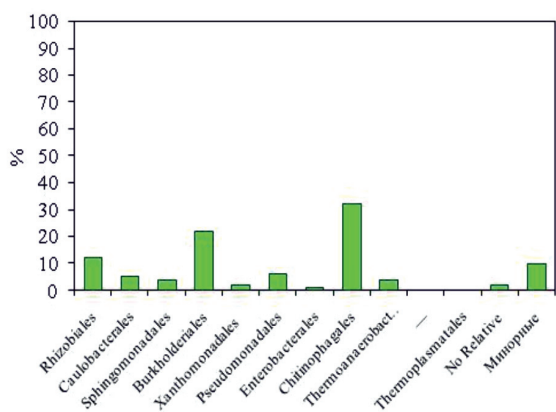
кий спектр цианидсодержащих соединений, включающих комплексные соединения цианидов с металлами, свободные цианиды и простые органические нитрилы [7].



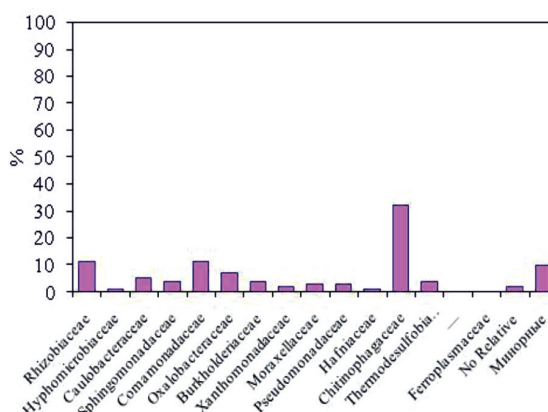
a)



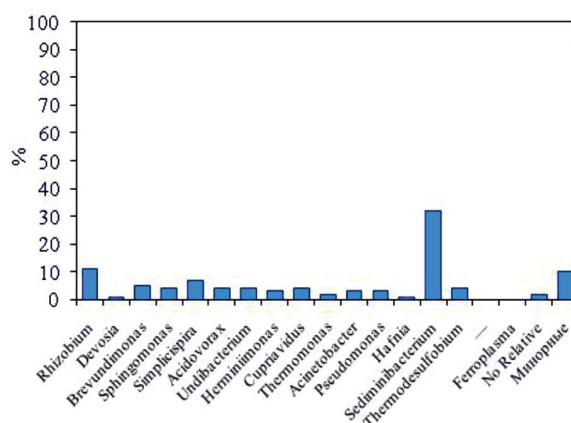
б)



в)



г)



д)

Таксономический состав сообщества микроорганизмов, выделенного из кека фильтрации при переработке золотосодержащей руды месторождения Аметистовое, на уровне филумов (а), классов (б), порядков (в), семейств (г) и родов (д)

Таксономический состав представителей микробного сообщества, выделенного из кека фильтрации при переработке золотосодержащей руды месторождения Аметистовое

Домен	Филум	Класс	Порядок	Семейство	Род	Количество, %		
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	<i>Rhizobium</i>	11		
				Hyphomicrobiaceae	<i>Devosia</i>	1		
			Caulobacterales	Caulobacteraceae	<i>Brevundimonas</i>	5		
				Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Sphingomonas</i>	4	
			Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Simplicispira</i>	7	
						<i>Acidovorax</i>	4	
					Oxalobacteraceae	<i>Urdibacterium</i>	4	
						<i>Herminiimonas</i>	3	
			Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Burkholderiaceae	<i>Cupriavidus</i>	4	
					Xanthomonadaceae	<i>Thermomonas</i>	2	
					Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>	3	
					Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	3	
					Enterobacterales	Hafniaceae	<i>Hafnia</i>	1
						Chitinophagales	Chitinophagaceae	<i>Sediminibacterium</i>
Archaea	Thermoplasmales	Thermoplasmales	Thermodesulfobacteriales	<i>Thermodesulfobium</i>	4			
			–	–	0,003			
No Relative	No Relative	No Relative	No Relative	Ferroplasmaceae	<i>Ferroplasma</i>	0,003		
				No Relative	No Relative	2		
Доля остальных минорных членов сообщества								
						9,994		

В исследуемом сообществе выявлен род *Hafnia*. Известно, что у бактерии (*H. alvei*) данного рода обнаружена роданаза – внутриклеточный фермент, катализирующий образование тиоцианата из тиосульфата и цианида, что подтверждает ее причастность к деструкции последнего. Также совсем недавно стало известно об участии бактерий рода *Thermomonas*, выделенных из сточных вод и систем биоочистки отходов после коксования, в биодеструкции цианида [8]. Стоит отметить, что род *Devosia* был выявлен в составе альгобактериального сообщества, разлагающего тиоцианат [9].

Обнаруженные в сообществе кека фильтрации представители рода *Pseudomonas* играют двойную роль, так как участвуют как в синтезе, так и в разрушении цианида [10, 11].

Некоторые присутствующие микроорганизмы могут быть связаны не столько с метаболизмом цианидсодержащих соединений, сколько с разрушением сульфидов и участвовать в окислительно-восстановительных реакциях с металлами. Например, представитель рода *Herminiimonas* (*H. arsenitoxidans*) способен к окислению арсенита [12]. Бактерия рода *Cupriavidus* (*C. metallidurans*), обладающая устойчивостью в отношении ряда катионов металлов (меди, цинка, серебра, кадмия, свинца и золота), доминирует в формирующихся на частицах золота биопленках. Это, вероятно, связано с ее участием в биоминерализации металла [13].

Отдельно необходимо отметить присутствие в сообществе анаэробных хемолитотрофных бактерий рода *Thermodesulfobium*, относящихся к сульфатредукторам, которые были недавно выделены из кислых термальных источников Камчатки [14]. Поскольку сульфатредукторы обладают способностью образовывать тиосульфат, нельзя исключать их потенциальное участие в деструкции цианидов.

Неизвестна роль остальных бактерий родов *Undibacterium*, *Brevundimonas* и *Simplicispira*, входящих в состав проанализированного сообщества, в деструкции или синтезе цианидов. Однако в связи с выделением данных микроорганизмов из различных природных источников, таких как почвы, питьевые и промышленные сточные воды и активный ил [15], их присутствие может быть связано с широкой областью распространения.

Среди выявленных доминирующих бактерий большая часть принадлежала к из-

вестным охарактеризованным родам. Микроорганизмы были представлены в основном грамотрицательными мезофильными аэробными палочками, для которых характерен гетеротрофный способ питания, за исключением рода *Thermodesulfobium* – автотрофных сульфатредуцирующих бактерий.

Заключение

На основании проведенного высокопроизводительного секвенирования 16S рРНК сообщества микроорганизмов, выделенного из кека фильтрации после цианирования золотосодержащей руды месторождения Аметистовое, анализ таксономического состава показал обширную группу хорошо известных и некультивируемых микроорганизмов, представленных главным образом грамотрицательными мезофильными аэробными бактериями, для которых характерен гетеротрофный способ питания.

В составе доминирующих представителей сообщества были обнаружены как типичные бактерии, способные к синтезу и деструкции цианида и его производных (роды *Rhizobium*, *Sediminibacterium*, *Sphingomonas*, *Acidovorax*, *Acinetobacter*, *Hafnia*, *Pseudomonas* и др.), так и микроорганизмы, принимающие участие в окислительно-восстановительных реакциях трансформации серо- и металлсодержащих соединений (роды *Herminiimonas* и *Cupriavidus*). Преобладающим по количеству (32%) являлся род *Sediminibacterium*, роль которого в синтезе или разложении цианидов не известна. Однако он, как и остальные представители анализируемого сообщества, встречается в природных и техногенных объектах, что не исключает потенциальной роли в ассимиляции и диссимиляции циансодержащих соединений.

Авторы благодарят к.б.н., заведующего лабораторией хемолитотрофных микроорганизмов ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН А.Г. Булаева за методическую помощь и консультации, а также сотрудников НИГТЦ ДВО РАН А.В. Киореску, В.О. Мусихина и А.С. Хомченкову за техническую помощь в проведении работ по выделению микроорганизмов.

Список литературы / References

1. Luque-Almagro V.M., Moreno-Vivian C., Roldán M.D. Biodegradation of cyanide wastes from mining and jewellery industries. Current Opinion in Biotechnology. 2016. vol. 38. P. 9–13. DOI: 10.1016/j.copbio.2015.12.004.
2. Григорьева Н.В., Кондратьева Т.Ф., Красильникова Е.Н., Каравайко Г.И. Механизм деструкции цианида и тиоцианата ассоциацией штаммов *Pseudomonas putida*

- и *Pseudomonas stutzeri* // Микробиология. 2006. Т. 75. № 3. С. 320–328.
- Grigor'eva N.V., Kondrat'eva T.F., Krasil'nikova E.N., Karavaiko G.I. Mechanism of cyanide and thiocyanate decomposition by an association of *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas stutzeri* strains. *Microbiology*. 2006. vol. 75. no. 3. P. 266–273. DOI: 10.1134/S0026261706030040.
3. Gould W.D., King M., Mohapatra B.R., Cameron R.A., Kapoor A., Koren D.W. A critical review on destruction of thiocyanate in mining effluents. *Minerals Engineering*. 2012. vol. 34. P. 38–47. DOI: 10.1016/j.mineng.2012.04.009.
4. Булаев А.Г., Лебедева Е.В. Заключительный отчет по договору на выполнение научно-исследовательских работ № ДВ-1-2016 «Изучение микробного сообщества из пульпы реактора биоокисления хвостов цианирования». 2016. 35 с.
- Bulaev A.G., Lebedeva E.V. Final report on the research contract No. DV-1-2016 «Study of the microbial community from the pulp of the cyanidation tail biooxidation reactor». 2016. 35 p. (in Russian).
5. Kim Y., Kim B., Kang K., Ahn T.-Y. *Sediminibacterium aquarii* sp. nov., isolated from sediment in a fishbowl. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2016. vol. 66. P. 4501–4505. DOI: 10.1099/ijsem.0.001380.
6. Quan Z.-X., Bae H.-S., Baek J.-H., Chen W.-F., Im W.-T., Lee S.-T. *Rhizobium daejeonense* sp. nov. isolated from a cyanide treatment bioreactor. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2005. vol. 55. P. 2543–2549. DOI: 10.1099/ijms.0.63667-0.
7. Finnegan I., Toerien S., Abbot L., Smit F., Raubenheimer H.G. Identification and characterisation of an *Acinetobacter* sp. capable of assimilation of a range of cyano-metal complexes, free cyanide ions and simple organic nitriles. *Applied Microbiology Biotechnology*. 1991. vol. 36. P. 142–144. DOI: 10.1007/BF00164715.
8. Ju J.-H., Kim J.-S., Lee D.-H., Jeon J.H., Heo S.-Y., Seo J.-W., Kim C.H., Park D.-S., Oh B.-R. *Thermomonas atquica* sp. nov., isolated from an industrial wastewater treatment plant. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2019. vol. 69. Issue 11. DOI: 10.1099/ijsem.0.003630.
9. Ryu B.-G., Kim W., Nam K., Kim S., Lee B., Park M.S., Yang J.-W. A comprehensive study on algal-bacterial communities shift during thiocyanate degradation in a microalga-mediated process. *Bioresource Technology*. 2015. vol. 191. P. 496–504. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.03.136.
10. Lenney W., Gilchrist F.J. *Pseudomonas aeruginosa* and cyanide production. *European Respiratory Journal*. 2011. vol. 37. no 3. P. 482–483. DOI: 10.1183/09031936.00122810.
11. Huertasa M.J., Saez L.P., Roldan M.D., Luque-Almagro V.M., Martinez-Luque M., Blasco R., Castillo F., Moreno-Vivian C., Garcia-Garcia I. Alkaline cyanide degradation by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 in a batch reactor. Influence of pH. *Journal of Hazardous Materials*. 2010. vol. 179. P. 72–78. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2010.02.059.
12. Koh H.-W., Hur M., Kang M.-S., Ku Y.-B., Ghai R., Park S.-J. Physiological and genomic insights into the lifestyle of arsenite-oxidizing *Herminiimonas arsenitoxidans*. *Scientific Reports*. 2017. vol. 7. no. 15007. P. 1–12. DOI: 10.1038/s41598-017-15164-4.
13. Reitha F., Etschmann B., Grosset C., Moorsg H., Benotmaneg M.A., Monsieurg P., Grassh G., Doonani C., Vogtj S., Laij B., Martinez-Criadok G., Georgel G.N., Niesf D.H., Mergaey M., Pringc A., Southamm G., Bruggera J. Mechanisms of gold biomineralization in the bacterium *Cupriavidus metallidurans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009. vol. 106. no. 42. P. 17757–17762. DOI: 10.1073/pnas.0904583106.
14. Frolov E.N., Kublanov I.V., Toshchakov S.V., Samarov N.I., Novikov A.A., Lebedinsky A.V., Bonch-Osmolovskaya E.A., Chernyh N.A. *Thermodesulfobium acidiphilum* sp. nov., a thermoacidophilic, sulfate-reducing, chemoautotrophic bacterium from a thermal site. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2017. vol. 67. no. 5. P. 1482–1485. DOI: 10.1099/ijsem.0.001745.
15. Lu S., Ryu S.H., Chung B.S., Chung Y.R., Park W., Jeon C.O. *Simplicispira limi* sp. nov., isolated from activated sludge. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2007. vol. 57. P. 31–34. DOI: 10.1099/ijms.0.64566-0.