ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

Научная статья
УДК 574.4
DOI: https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-589-598

Распространение азоттрансформирующих бактерий в искусственном водоеме с высшими водными растениями

Нгуен Ван Тхань Нам*, Тхи Мо Лыонг *, Наталья Юрьевна Юдина, Ольга Николаевна Понаморева**, Сергей Валерьевич Алферов**, Чан Нгок Линь Чи*, Нгуен Тхи Зунг*, Фунг Тхи Ми Зуен***, Во Тхань Нгиа*****

**Южное отделение Совместного Российско-Вьетнамского Тропического научно-исследовательского и технологического центра, г. Хошимин, Вьетнам*
***Тульский государственный университет, г. Тула, Российская Федерация*
****Аграрно-лесной университет, г. Хошимин, Вьетнам*
Автор, ответственный за переписку: Юдина Наталья Юрьевна, TSUnewIT@gmail.com

Аннотация. *Данная статья посвящена исследованию распространения азоттрансформирующих бактерий в искусственном водоеме с высшими водными растениями. Сконструированы искусственные водоемы (пруды) с высшими водными растениями тростника обыкновенного (Phragmites australis) и рогоза (Typha) для очистки свиноводческих сточных вод. В пруду с Phragmites australis выделено 7 штаммов аммонийокисляющих и 14 денитрифицирующих бактерий, а в пруду с Typha – 6 штаммов аммонийокисляющих и 19 денитрифицирующих бактерий. В результате сравнительного анализа численности бактерий в разных точках отбора образцов выявлено их снижение вдоль искусственного водоема. Больше всего аммонийокисляющих штаммов бактерий было идентифицировано в образцах, отобранных в поверхностном слое пруда, в то время как денитрифицирующие бактерии доминировали в донном слое. Выделенные микроорганизмы установлены методом определения последовательности нуклеотидов 16 SrRNA, они относятся к родам Pantoea, Enterobacter, Bacillus. Показано, что искусственный водоем с высшими водными растениями обладает разнообразной микробиотой, состав которой сильно зависит от источника сточных вод и не зависит от видов посаженных растений. Проведено определение способности трансформации аммиака и денитрификации выделенными штаммами бактерий. Наибольшая эффективность превращения аммиака (до 56%) показана для бактерий Enterobacter cloacae, выделенных из поверхностного слоя пруда. Денитрифицирующие бактерии, отобранные из донного слоя, способны снижать содержание нитрата с 20 до 10 мг/л за 72 ч. Полученные результаты подтверждают роль бактерий в очистке сточных вод от азотсодержащих загрязняющих веществ, а средняя эффективность удаления неорганических соединений азота составляет 50%.*

Ключевые слова: *искусственный водоем, водные высшие растения, микробиота сточных вод, денитрифицирующие бактерии, очистка животноводческих сточных вод*

Финансирование*. Работа выполнена при поддержке Народного комитета провинции Биньфыок (Вьетнам) по распоряжению № 2999/QĐ-UBND от 28 декабря 2018 г.*

Для цитирования: Нам Н. В. Т., Лыонг Т. М., Юдина Н. Ю., Понаморева О. Н., Алферов С. В., Чи Ч. Н. Л., Зунг Н. Т., Зуен Ф. Т. М., Нгиа В. Т. Распространение азоттрансформирующих бактерий в искусственном водоеме с высшими водными растениями // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 589–598. https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-589-598.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Distribution of nitrogen-transforming bacteria in an artificial reservoir populated with aquatic higher plants

Nguyen V. T. Nam*, Mo T. Luong *, Natalia Yu. Yudina, Olga N. Ponamoreva**, Sergey V. Alferov**,Tran N. L. Chi*, Nguyen T. Dung*, Phung T. M. Duyen***, Vo T. Nghia*****

**Southern Branch of Joint Vietnam-Russia Tropical Science and Technology Research Center, Ho Chi Minh City, Vietnam*

© Нам Н. В. Т., Лыонг Т. М., Юдина Н. Ю., Понаморева О. Н., Алферов С. В., Чи Ч. Н. Л., Зунг Н. Т., Зуен Ф. Т. М., Нгиа В. Т., 2022

***Tula State University, Tula, Russian Federation*
****Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam*
Corresponding author: Natalia Yu. Yudina, TSUnewIT@gmail.com

Abstract. *This article examines the distribution of nitrogen-transforming bacteria in an artificial reservoir (pond) populated with aquatic higher plants of common reed (Phragmites australis) and cattail (Typha) for treating swine wastewater. In the pond occupied by Phragmites australis, 7 strains of ammonium oxidising and 14 denitrifying bacteria were identified, while, in the pond occupied by Typha, 6 strains of ammonium oxidising and 19 denitrifying bacteria were distinguished. A comparative analysis of bacterial count at various sampling points revealed their decrease along the artificial pond. Most of the bacteria strains oxidising ammonium were identified in the samples collected from the surface layer of the pond, while denitrifying bacteria dominated the bottom layer. The isolated microorganisms identified by 16S rRNA sequencing belonged to the genus Pantoea, Enterobacter and Bacillus. An artificial pond having aquatic higher plants is characterised by a diverse microbiota, whose composition strongly depends on the wastewater source rather than on the cultivated plant species. The ammonia transformation and denitrification capacity of isolated bacterial strains was determined. The highest conversion efficiency of ammonia (up to 56%) was observed for Enterobacter cloacae bacteria isolated from the surface layer of the pond. Denitrifying bacteria sampled from the bottom layer allowed for the reduction in nitrate content from 20 to 10 mg/L in 72 h. The obtained results confirm the role of bacteria in the treatment of wastewater against nitrogen-containing pollutants, with the average efficiency of removal of inorganic nitrogen compounds being 50%.*

Keywords: *artificial reservoir, aquatic higher plants, wastewater microbiota, denitrifying bacteria, livestock wastewater treatment*

Funding. *The study was funded by the People's Committee of BinhPhuoc province (Viet Nam) (Decision no. 2999/QĐ-UBND, 28 December, 2018).*

For citation: Nam N. V. T., Luong T. M., Yudina N. Yu., Ponamoreva O. N., Alferov S. V., Chi T. N. L., Dung N. T., Duyen P. T. M., Nghia V. T. Distribution of nitrogen-transforming bacteria in an artificial reservoir populated with aquatic higher plants. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology.* 2022;12(4):589-598. (In Russian). https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-589-598.

ВВЕДЕНИЕ

Почвенно-болотные системы с высшими водными растениями, созданные с использованием современной экологической технологии «constructed wetlands» (другое название – искусственный водоем с высшими водными растениями), могут использоваться для очистки сточных вод и являются одним из самых перспективных типов очистных сооружений ввиду низких затрат на капитальное строительство, простоты эксплуатации, высокой эффективности обезвреживания загрязненных вод и экологической безопасности. Constructed wetlands преимущественно применяются для очистки сточных вод на малых животноводческих фермах, в которых не требуется проводить сложное эксплуатационное и техническое обслуживание [1–3]. Многочисленные международные исследования свидетельствуют об успешном применении систем «constructed wetlands» для очистки сточных вод различного происхождения, в том числе для животноводства, где одним из главных загрязнителей выступают различные соединения азота [4–6]. В зависимости от гидравлической проектной линии системы почвенно-болотной очистки сточных вод делятся на два типа: поверхностный и донный (или подповерхностный). В прудах с донным типом может быть организовано горизонтальное и вертикальное движение воды. Для увеличения эффективности удаления аммиака и азота в 1990–2000 годах часто применяли системы почвенно-болотной очистки сточных вод смешанных типов, например, сопряженные системы с горизонтальным и вертикальным потоками или поверхностным и донным потоками для увеличения эффективности очистки с учетом преимущества каждого типа систем [7].

Высшие растения в почвенно-болотных системах обеспечивают одновременное протекание физических, химических и многообразных биологических процессов утилизации загрязняющих веществ, что приводит к интенсификации процессов очистки сточных вод. Однако основную роль в процессах очистки сточных вод играют микроорганизмы, которые организованы в разнообразные микробные сообщества в зависимости от типа сточных вод и загрязняющих веществ. Был проведен ряд исследований, в которых показано наличие разнообразных микробных сообществ в почвенно-болотной системе очистки сточных вод. Среди них обнаружены бактерии, способные утилизировать многие органические соединения [8], антибиотики [9], азот, фосфор [10], тяжелые металлы [11]. Однако взаимосвязи между процессами, обусловленными жизнедеятельностью микроорганизмов, растений, природных сорбентов, по отношению к загрязняющим веществам в сточных водах до сих пор полностью не выявлены [12]. Серьезной проблемой является очистка сточных вод свиноводческих комплексов и ферм, т. к. эти стоки имеют высокое содержание соединений аммиака и очень низкую скорость разложения загрязняющих веществ. Для разработки эффективных систем очистки с применением технологии искусственных почвенно-болотных систем важно

знать состав микробных сообществ в зависимости от условий очистки стоков.

Целью данной работы является определение разнообразия и распределения бактерий, способствующих превращению азота в сточных водах предприятий животноводства, в почвенно-болотной системе с высшими водными растениями и горизонтальным потоком жидкости.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом исследования является сообщество бактерий, которое участвует в процессе превращения азота в почвенно-болотной системе очистки сточных вод свиноводческого комплекса, которые предварительно подвергали обработке с использованием биогазовой установки. Почвенно-болотная система представляет собой пруд, работа которого основана на природной способности высших водных растений (тростник, рогоз) очищать воду в контакте с корневой системой растений. На корнях растений развиваются бактерии, способные переработать множество органических загрязнений. Создание в пруду горизонтального потока жидкости позволяет проводить очистку не только в корневой зоне, но и во всем объеме пруда.

Сконструированы 2 пруда размерами (длина х ширина х глубина, м) = 2,8 х 0,6 х 0,8, в которые высажены высшие водные растения: тростник обыкновенный (*Phragmites australis)* или рогоз *(Typha)* (рис. 1). С 2-х сторон пруд наполнен гравием с размером частиц 40–60 мм, высотой слоя 60 см и толщиной 40 мм, внутри – гравием 1–4 мм с толщиной слоя 600 мм, на поверхности покрыт слоем гравия размерами 10–20 мм с толщиной 100 мм. Площадь пруда составляет 1,68 м^2. Уровень воды в пруде сохраняется ниже поверхности примерно на 100 мм, т. е. под слоем гравия 10–20 мм.

Схема работы пруда следующая: сточная вода после биогазовой установки попадает по трубе с распределительным устройством в боковую часть пруда со слоем гравия 40–60 мм. Уровень воды в пруду контролируется переливной трубой с высотой 60 см (см. рис. 1), которая располагается в зоне сбора очищенной воды. Сточная вода первоначально очищается фильтрованием через слой гравия, а затем поступает к корням растений, растворенные и коллоидные примеси утилизируются микроорганизмами.

Время отстаивания сточных вод в пруду составляло 8 суток. Перед отбором проб для исследования изучаемая система функционировала 9 месяцев. Пробы, которые использовали для измерения показателей качества воды до очистки, отбирали в отстойнике, находящемся перед входом в пруд, а после очистки пробы отбирали в переливной трубе (см. рис. 1).

Содержание общего азота, катионов аммония (NH_4^+), нитрат-анионов определяли колориметрическим методом, индикаторами для которого служили персульфат, салицилат, хромовая кислота. Измерение проводили на колориметре DR-900 (HACH, США). Концентрацию растворенного кислорода и значений pH устанавливали с использованием прибора ExStik® DO600 и pH-метра ExStik® EC500 (Extech, США).

Отбор образцов для выделения бактерий проводили в точках, которые находились в начале, середине, конце (по длине) пруда, и в 2-х точках по его глубине – в поверхностном (5–10 см) и донном (35 см) слоях (см. рис. 1). Выделение

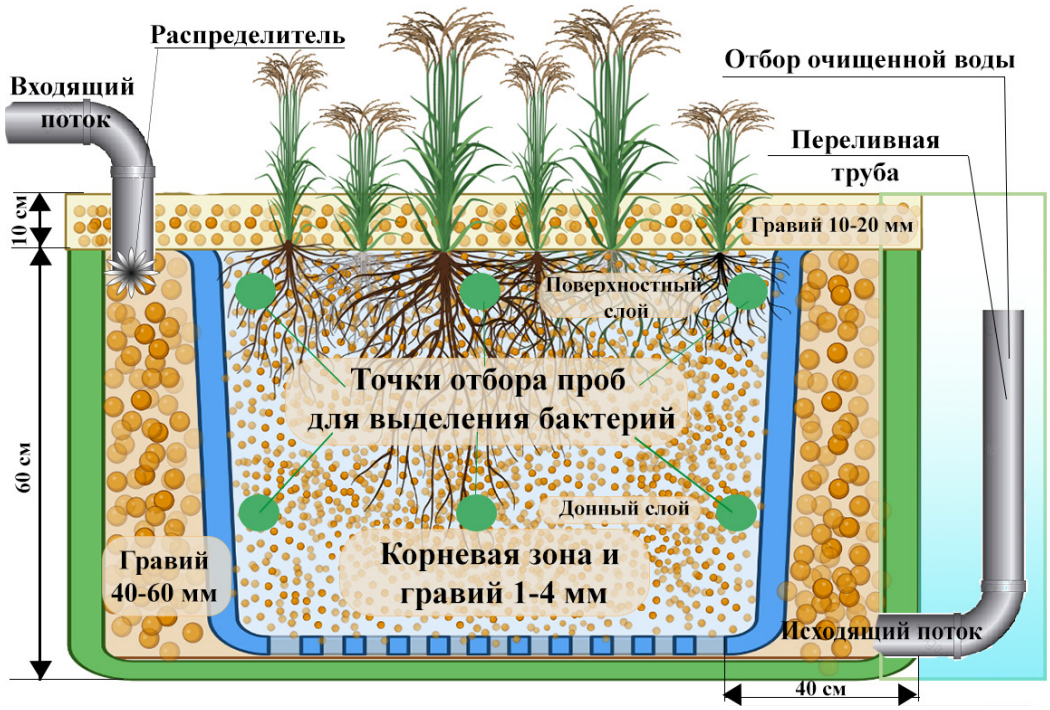


Рис. 1. Конструкция искусственного водоема с высшими водными растениями
Fig. 1. Design of an artificial reservoir with higher aquatic plants

Таблица 1. Показатели сточных вод до и после очистки
Table 1. Indicators of wastewater before and after treatment

Показатели	Вход		Выход (после биологической очистки)	
	Phragmites australis	*Typha*	*Phragmites australis*	*Typha*
pH	6,8–7,1	6,7–7,4	7,0–7,3	7,0–7,4
Растворенный кислород, мг/л	2,3–3,6	2,9–3,9	1,8–2,5	1,7–2,5
N, мг/л	218–347	223–352	118–149	116–154
NH_4^+, мг/л	95–138	92–126	64–97	60–95
NO_3^-, мг/л	74–98	56–93	9,5–22,2	8,2–24,3

бактерий выполняли по методике, описанной в работах [13, 14], для этого на 1-м этапе проводили обогащение микроорганизмов высевом на питательный агар следующего состава, г/л: пептон – 5; дрожжевой экстракт – 1,5; мясной экстракт – 1,5; хлорид натрия – 5; агар-агар – 15. Выделенные бактерии идентифицировали методом определения последовательности нуклеотидов 16SrRNA.

Отбор аммонийокисляющих бактерий проводили на питательной среде Виноградского следующего состава, г/л: $(NH_4)_2SO_4$– 2,0; K_2HPO_4– 1,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,5; NaCl – 2,0; $FeSO_4$– 0,4; $NaHCO_3$– 0,5. Среду готовили на 0,3%-м растворе ацетата натрия (CH_3COONa) для выявления процесса гетеротрофной нитрификации.

Селекцию денитрифицирующих бактерий осуществляли на питательной среде Гильтея следующего состава, г/л: $KN0_3$– 2,0; аспарагин – 1,0; натрий лимоннокислый – 2,5; KH_2P0_4– 2; $CaCl_2$– 0,2; $MgSO_4 \cdot 7H_20$ – 2; $FeCl_3$ – следы. Компоненты среды растворяли в 1 л дистиллированной воды, доводили pH до 7,5, добавляли 20 г агара и автоклавировали при температуре 121 °C в течение 20 мин.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Применение искусственного водоема с высшими водными растениями для эффективной очистки сточных вод. В течение 2-х месяцев проводили отбор 10 образцов воды. Показатели сточных вод, поступающих в искусственный водоем до и после биологической очистки, представлены в табл. 1.

Незначительное снижение уровня растворенного кислорода после биологической очистки связано с длительным нахождением сточных вод в пруду (8 суток) и, как следствие, с расходованием кислорода на биохимическое окисление органических веществ. Кроме того, отбор проб после очистки происходит в переливной трубе, где вода не взаимодействует с атмосферным воздухом, в связи с чем концентрация растворенного кислорода также снижается.

Эффективность очистки воды от азотсодержащих органических соединений в пруду с *Phragmites australis* и *Typha* составляет в среднем 52 и 50% соответственно.

Распространение азоттрансформирующих бактерий в пруду. В результате сравнительного анализа численности бактерий в разных точках отбора образцов выявлено их снижение вдоль или по длине искусственного водоема. Это можно объяснить убылью содержания загрязняющих веществ в сточной воде по направлению потока от начала и до конца системы. Полученный нами результат соответствует данным, представленным в публикациях [14, 15] по изучению разнообразия бактерий, находящихся в искусственном водоеме с растениями семейства *Canna indica*.

В искусственных водоемах с использованием высших растений, корневая система которых расположена в поверхностном слое, численность микроорганизмов выше (т. к. микроорганизмы иммобилизованы на корнях), чем в нижних слоях пруда (табл. 2).

Таблица 2. Численность бактерий в разных точках отбора образцов (КОЕ/мл)
Table 2. Number of bacteria at different sampling points (cfu/ml)

Место сбора образцов	Верхний слой		Донный слой	
	Phragmites australis	*Typha*	*Phragmites australis*	*Typha*
Начало пруда	2,6 x 10^9	2,5 x 10^9	1,8 x 10^9	2,1 x 10^9
Середина пруда	2,7 x 10^9	2,3 x 10^9	1,7 x 10^9	1,6 x 10^9
Конец пруда	1,9 x10^9	1,6 x 10^9	1,0 x10^9	1,1 x 10^9

В результате культивирования на среде Виноградского выделили 7 и 6 штаммов аммонийокисляющих бактерий в пробах, отобранных в пруду с *Phragmites australis* и *Typha* соответственно (табл. 3). Видно, что больше всего штаммов бактерий было идентифицировано в образцах, отобранных в поверхностном слое пруда, в том время как в образце из донного слоя пруда с *Phragmites australis* был идентифицирован только один штамм бактерий. Данные факты могут быть объяснены тем, что в системах очистки сточных вод с горизонтальным потоком жидкости кислород поступает к корневой системе растений и концентрация растворенного кислорода в поверхностном слое выше, чем в донном слое, что обусловливает размножение аммонийокисляющих аэробных бактерий.

Выделенные штаммы бактерий в обоих прудах имеют сходную морфологию колоний и клеток.

Таблица 3. Распространение аммонийокисляющих бактерий по глубине биологического пруда
Table 3. Distribution of ammonium-oxidizing bacteria along the depth of the biological pond

Место сбора образцов		Количество штаммов аммонийокисляющих бактерий (AOB)	Наименование штамма (изолята)
Пруд с *Phragmites australis*	Поверхностный слой	6	AOB1, AOB2, AOB3, AOB4D, AOB5, AOB6
	Донный слой	1	AOB4N
Пруд с *Typha*	Поверхностный слой	6	AOB1, AOB2, AOB3, AOB4D, AOB5, AOB6
	Донный слой	0	–

Таблица 4. Распространение денитрифицирующих бактерий по глубине пруда
Table 4. Distribution of denitrifying bacteria along the depth of the pond

Место сбора образцов		Количество штаммов денитрифицирующих бактерий	Наименование штамма (изолята)
Пруд с *Phragmites australis*	Поверхностный слой	4	NT1, NT5, Nx, N7
	Донный слой	11	NT1, NT2, NT3, NT6, NT11, NT12, N1a, N1b, N8a, Nx, N7
Пруд с *Typha*	Поверхностный слой	5	NT1, NT5, NT8, CC4, N8c
	Донный слой	14	NT1, NT2, NT3, NT6, NT11, NT12,N1a, N1b, N8a, N8b, N8c, CC4, Nx, N7

Авторы статьей [8, 16, 17] считают, что разнообразие микроорганизмов отличается в зависимости от источника сточных вод, почвы и сезона отбора проб.

При культивировании денитрифицирующих бактерий на среде Гильтея выделили 34 изолята, в том числе 14 изолятов в пруду с *Phragmites australis* и 19 изолятов в пруду с *Typha* (табл. 4). Важно отметить, что денитрифицирующие бактерии доминировали в донном слое, а не в поверхностном слое, как аммонийокисляющие бактерии. Это согласуется с литературными данными о том, что денитрифицирующие бактерии представлены микроаэрофильными и факультативно анаэробными формами и обитают в анаэробной среде или среде без доступа кислорода.

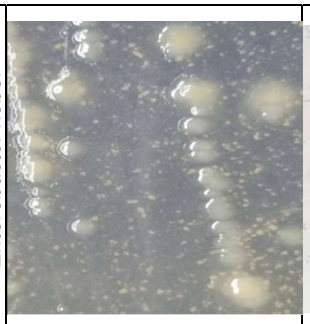
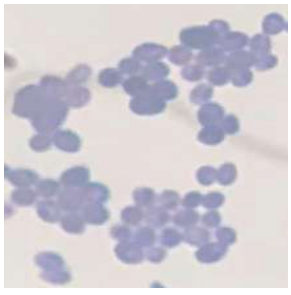
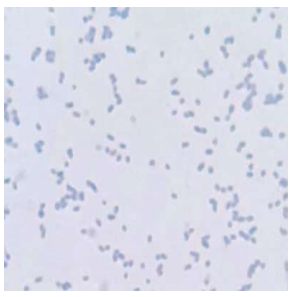
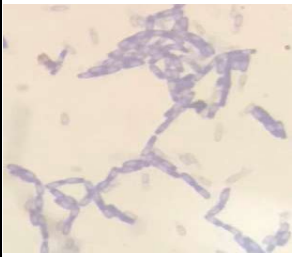
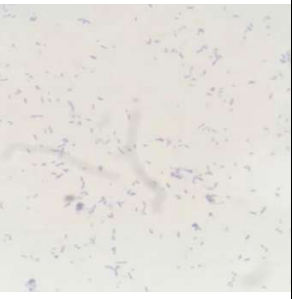
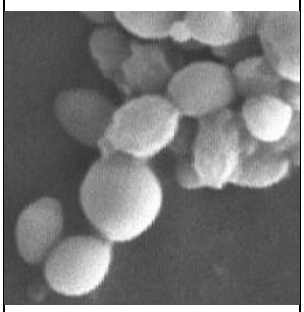
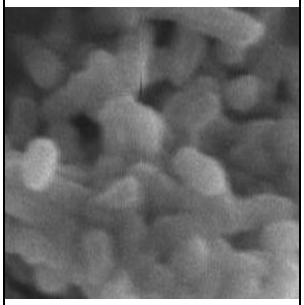
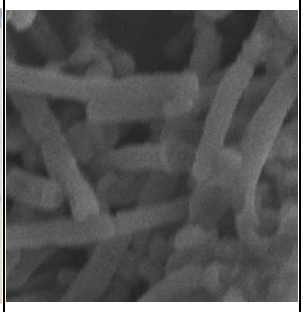
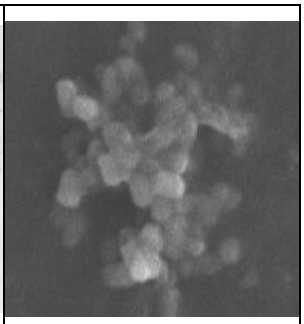
Для идентификации изолированных микроорганизмов было отобрано 5 изолятов бактерий (2 штамма аммонийокисляющих бактерий и 3 штамма денитрифицирующих бактерий). При сравнении последовательности с идентификационной базой данных GenBank изолят AOB2 имеет 99%-е сходство со штаммом *Pantoea agglomerans* NPKC1226, AOB3 – со штаммом *Enterobacter cloacae* RCB980, NT3 – со штаммом *Bacillus cereus* GT48, NT6 – с *Bacillus cereus*, а NT11 – с *Enterobacter kobei* NPKC1244. Морфология колоний и клеток представлена в табл. 5.

В результате идентификации выявили 2 штамма бактерии (AOB2, AOB3), которые относятся к гетеротрофным бактериям и участвуют в аммонийокисляющих процессах. Традиционно в энергодающих процессах окисления аммония (нитрификации) участвуют автотрофные микроорганизмы, однако в некоторых публикациях показано, что гетеротрофные бактерии также могут участвовать в данном процессе [18, 19].

Таким образом, штаммы бактерий, выделенные в данной работе, относятся к виду *Bacillus*, *Enterobacter* и *Pantoea*, что согласуется с результатами других авторов, изучавших микробиоту кишечника свиньи [20–22]. Это отчасти объясняет зависимость разнообразия микробных сообществ от источника сточных вод в почвенно-болотной системе для очистки сточных вод животноводческих ферм.

Определение способности превращения аммиака выделенными штаммами бактерий. Эффективность превращения аммиака оценивали в ходе культивирования бактерий на жидкой среде Виноградского с добавлением ацетата натрия в качестве источника органического углерода. После внесения инокулята с численностью бактерий $1x10^8$ КОЕ/мл в питательную среду наблюдали

Таблица 5. Морфология колоний и клеток идентифицированных бактерий
Table 5. Morphology of colonies and cells of identified bacteria

Штамм	*Pantoea agglomerans*	*Enterobacter cloacae*	*Bacillus cereus*	*Bacillus* sp.	*Enterobacter kobei*
Морфология колоний					
Морфология клеток (световой микроскоп)					
Морфология клеток (электронный микроскоп)					

изменение концентрации аммиака через 2 и 4 суток (рис. 2).

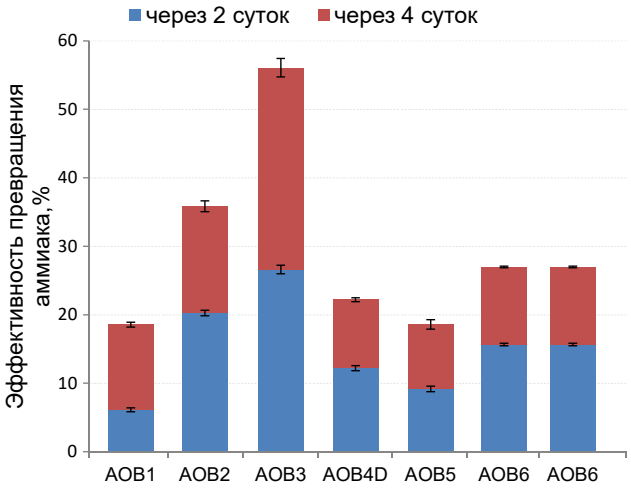


Рис. 2. Эффективность превращения аммиака выделенными бактериями
Fig. 2. Efficiency of ammonia conversion by isolated bacteria

Штамм AOB3 через 4 суток способен к превращению до 56% аммиака, добавленного в культуральную среду; через 2 суток эффективность превращения достигала 30%. В то же время бактерии штамма AOB2 потребляли 20 и 36% аммиака через 2 и 4 суток соответственно. Оставшиеся 4 штамма превращали до 13% аммиака на 2-е сутки. Можно отметить, что штаммы бактерий, которые обладают способностью потреблять аммиак, были выделены с верхнего слоя искусственного водоема.

Оценка эффективности денитрификации выделенными бактериями. Эксперимент проводили со штаммами NT2, NT3, NT6, NT11 путем определения содержания нитрата и численности бактерий через 24, 48 и 72 ч.

В ходе культивирования бактерий в среде Гильтея через 24 ч наблюдалось увеличение численности бактерий и снижение содержания нитрата в культуральной среде с 20 до 10 мг/л. Увеличение численности бактерий продолжалось до 36 ч, соответствующих времени наступления стационарной фазы роста; после 48 ч культивирования наблюдалось уменьшение численности бактерий в фазе отмирания. После 24 ч культивирования было отмечено постепенное снижение концентрации нитратов с достижением их минимального содержания через 72 ч (рис. 3).

Несмотря на то, что штаммы бактерий (способные с высокой эффективностью превращать нитрат в молекулярный азот) преимущественно обитают в условиях лимита по кислороду, и в слое с аэрацией также были выделены денитрифицирующие бактерии. Полученный результат согласуется с данными других авторов [23], которые показали, что некоторые штаммы денитрифицирующих бактерий могут развиваться и превращать нитраты в азот в микроаэрофильных условиях.

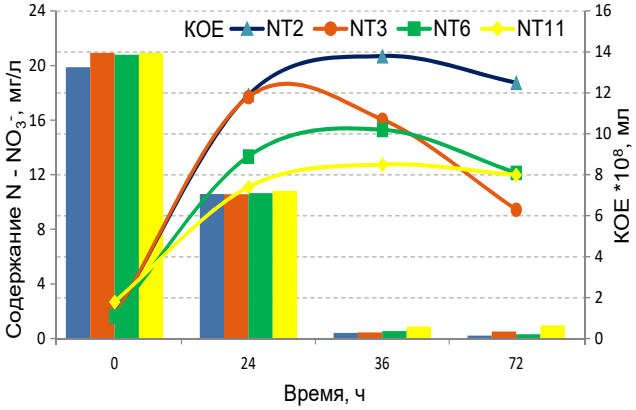


Рис. 3. Эффективность денитрификации выбранными бактериями
Fig. 3. Efficiency of denitrification by selected bacteria

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что искусственный водоем с высшими водными растениями обладает разнообразной микробиотой, состав которой сильно зависит от источника сточных вод и не зависит от видов посаженных растений. Распределение и численность микроорганизмов, участвующих в процессах превращения азота, соответствуют условиям окружающей среды, а также выбранной конструкции почвенно-болотной системы с горизонтальным потоком. В результате лабораторных экспериментов показано, что штаммы бактерий, выделенных из искусственного водоема, обладают высокой способностью к денитрификации. Наибольшая эффективность трансформации аммиака (до 56%) показана для бактерий *Enterobacter cloacae*, выделенных из поверхностного слоя пруда. Полученные нами результаты подтверждают роль бактерий в очистке азотосодержащих примесей воды в гидроботанической системе.

Таким образом, микробиота денитрифицирующих бактерий является важным компонентом и эффективно участвует в процессе превращений соединений азота в искусственном водоеме с горизонтальным потоком жидкости.

REFERENCES

1. Vymazal J. The historical development of constructed wetlands for wastewater treatment. *Land*. 2022;11(2):174. https://doi.org/10.3390/land11020174.

2. Vymazal J. Constructed wetlands for wastewater treatment: five decades of experience. *Environmental Science & Technology*. 2011;45(1):61-69. https://doi.org/10.1021/es101403q.

3. Kadlec R., Wallace S. *Treatment wetlands*. Boca Raton: CRC Press; 2008. 1016 p. https://doi.org/10.1201/9781420012514.

4. Torrens A., Folch M., Salgot M. Design and performance of an innovative hybrid constructed wetland for sustainable pig slurry treatment in small farms. *Frontiers in Environmental Science*. 2021;8:577186. https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.577186.

5. Dias S., Mucha A. P., Crespo R. D., Rodrigues P.,

Almeida C. M. R. Livestock wastewater treatment in constructed wetlands for agriculture reuse. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020;17(22):1-21. https://doi.org/10.3390/ijerph17228592.

6. Klomjek P. Swine wastewater treatment using vertical subsurface flow constructed wetland planted with Napier grass. *Sustainable Environment Research*. 2016;26(5):217-223. https://doi.org/10.1016/j.serj.2016.03.001.

7. Bresciani E., Kang P. K., Lee S. Theoretical analysis of groundwater flow patterns near stagnation points. *Water Resources Research*. 2019;55(2):1624-1650. https://doi.org/10.1029/2018WR023508.

8. Zhang Y., Carvalho P. N., Lv T., Arias C., Brix H., Chen Z. Microbial density and diversity in constructed wetland systems and the relation to pollutant removal efficiency. *Water Science and Technology*. 2016;73(3):679-686. https://doi.org/10.2166/wst.2015.542.

9. Vassallo A., Miceli E., Fagorzi C., Castronovo L. M., Del Duca S., Chioccioli S., et al. Temporal evolution of bacterial endophytes associated to the roots of *Phragmites australis* exploited in phytodepuration of wastewater. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11:1652. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01652.

10. Zhao Y., Song X., Cao X., Wang Y., Zhao Z., Si Z., et al. Modified solid carbon sources with nitrate adsorption capability combined with nZVI improve the denitrification performance of constructed wetlands. *Bioresource Technology*. 2019;294:122189. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122189.

11. Zhang Y., Li Y., Wang J., Wang X., Liu Y., Wang S., et al. Interactions of chlorpyrifos degradation and Cd removal in iron-carbon-based constructed wetlands for treating synthetic farmland wastewater. *Journal of Environmental Management*. 2021;299:113559. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113559.

12. Rajan R. J., Sudarsan J. S., Nithiyanantham S. Microbial population dynamics in constructed wetlands: review of recent advancements for wastewater treatment. *Environmental Engineering Research*. 2018;24(2):181-190. https://doi.org/10.4491/eer.2018.127.

13. Calheiros C. S. C., Teixeira A., Pires C., Franco A. R., Duque A. F., Crispim L. F. C., et al. Bacterial community dynamics in horizontal flow constructed wetlands with different plants for high salinity industrial wastewater polishing. *Water Research*. 2010;44(17):5032-5038. https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.07.017.

14. Calheiros C. S. C., Pereira S. I. A., Brix H., Rangel A. O. S. S., Castro P. M. L. Assessment of culturable bacterial endophytic communities colonizing *Canna flaccida* inhabiting a wastewater treatment constructed wetland. *Ecological Engineering*. 2017;98:418-426. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.04.002.

15. Ibekwe A. M., Ma J., Murinda S., Reddy G. B. Microbial diversity in continuous flow constructed wetland for the treatment of swine waste. *Hydrology: Current Research*. 2017;8:277. https://doi.org/10.4172/2157-7587.1000277.

16. Shirdashtzadeh M., Chua L. H. C., Brau L. Microbial communities and nitrogen transformation in constructed wetlands treating storm water runoff. *Frontiers in Water*. 2022;3:751830. https://doi.org/10.3389/frwa.2021.751830.

17. Baptista J. D. C., Davenport R. J., Donnelly T., Curtis T. P. The microbial diversity of laboratory-scale wetlands appears to be randomly assembled. *Water Research*. 2008;42(12):3182-3190. https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.03.013.

18. Duan S., Zhang Y., Zheng S. Heterotrophic nitrifying bacteria in wastewater biological nitrogen removal systems: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2022;52(13):2302-2338. https://doi.org/10.1080/10643389.2021.1877976.

19. Yang X.-P., Wang S.-M., Zhang D.-W., Zhou L.-X. Isolation and nitrogen removal characteristics of an aerobic heterotrophic nitrifying-denitrifying bacterium, *Bacillus subtilis* A1. *Bioresource Technology.* 2011;102(2):854-862. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.09.007.

20. Vidal G., de Los Reyes C. P., Sáez O., Stefanakis A. I. The performance of constructed wetlands for treating swine wastewater under different operating conditions. *Constructed Wetlands for Industrial Wastewater Treatment*. 2018;203-221.

21. Wylensek D., Hitch T. C., Riedel T., Afrizal A., Kumar N., Wortmann E., et al. A collection of bacterial isolates from the pig intestine reveals functional and taxonomic diversity. *Nature Communications*. 2020;11(1):1-26. https://doi.org/10.1038/s41467-020-19929-w.

22. Isaacson R., Kim H. B. The intestinal microbiome of the pig. *Animal Health Research Reviews*. 2012;13(1):100-109. https://doi.org/10.1017/S1466252312000084.

23. Ha H. P., Huy N. Q., Yen H. T. Investigation of suitable conditions for the growth and producing biofilm of denitrifying bacteria. *Vietnam Journal of Biotechnology*. 2016;14(1):191-196. https://doi.org/10.15625/1811-4989/14/1/9309.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Н. В. Т. Нам,
магистр, научный сотрудник,
Южное отделение Совместного
Российско-Вьетнамского Тропического
научно-исследовательского
и технологического центра,
740300, г. Хошимин, ул. Третьего Февраля, район 10, Вьетнам,
xungcavn@gmail.com
https://orcid.org/0000-0003-0091-5369

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nguyen V. T. Nam,
Master Sci., Researcher,
Southern Branch of Joint Vietnam-Russia Tropical
Science and Technology Research Center,
3, 3 Thang 2 St., 740300, Ho Chi Minh City,
Distr. 10, Vietnam,
xungcavn@gmail.com
https://orcid.org/0000-0003-0091-5369

Т. М. Лыонг,
к.х.н., заведующий лабораторией,
Южное отделение Совместного
Российско-Вьетнамского Тропического
научно-исследовательского
и технологического центра,
740300, г. Хошимин, ул. Третьего Февраля,
район 10, Вьетнам,
luongmo@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-6035-5933

Mo T. Luong,
Cand. Sci. (Chemistry), Head of the Laboratory,
Southern Branch of Joint Vietnam-Russia Tropical
Science and Technology Research Center,
3, 3 Thang 2 St., 740300, Ho Chi Minh City,
Distr. 10, Vietnam,
luongmo@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-6035-5933

Н. Ю. Юдина,
к.х.н., доцент,
старший научный сотрудник,
Тульский государственный университет,
300012, г. Тула, пр-т Ленина, 92,
Российская Федерация,
TSUnewIT@gmail.com
https://orcid.org/0000-0002-4054-9642

Natalia Yu. Yudina,
Cand. Sci. (Chemistry), Researcher,
Tula State University,
92, Lenin Ave., Tula, 300012,
Russian Federation,
TSUnewIT@gmail.com
https://orcid.org/0000-0002-4054-9642

О. Н. Понаморева,
д.х.н., заведующий кафедрой биотехнологии,
Тульский государственный университет,
300012, г. Тула, пр-т Ленина, 92,
Российская Федерация
olgaponamoreva@mail.ru
https://orcid.org/0000-0003-3481-2552

Olga N. Ponamoreva,
Dr. Sci. (Chemistry),
Head of the Department of Biotechnology,
Tula State University,
92, Lenin Ave., Tula, 300012,
Russian Federation,
olgaponamoreva@mail.ru
https://orcid.org/0000-0003-3481-2552

С. В. Алферов,
к.х.н., заведующий лабораторией,
Тульский государственный университет,
300012, г. Тула, пр-т Ленина, 92,
Российская Федерация,
s.v.alferov@gmail.com
https://orcid.org/0000-0002-5217-7815

Sergey V. Alferov,
Cand. Sci. (Chemistry), Head of the Laboratory,
Tula State University,
92, Lenin Ave., Tula, 300012,
Russian Federation,
s.v.alferov@gmail.com
https://orcid.org/0000-0002-5217-7815

Ч. Н. Л. Чи,
инженер, научный сотрудник,
Южное отделение Совместного
Российско-Вьетнамского Тропического
научно-исследовательского
и технологического центра,
740300, г. Хошимин, ул. Третьего Февраля,
район 10, Вьетнам,
tryphena6896@gmail.com
https://orcid.org/0000-0002-1641-9418

Tran N. L. Chi,
Engineer, Researcher,
Southern Branch of Joint Vietnam-Russia Tropical
Science and Technology Research Center,
3, 3 Thang 2 St., 740300, Ho Chi Minh City,
Distr. 10, Vietnam,
tryphena6896@gmail.com
https://orcid.org/0000-0002-1641-9418

Н. Т. Зунг,
студент, лаборант,
Южное отделение Совместного
Российско-Вьетнамского Тропического
научно-исследовательского
и технологического центра,
740300, г. Хошимин, ул. Третьего Февраля,
район 10, Вьетнам,
dungnguyen14791@gmail.com
https://orcid.org/0000-0001-5567-9725

Nguyen T. Dung,
Student, Laboratory Assistant,
Southern Branch of Joint Vietnam-Russia Tropical
Science and Technology Research Center,
3, 3 Thang 2 St., 740300, Ho Chi Minh City,
Distr. 10, Vietnam,
dungnguyen14791@gmail.com
https://orcid.org/0000-0001-5567-9725

Ф. Т. М. Зуен,
студент,
Аграрно-лесной университет,

Phung T. M. Duyen,
Student,
Nong Lam University,

720400, г. Хошимин, ул. П. Линь Трунг,
квартал 6, Вьетнам,
16126039@st.hcmuaf.edu.vn
https://orcid.org/0000-0002-7469-4004

В. Т. Нгиа,
студент,
Аграрно-лесной университет,
720400, г. Хошимин, ул. П. Линь Трунг, квартал 6,
Вьетнам,
16126110@st.hcmuaf.edu.vn
https://orcid.org/0000-0003-2740-9853

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 18.07.2022.
Одобрена после рецензирования 05.10.2022.
Принята к публикации 30.11.2022.

KP. 6, P. Linh Trung St., 720400,
Ho Chi Minh City, Vietnam,
16126039@st.hcmuaf.edu.vn
https://orcid.org/0000-0002-7469-4004

Vo T. Nghia,
Student,
Nong Lam University,
KP. 6, P. Linh Trung St., 720400,
Ho Chi Minh City, Vietnam,
16126110@st.hcmuaf.edu.vn
https://orcid.org/0000-0003-2740-9853

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

Information about the article

The article was submitted 18.07.2022.
Approved after reviewing 05.10.2022.
Accepted for publication 30.11.2022.