

МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО, АККУМУЛИРУЮЩЕЕ ФОСФАТ В ЛАБОРАТОРНОМ БИОРЕАКТОРЕ С ДОМИНИРОВАНИЕМ “*CANDIDATUS ACCUMULIBACTER*”

© 2022 г. А. В. Пелевина^а*, Ю. Ю. Берестовская^а, В. А. Грачёв^а, А. Г. Дорофеев^а,
О. В. Слатинская^б, Г. В. Максимов^б, А. Ю. Каллистова^а, Ю. А. Николаев^а, Е. В. Груздев^с,
Н. В. Равин^с, Н. В. Пименов^а, А. В. Марданов^с

^аФИЦ Биотехнологии РАН, Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Москва, 119071 Россия

^бМосковский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, 119892 Россия

^сФИЦ Биотехнологии РАН, Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина, Москва, 119071 Россия

*e-mail: annie.pelevina@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.04.2022 г.

После доработки 18.04.2022 г.

Принята к публикации 19.04.2022 г.

В лабораторном биореакторе последовательно-периодического действия через 150 сут культивирования было получено микробное сообщество, обогащенное фосфат-аккумулирующими организмами (ФАО). Анализ динамики фосфатов в среде и результаты спектроскопии комбинационного рассеяния света микробных клеток свидетельствовали о типичном для ФАО цикле потребления и высвобождения фосфатов в аэробный и анаэробный периоды культивирования соответственно. Максимальное содержание внутриклеточного фосфора составило $16.5 \pm 0.15\%$ от сухой массы беззольного вещества. Молекулярно-генетическим анализом и методом FISH выявлено таксономическое разнообразие микробного сообщества, в котором основными представителями ФАО были бактерии группы “*Ca. Accumulibacter*”.

Ключевые слова: биологическое удаление фосфора, фосфат-аккумулирующие бактерии (ФАО), очистка воды, “*Candidatus Accumulibacter*”

DOI: 10.31857/S0026365622100275

Наиболее перспективные современные технологии очистки сточных вод от фосфора основаны на биологической очистке с использованием активного ила, формирующегося в биореакторах непрерывного или последовательно-периодического действия (sequencing batch reactor, SBR). Способность к удалению фосфора обусловлена функционированием фосфат-аккумулирующих организмов (ФАО) – физиологической группой микроорганизмов, способных к циклическому поглощению–высвобождению фосфатов и накоплению фосфора в виде полифосфатов при чередовании анаэробной и аэробной фаз культивирования. Динамика формирования фосфат-аккумулирующего микробного сообщества, его состав и пространственная организация во многом определяются режимами работы реакторов (Weissbrodt et al., 2013; Gómez-Basurto et al., 2019; Zhou et al., 2019). Исследованию ФАО, разработке и оптимизации режимов работы биореакторов, обеспечивающих эффективную очистку сточных вод от фосфора, посвящено большое количество работ (Izadi et al., 2020; Roy et al., 2021; Rajesh Vanu et al., 2021). В

России такие исследования были начаты недавно (Пелевина и соавт., 2021).

В задачу наших исследований входило получение обогащенного ФАО микробного сообщества с высокой плотностью биомассы, исследование динамики клеточных фосфатов с использованием спектроскопии комбинационного рассеяния (КР-спектроскопия), определение таксономического состава сообщества и доминирующих представителей ФАО.

Культивирование микробного сообщества проводили в лабораторном реакторе (SBR) с рабочим объемом 2 л. Основные характеристики биореактора описаны ранее (Пелевина и соавт., 2021). В настоящей работе режим SBR включал фазу отстаивания, что обеспечило получение высокой плотности биомассы. Каждый SBR-цикл включал пять последовательных фаз: 1) подача среды в анаэробных условиях – 30 мин; 2) анаэробная фаза потребления субстрата – 2 ч 25 мин; 3) аэробная фаза роста биомассы – 2 ч 30 мин; 4) фаза отстаивания – 30 мин; 5) слив надосадоч-

ной жидкости – 5 мин. В каждом SBR-цикле проводили замену 0.8 л среды, обеспечивая гидравлическое время пребывания 15 ч. Для удаления избыточной (приросшей) биомассы, в каждом 28-ом SBR-цикле исключали фазу отстаивания, и отводили часть биомассы вместе со сливной жидкостью, поддерживая среднее время удержания биомассы 17.5 сут. Выращивание проводили при оптимальных для развития ФАО условиях: температура 18°C, pH 7.5–8.2, источник углерода и энергии – ацетат, соотношение фосфора к ацетату в среде – 0.09 моль/моль (Lopez-Vazquez et al., 2010; McMahon et al., 2010).

В работе использовали синтетическую среду следующего состава (г/л): $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ – 0.670; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0.139; KH_2PO_4 – 0.109; дрожжевой экстракт – 0.009; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.150; раствор микроэлементов – 1 мл/л. Состав раствора микроэлементов (г/л): ЭДТА натрия – 10; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 1.5; H_3BO_3 – 0.15; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0.03; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0.12; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0.06; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.12; KI – 0.18; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0.15. Для предотвращения образования нитратов и развития денитрифицирующих бактерий, конкурирующих с ФАО за субстрат, в среду добавляли тиомочевину до конечной концентрации 2.5 мг/л; pH поддерживали автоматическим титрованием 0.5 М раствором HCl.

Посевным материалом служил флокулированный активный ил очистных сооружений г. Москвы.

Концентрацию растворенного кислорода, ацетата, фосфат-ионов (P-PO_4^{3-}) и вес сухой биомассы (СБ) проводили, как было описано ранее (Пелевина и соавт., 2021). Зольность и концентрацию фосфора в биомассе определяли в соответствии с (Rice et al., 2017).

Морфологию клеток исследовали на микроскопе Olympus CX41 с фазовым контрастом (“Olympus”, Япония).

Фосфат-аккумулирующих представителей в составе микробного сообщества биореактора определяли методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) с использованием меченых цианином 3 (Cy3) 16S рРНК олигонуклеотидных зондов: PAO651, специфичных к “*Ca. Accumulibacter*” (Crocetti et al., 2000). Процедуру гибридизации проводили по методике, описанной ранее (Каллистова и соавт., 2014). Клетки с зондами визуализировали с помощью эпифлуоресцентного микроскопа Axio Imager M2 (“Carl Zeiss Microscopy GmbH”, Германия), оснащенного цифровой камерой 503топо и светофильтром Zeiss 43 (возбуждение 545/25 нм, эмиссия 605/70 нм). Фотографии обрабатывали с использованием программного обеспечения ZEN 2 (“Carl Zeiss Microscopy GmbH”, Германия).

Содержание и конформационное состояние молекул внутри клеток исследовали с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния (Рамановская спектроскопия, КР) (Carey, 1999). Регистрацию сигнала КР осуществляли на конфокальном микроскоп-спектрометре NTEGRA-SPECTRA (“NT-MDT”, Россия) в диапазоне частотного сдвига 200–3000 cm^{-1} с шагом измерения 1 cm^{-1} , охлаждение CCD камеры –60°C, объектив 5× с апертурой 0.15, решетка 600, мощность лазера на образце 3 мВт, длина волны возбуждения 532 нм. Для регистрации сигнала КР 5 мкл раствора наносили на предметное стекло и накрывали вторым предметным стеклом, после чего помещали на предметный столик прибора. Через 5 мин после нанесения образца проводили регистрацию спектров с выбранных областей. Время регистрации одного спектра – 30 с. Количество повторов – не менее 10. После получения сигнала, спектр КР обрабатывали в программе Origin2017 (“Origin Lab Corporation”, США). Обработка сигнала включала в себя вычитание базовой линии и сглаживание спектра.

Выделение ДНК, амплификацию и секвенирование фрагментов генов 16S рРНК проводили по методике, описанной ранее (Пелевина и соавт., 2021).

В течение всего периода культивирования органический субстрат (ацетат) полностью потреблялся микробным сообществом в анаэробную фазу каждого цикла работы SBR. Достоверного поглощения и выброса фосфора в среду в SBR-циклах за первые 10 сут не наблюдалось (рис. 1а). Дальнейшее культивирование приводило к увеличению количества выбрасываемого фосфора в анаэробной фазе каждого цикла SBR и падению его содержания в среде при переходе в аэробную фазу, что свидетельствовало о развитии в реакторе фосфат-аккумулирующего микробного сообщества. К 150 сут культивирования максимальная концентрация фосфатов в среде в анаэробную фазу составила 100–110 мг $\text{P-PO}_4/\text{л}$ (рис. 1б). К этому моменту отношение количества выброшенного фосфора к потребленному ацетату в анаэробную фазу цикла достигло значения 0.72 ± 0.05 (P-моль/С-моль), что свидетельствовало о том, что весь потребленный ацетат использовался фосфат-аккумулирующими микроорганизмами. Концентрация биомассы в реакторе и ее зольность составили 3.5 ± 0.3 г СБ/л и $36.0 \pm 1.0\%$ соответственно. Содержание фосфора увеличилось до $16.5 \pm 0.15\%$ от веса сухого беззольного вещества биомассы, что многократно превышало содержание фосфора в биомассе большинства микроорганизмов (1–2.5%) (Henze et al., 2002).

Микроскопическое исследование микробного сообщества SBR выявило большое разнообразие морфологических форм. Среди них четко выде-

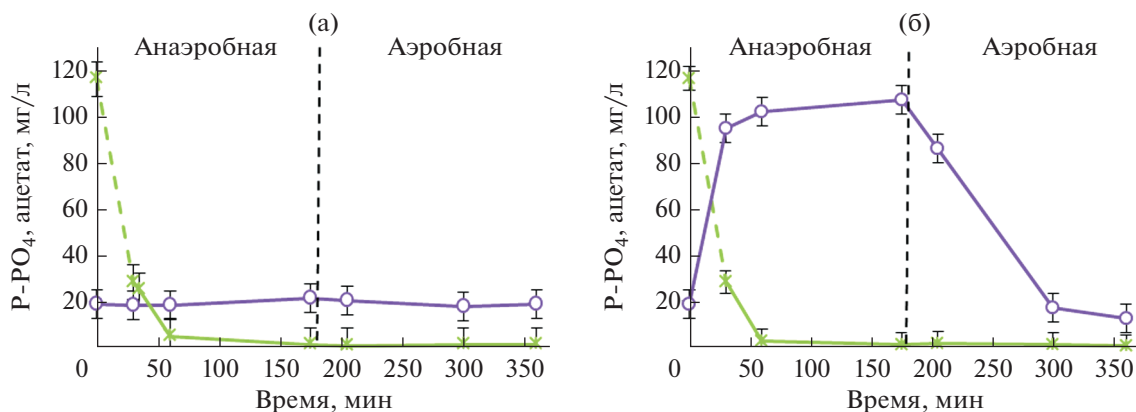


Рис. 1. Динамика концентрации фосфатов и ацетата в среде в течение одного SBR-цикла: а – 10 сут работы реактора; б – 150 сут работы реактора. Концентрации ацетата и фосфатов показаны зеленой и фиолетовой линиями соответственно.

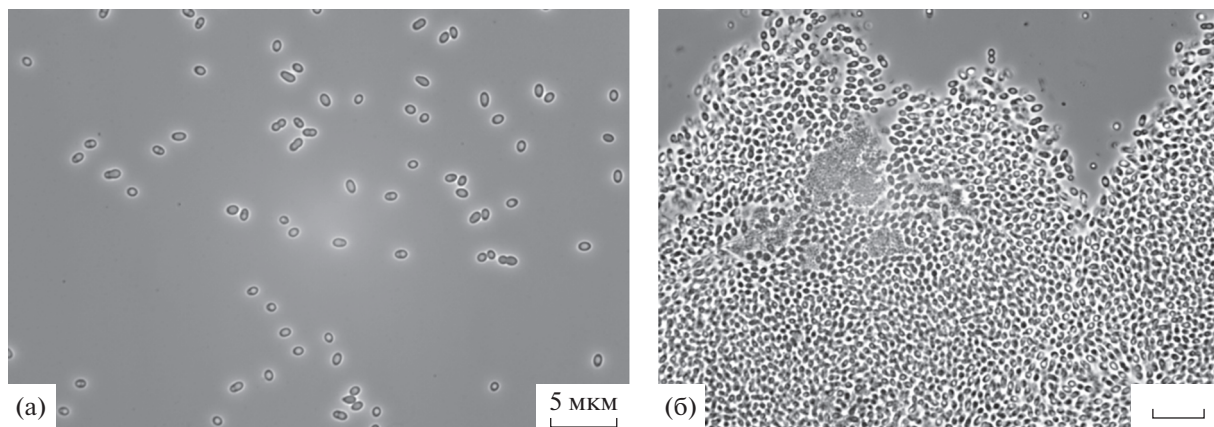


Рис. 2. Клетки с включениями в составе фосфат-аккумулирующего микробного сообщества ферментера: а – отдельные клетки; б – агрегаты клеток. Масштабная линейка – 5 мкм.

лялись овальные клетки с крупными включениями (рис. 2а), большинство из которых формировали агрегаты (рис. 2б).

Исследование этих клеток с помощью метода КР-спектроскопии позволило обнаружить полосы, характерные для колебания различных связей органических соединений и фосфора (рис. 3а, 3б; табл. 1). Были выявлены полосы колебаний, характерные для белков и жирных кислот, а также для связей O–P–O, фосфатных групп PO, PO₄, C–N деформации PO₄³⁻, антисимметричные растяжения PO₂ и полоса колебаний растяжения связи P–OH.

Наличие полос КР-спектра, характерных для C–H-, C–C-связей органических соединений и связей PO₄ (полоса 1128 см⁻¹ – C–H деформации, PO₄³⁻ ν₃ колебание, 1152 см⁻¹ – колебания C–C связи, антисимметричные растяжения PO₂), указывает на существование центров связывания

фосфатов с молекулами в клетке. На рис. 3в представлены КР-спектры образцов клеток, отобранных в разных фазах SBR-цикла. Сравнение интенсивности полос 478, 748 и 1152 см⁻¹, полученных для клеток, находящихся в различных фазах SBR-цикла, показало, что содержание фосфатов в клетках в конце аэробной фазы (спектр 2) существенно выше, чем в конце анаэробной фазы SBR-цикла (спектр 1) (рис. 3в). Эти результаты полностью соответствуют данным по динамике концентрации фосфатов в среде ферментера. Несмотря на то, что интенсивность полос спектра меняется, никакого их смещения не происходит, что свидетельствует об отсутствии конформационных изменений внутриклеточных фосфатов при их потреблении клетками или высвобождении в среду. Отметим, что при минимальном содержании в клетках фосфора в спектрах КР выявлена полоса 1440 см⁻¹, характеризующая N=N растяжения в молекулах (рис. 3в, табл. 1), кото-

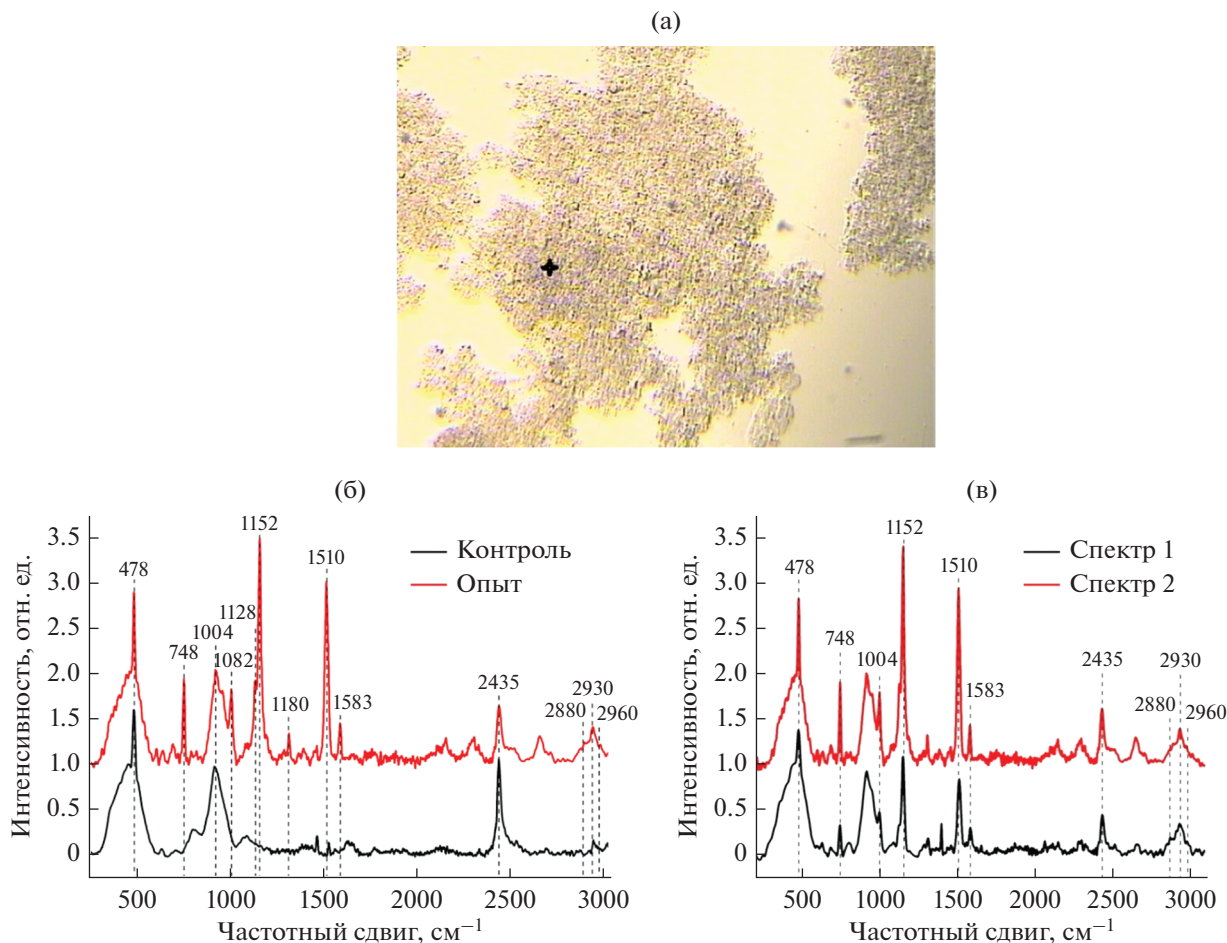


Рис. 3. КР-спектроскопия клеток с включениями: а – микрофотография с обозначением места проведения анализа; б – КР-спектр исследуемых клеток на 150 сут культивирования; в – КР-спектр исследуемых клеток в конце анаэробной фазы (спектр 1) и в конце аэробной фазы SBR-цикла (спектр 2). Представленные графики нормированы на максимум интенсивности полосы стекла – 916 см^{-1} .

рой не наблюдается в клетках при максимальном содержании фосфора. Этот сопряженный с динамикой фосфора процесс требует дальнейшего исследования.

Анализ микробных агрегатов методом FISH выявил высокое содержание в нем “*Ca. Accumulibacter*” – типичного представителя фосфат-аккумулирующих бактерий (рис. 4).

Таксономический анализ исследуемых образцов показал, что в исходном активном иле доминировали представители домена *Bacteria*, относящиеся к четырем основным филумам: *Proteobacteria*, *Bacteroidota*, *Chloroflexota* и *Patescibacteria*, тогда как археи составляли 5.9% от общего числа представителей микроорганизмов. В процессе работы биореактора доля архей снизилась до нуля, и стали преобладать представители филума *Proteobacteria*. Их доля к 150 сут возросла более чем в 5 раз, достигнув 68%. *Proteobacteria* в основном были представлены родами “*Ca. Accumulibacter*”, “*Ca. Competi-*

bacter”, *Thiothrix*, *Propionivibrio*, *Dechloromonas*, *Thauera*, *Zoogloea*, которые характерны для биореакторов по удалению фосфатов (McIlroy et al., 2014, 2015; Albertsen et al., 2016; Terashima et al., 2016). Несмотря на то, что некоторые из этих родов включают в фосфат-аккумулирующие микроорганизмы (“*Ca. Accumulibacter*”, *Thiothrix*, *Dechloromonas*, *Thauera*), доминирующим представителем этой физиологической группы бактерий был “*Ca. Accumulibacter*”, численность которого существенно возросла по сравнению с исходным микробным сообществом активного ила с 0.9 до 13% от всех последовательностей генов 16S рНК.

Таким образом, в ходе работы биореактора произошла смена таксономического состава активного ила. К 150 сут культивирования в SBR было получено стабильно функционирующее фосфат-аккумулирующее микробное сообщество с высоким накоплением фосфора в биомассе (16.5% от веса сухого беззольного вещества биомассы) и типичным для ФАО-фенотипа накопле-

Таблица 1. Характеристика полос КР-спектра (Condrate, 1998; Zhang, Silva, 2010; Frost et al., 2014; Jillavenkatesa, Penkov, 2021)

Положение пика, см ⁻¹	Характеристика
478	Колебания О–Р–О
748	Колебания фосфатных групп PO
1004	Карбонат ион CO ₃ (2 ⁻) или CH ₃ -колебания
1082	Колебания PO ₄ , полоса F2
1128	С–Н деформации, PO ₄ ³⁻ v ₃ колебание
1152	Колебания С–С связи, антисимметричные растяжения PO ₂
1180	С–Н деформации
1440	N=N растяжения
1510	Колебания С=C связи
1583	Колебания амида I
2435	Колебания растяжения связи Р–ОН
2880, 2930, 2960	Белки и липиды, С–Н группы жирных кислот и белков или воды

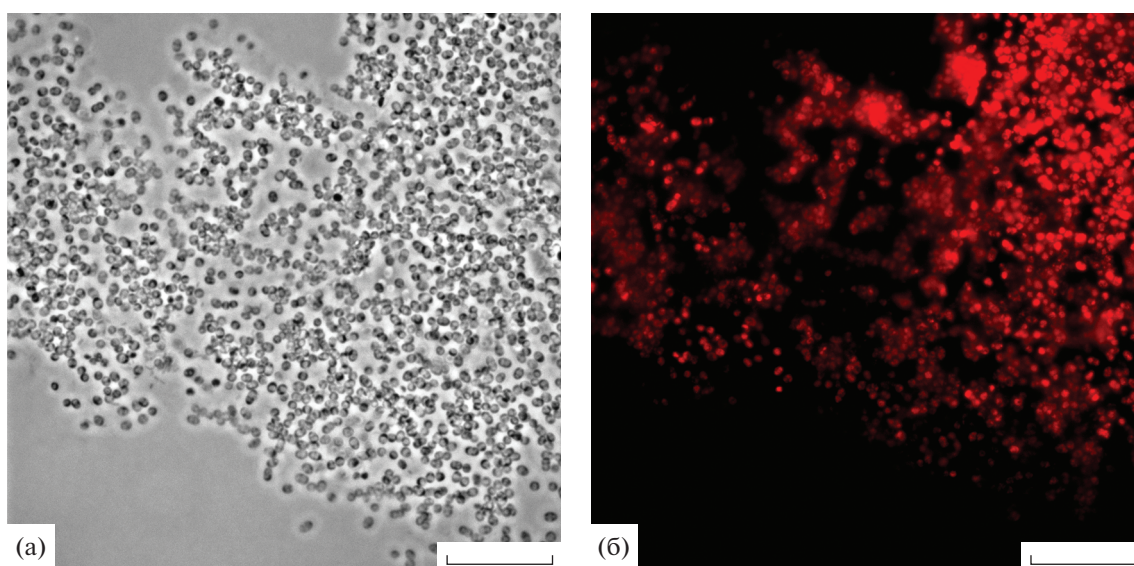


Рис. 4. “*Ca. Accumulibacter*” в составе микробного сообщества агрегатов: а – фазовый контраст; б – клетки, гибридные с зондом PAO651 (светофильтр Zeiss 43). Масштабная линейка – 20 мкм.

нием и высвобождением фосфатов в аэробную и анаэробную фазу SBR-цикла. Основным представителем ФАО в сообществе был “*Ca. Accumulibacter*”.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 21-64-00019) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов исследований, в которых в качестве объектов использовались люди или животные.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Каллистова А.Ю., Пименов Н.В., Козлов М.Н., Николаев Ю.А., Дорофеев А.Г., Асеева В.Г., Грачев В.А., Менько Е.В., Берестовская Ю.Ю., Ножевникова А.Н., Кевбрина М.В.* Изучение микробного состава активных илов московских очистных сооружений // *Микробиология*. 2014. Т. 83. С. 615–625.
- Kallistova A.Y., Pimenov N.V., Kozlov M.N., Nikolaev Y.A., Dorofeev A.G., Aseeva V.G., Grachev V.A., Men'ko E.V., Berestovskaya Y.Y., Nozhevnikova A.N., Kevbrina M.V.* Microbial composition of the activated sludge of Moscow wastewater treatment plants // *Microbiology (Moscow)*. 2014. V. 83. P. 699–708.
- Пелевина А.В., Берестовская Ю.Ю., Грачёв В.А., Дорофеева И.К., Сорокин В.В., Дорофеев А.Г., Каллистова А.Ю., Николаев Ю.А., Котляров Р.Ю., Белецкий А.В., Равин Н.В., Пименов Н.В., Марданов А.В.* Микробный консорциум, осуществляющий удаление фосфатов в циклическом аэробно-анаэробном культивировании // *Микробиология*. 2021. Т. 90. С. 76–89.
- Pelevina A.V., Berestovskaya Y.Y., Grachev V.A., Dorofeeva I.K., Sorokin V.V., Dorofeev A.G., Kallistova A.Y., Nikolaev Y.A., Pimenov N.V., Kotlyarov R.Y., Beletskii A.V., Ravin N.V., Pimenov N.V., Mardanov A.V.* A microbial consortium removing phosphates under conditions of cyclic aerobic-anaerobic cultivation // *Microbiology (Moscow)*. 2021. V. 90. P. 66–77.
- Albertsen M., McIlroy S.J., Stokholm-Bjerregaard M., Karst S.M., Nielsen P.H.* “*Candidatus Propionivibrio aalborgensis*”: a novel glycogen accumulating organism abundant in full-scale enhanced biological phosphorus removal plants // *Front. Microbiol.* 2016. V. 7. P. 1033.
- Carey P.R.* Raman spectroscopy, the sleeping giant in structural biology, awakes // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 26625–26628.
- Crocetti G.R., Hugenholtz P., Bond P.L., Schuler A., Keller J., Jenkins D., Blackall L.L.* Identification of polyphosphate-accumulating organisms and design of 16S rRNA-directed probes for their detection and quantitation // *Appl. Environ. Microbiol.* 2000. V. 66. P. 1175–1182.
- Crocetti G.R., Banfield J.F., Keller J., Bond P.L., Blackall L.L.* Glycogen-accumulating organisms in laboratory-scale and full-scale wastewater treatment processes // *Microbiology (SGM)*. 2002. V. 148. P. 3353–3364.
- Frost R.L., Scholz R., López A., Xi Y.* A vibrational spectroscopic study of the phosphate mineral whiteite $\text{CaMn}^{++}\text{Mg}_2\text{Al}_2(\text{PO}_4)_4(\text{OH})_2 \cdot 8(\text{H}_2\text{O})$ // *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* 2014. V. 124. P. 243–248.
- Gómez-Basurto F., Vital-Jácome M., Gómez-Acata E.S., Thalasso F., Luna-Guido M., Dendooven L.* Microbial community dynamics during aerobic granulation in a sequencing batch reactor (SBR) // *PeerJ*. 2019. V. 7. P. e7152.
- Henze M., Harremoës P., La Cour Jansen J., Arvin E.* Wastewater Treatment: Biological and Chemical Processes. 3rd ed. Berlin: Springer. 2002. P. 383.
- Izadi P., Izadi P., Eldyasti A.* Design, operation and technology configurations for enhanced biological phosphorus removal (EBPR) process: a review // *Rev. Environ. Sci. Bio/Technol.* 2020. V. 19. P. 561–593.
- Jillavenkatesa A., Condrate Sr R.A.* The infrared and Raman spectra of β - and α -tricalcium phosphate ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) // *Spectr. Lett.* 1998. V. 31. P. 1619–1634.
- Lopez-Vazquez C.M., Oehmen A., Hooijmans C.M., Brdjanovic D., Gijzen H.J., Yuan Z., van Loosdrecht M.C.M.* Modeling the PAO GAO competition: effects of carbon source, pH and temperature // *Water Res.* 2009. V. 43. P. 450–462.
- McMahon K.D., He S., Oehmen A.* The microbiology of phosphorus removal // *Microbial Ecology of Activated Sludge* / Eds. Seviour R., Nielsen P.H. London: IWA, 2010. P. 668.
- McIlroy S.J., Albertsen M., Andresen E.K., Saunders A.M., Kristiansen R., Stokholm-Bjerregaard M., Nielsen P.H.* “*Candidatus Competibacter*”-lineage genomes retrieved from metagenomes reveal functional metabolic diversity // *ISME J.* 2014. V. 8. P. 613–624.
- McIlroy S.J., Saunders A.M., Albertsen M., Nierychlo M., McIlroy B., Hansen A.A., Nielsen P.H.* MiDAS: the field guide to the microbes of activated sludge // *Database*. 2015. V. 2015. P. 1–8.
- Penkov N.V.* Relationships between molecular structure of carbohydrates and their dynamic hydration shells revealed by terahertz time-domain spectroscopy // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. P. 11969.
- Rajesh Banu J., Merrylin J., Kavitha S., Yukesh Kannah R., Selvakumar P., Gopikumar S., Kumar G.* Trends in biological nutrient removal for the treatment of low strength organic wastewaters // *Curr. Pollut. Rep.* 2021. V. 7. P. 1–30.
- Roy S., Guanglei Q., Zuniga-Montanez R., Williams R.B., Wuertz S.* Recent advances in understanding the ecophysiology of enhanced biological phosphorus removal // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2021. V. 67. P. 166–174.
- Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation / Eds. Rice E.W., Baird R.B., Eaton A.D. 23rd edn. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2017. P. 1504.

Terashima M., Yama A., Sato M., Yumoto I., Kamagata Y., Kato S. Culture-dependent and -independent identification of polyphosphate-accumulating *Dechloromonas* spp. predominating in a full-scale oxidation ditch wastewater treatment plant // *Microb. Environ.* 2016. V. 31. P. 449–455.

Weissbrodt D.G., Neu T.R., Kuhlicke U., Rappaz Y., Holliger C. Assessment of bacterial and structural dynamics in aerobic granular biofilms // *Front. Microbiol.* 2013. V. 4. P. 175.

Zhang W., Silva S.R.P. Raman and FT-IR studies on dye-assisted dispersion and flocculation of single walled carbon nanotubes // *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* 2010. V. 77. P. 175–178.

Zhou J.H., Zhou Y.C., Yu H.C., Zhao Y.Q., Ye K.Q., Fang J.Y., Wang H.Y. Determining the effects of aeration intensity and reactor height to diameter (H/D) ratio on granule stability based on bubble behavior analysis // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2019. V. 26. P. 784–796.

A Phosphate-Accumulating Microbial Community in the Laboratory Bioreactor Predominated by “*Candidatus Accumulibacter*”

A. V. Pelevina¹ *, Yu. Yu. Berestovskaya¹, V. A. Grachev¹, A. G. Dorofeev¹,
O. V. Slatinskaya², G. V. Maksimov², A. Yu. Kallistova¹, Yu. A. Nikolaev¹, E. V. Grouzdev³,
N. V. Ravin³, N. V. Pimenov¹, and A. V. Mardanov³

¹Winogradsky Institute of Microbiology, Research Center of Biotechnology,
Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia

²Faculty of Biology, Moscow State University, Moscow, 119892 Russia

³Institute of Bioengineering, Research Center of Biotechnology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia

*e-mail: annie.pelevina@yandex.ru

Received April 11, 2022; revised April 18, 2022; accepted April 19, 2022

Abstract—A microbial community enriched with phosphate-accumulating organisms (PAO) was obtained in a laboratory sequencing batch reactor after 150 days of cultivation. Analysis of phosphate dynamics in the medium and the results of Raman scattering spectroscopy indicated the cycle of phosphate consumption and release during cultivation under oxic and anoxic conditions, respectively, which was typical of PAO. The highest content of intracellular phosphorus was $16.5 \pm 0.15\%$ of the dry ash-free biomass. Molecular genetic analysis and FISH revealed the taxonomic diversity of the microbial community, in which members of the “*Ca. Accumulibacter*” group were the major PAO.

Keywords: biological phosphorus removal, phosphate-accumulating bacteria (PAO), water treatment, “*Candidatus Accumulibacter*”