

Сыровацкая Галина Андреевна

**ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
НИТРИЛГИДРОЛИЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ СОДОВОГО
ШЛАМОХРАНИЛИЩА ГОРОДА БЕРЕЗНИКИ**

1.5.11. Микробиология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Работа выполнена на базе лаборатории молекулярной биотехнологии «Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь.

Научный руководитель:

Максимова Юлия Геннадьевна, доктор биологических наук, доцент, зав. лабораторией молекулярной биотехнологии «Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Каюмов Айрат Рашитович – доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой генетики Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»;

Коршунова Татьяна Юрьевна – доктор биологических наук, заместитель директора по научной работе Уфимского института биологии – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, заведующая лабораторией биотехнологий Уфимского института биологии.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской академии наук (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, д. 6).

Защита состоится «___» декабря 2026 г. в ___00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.201.03 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, по адресу: 614081, г. Пермь, ул. Голева, д. 13. Факс: (342) 280 92 11. E-mail: info@iegm.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ПФИЦ УрО РАН (614013, г. Пермь, ул. Академика Королева, 3) и на сайте ПФИЦ УрО РАН (<http://permisc.ru>).

Автореферат разослан «_____» _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук

Максимова Юлия Геннадьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности. Экстремофилами называют группу организмов, адаптированных к агрессивным условиям среды обитания и активно размножающихся в них. Среди экстремофилов преобладают представители доменов *Bacteria* и *Archaea*. Их устойчивость обусловлена активным горизонтальным переносом генов, метаболической лабильностью, высокой скоростью роста и закрепления полезных мутаций.

Адаптационные реакции и уникальные ферменты экстремофилов позволяют использовать их в биоремедиации, биокатализе и производстве биологически активных соединений. Изучение этих микроорганизмов расширяет понимание экологии и эволюции бактерий, биогеохимических циклов, происхождения жизни. Сочетание экстремофилии со способностью утилизировать токсичные нитрилы, являющиеся значимым в индустриальной сфере классом веществ (Yamada *et al.*, 2001), до настоящего времени остается малоизученным.

Микроорганизмы, адаптированные к высокой солености и щелочности среды (галоалкалофильные и галотолерантные), представляют значительный интерес для биотехнологического применения, поскольку сохраняют функциональную активность в условиях дефицита воды и присутствия органических растворителей. Галофильные ферменты рассматриваются в качестве моделей для биокатализа в маловодных средах (Kikani *et al.*, 2023). Перспективным источником для выделения таких устойчивых штаммов являются техногенно-загрязненные экосистемы. Микроорганизмы, населяющие их, эволюционируют под давлением множества стрессовых факторов, что формирует у них механизмы устойчивости и широкий адаптационный потенциал. Это позволяет им успешно выживать в условиях комбинированного воздействия высоких концентраций поллютантов и экстремальных факторов среды.

Первые галоалкалофильные бактерии, разлагающие нитрилы, выделены в 2007 году из содовых озер и солончаков (Sorokin *et al.*, 2007 b). Среди них – актинобактерия *Nitriliruptor alkaliphilus* в консорциуме с *Marinospirillum* sp., а также новые виды *Bacillus* и *Halomonas nitrilicus*, использующие нитрилазный путь трансформации органоцианидов (Sorokin *et al.*, 2007 a, b, 2008, 2009). Из озера Самбхар выделена умеренно галофильная *Halomonas* sp. с нитрилазной активностью, максимальной при pH 7 и 45°C (Singh *et al.*, 2018). Из морских отложений выделен солеустойчивый штамм дрожжей *Meyerozyma guilliermondii* с нитрилазой, работающей при pH 6–9 и в морской воде (Serra *et al.*, 2019). Из речных илов выделен алкалофильный штамм *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, разлагающий цианид при pH 9,5 (Luque-Almagro *et al.*, 2011). Из горячих источников – *Rhodococcus pyridinivorans* с нитрилазой, активной при pH 10 (Seth *et al.*, 2017). Наличие нитрилгидролизующих родококков, устойчивых к повышенным концентрациям NaCl и щелочной среде, было показано нами при скрининге проб грунта на территории содового шламонакопителя в Пермском крае (Shilova *et al.*, 2022; Сыровацкая и др., 2025; Maksimova *et al.*, 2026).

Загрязнение окружающей среды полимерами, в том числе содержащими нитрильные звенья, достигает больших масштабов (Heydari *et al.*, 2026; Dzulkafly *et al.*, 2025). Синтетические полимеры сложно поддаются биodeградации, что приводит к накоплению и долговременной персистенции этих материалов (Abidin *et al.*, 2024; Jiao *et al.*, 2024). Так, бутадиен-нитрильный каучук (БНК), материал для изготовления медицинских перчаток, стал массовым компонентом отходов после пандемии COVID-19. Микроорганизмы применяются для мягкой очистки почв и вод от полимерных отходов (Shen *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2016), однако процесс осложняется длительностью (Christiansson *et al.*, 2000). Информация о воздействии микроорганизмов на БНК крайне ограничена (Delgado-Nungaray *et al.*, 2024; Dou *et al.*, 2026). *P. aeruginosa*, изученная Delgado-Nungaray *et al.* как возможный биодеструктор этого полимера,

является условно-патогенной бактерией, вызывающей нозокомиальные инфекции и заболевания у ослабленных пациентов. Потенциальная вирулентность и множественная лекарственная устойчивость осложняют ее использование в качестве биологического агента для биodeградации отходов (Dou *et al.*, 2026). Есть сведения о трансформации бутадиенового остова БНК мембранно-связанной нитрильной каучуковой оксигеназой (Nro1) из *Gordonia sp.* 11A, однако, нитрильные группы при этом не подвергались деструкции (Chiba *et al.*, 2025). Более того, в литературе практически не освещен вопрос сочетанного воздействия ферментативных систем бактерий и физических факторов окружающей среды, которым подвергаются полимеры.

Таким образом, комплексное исследование филогенетического разнообразия нитрилгидролизующих бактерий в экстремальных биотопах, к которым относится содовое шламохранилище АО «Березниковский содовый завод» (Пермский край, Россия), является важной и актуальной задачей. Полученные данные позволяют не только расширить представления о границах жизни и адаптационных стратегиях микроорганизмов, но и выявить новые перспективные штаммы для биотехнологического применения. Помимо этого, в условиях активного накопления разнообразных полимеров в окружающей среде актуальна информация о взаимодействии этих материалов с их потенциальными деструкторами. Поиск нитрилгидролизующих экстремофилов позволяет уточнить распространение соединений нитрилов в антропогенных и естественных источниках, дополнить понимание роли нитрильных соединений в азотном цикле, выделить штаммы, имеющие ценность для промышленного производства амидов и карбоновых кислот из соответствующих нитрилов, а также для биоремедиации биотопов, загрязненных нитрилами. Всё вышесказанное делает крайне актуальным поиск безопасных микроорганизмов, сочетающих способность к трансформации нитрилов с экстремофильностью (экстремотолерантностью), а также способных к деструкции / поверхностной модификации нитриловых полимеров.

Цель исследования – охарактеризовать физиолого-биохимические свойства нитрилутилизирующих бактерий, выделенных из высокоминерализованных щелочных биотопов антропогенного происхождения, и оценить их потенциал для биodeградации бутадиен-нитрильного каучука.

Основные задачи исследования:

1. Выделить бактерии, использующие ацетонитрил или ацетамид в качестве единственного источника углерода, из грунтов и осадка содового шламохранилища; идентифицировать изоляты методом секвенирования гена 16S рРНК.
2. Идентифицировать гены нитрилгидратаз, нитрилаз и амидаз у выделенных изолятов, определить нитрилгидролизующую активность изолятов и выявить штаммы, перспективные для биodeградации нитрильных соединений в условиях высокой минерализации и щелочной среды.
3. Изучить ростовые характеристики наиболее перспективных выделенных штаммов и способность к гидролизу нитрилов в условиях высокой минерализации и щелочной среды.
4. Охарактеризовать влияние различных физико-химических условий среды на формирование биопленок выделенными изолятами.
5. Исследовать воздействие галоалкалотолерантных нитрилутилизирующих бактерий на бутадиен-нитрильный каучук в процессе роста с полимером без дополнительного источника азота.

Научная новизна. Впервые осуществлено выделение и дана комплексная характеристика нитрил- и амидутилизирующих бактерий из экстремального биотопа антропогенного происхождения – содового шламохранилища, характеризующегося щелочной средой (до pH 11) и высокой минерализацией (до 98 г/л), расположенного на северо-западной

окраине г. Березники Пермского края на левом берегу Камского водохранилища. У 16 выделенных изолятов показано наличие генов ферментов гидролиза нитрилов и оценена ферментативная активность изолятов.

Среди изолятов, относящихся к филумам *Actinomycetota* и *Pseudomonadota*, непосредственно из содового шлама выделен изолят, обладающий нитрилгидратазной активностью, идентифицированный как *Rhodococcus qingshengii*. Штамм депонирован в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним ИЭГМ, www.iegmc.ru) под номером IEGM 1416. Из грунта старой карты шламохранилища (рН 8) выделен гидролизующий нитрилы изолят, идентифицированный как *Rhodococcus erythropolis* и депонированный под номером IEGM 1417.

Подобраны оптимальные условия культивирования для двух перспективных штаммов родококков, демонстрирующих исключительную толерантность к высоким концентрациям нитрилов и органических растворителей. Показана связь адаптации перспективных штаммов родококков к агрессивным условиям среды с нитрилгидролизующей активностью в экстремальных условиях. Выявлены особенности формирования биопленок у экстремотолерантных нитрилутилизирующих бактериальных изолятов. Установлено, что щелочная среда и повышенная минерализация стимулируют биопленкообразование родококков, как и понижение температуры до 8–15 °С, тогда как температура 37 °С ингибирует этот процесс, одновременно с сохранением планктонного роста.

Впервые продемонстрирована способность галоалкалотолерантных родококков к росту на БНК как единственном источнике азота после предварительной обработки полимера УФ-излучением и замораживанием-оттаиванием, моделирующими природное старение. Получены данные о формировании массивных биопленок на поверхности фрагментов перчаток из БНК и выявлены структурные изменения полимера, выражающиеся в появлении амидных групп, что свидетельствует о трансформации нитрильных звеньев. Обнаружена разнонаправленность химических изменений на разных сторонах материала, обусловленная его структурной неоднородностью, что указывает на различную доступность полимерных цепей для ферментативного воздействия.

Теоретическая и практическая значимость работы. Работа расширяет представления о физиолого-биохимической адаптации галоалкалотолерантных микроорганизмов и распространении нитрилутилизирующих бактерий в окружающей среде. Охарактеризованы два новых штамма – *R. qingshengii* 5Э и *R. erythropolis* 6Э, выделенные из техногенной среды с экстремальными значениями рН и высоким содержанием солей, и показано, что эти бактерии проявляют нитрилгидратазную активность в широком диапазоне рН и концентраций соли.

Выполненное исследование вносит существенный вклад в фундаментальные представления о процессе ферментативного гидролиза нитрилов и его роли в модификации синтетических акрилонитрильных полимеров. Впервые получены экспериментальные данные по модификации поверхности БНК экстремотолерантными родококками.

Практическая значимость работы определяется возможностью использования штаммов в различных биотехнологических процессах. Благодаря сохранению активности в широком диапазоне рН и минерализации, выделенные штаммы родококков могут быть использованы для биокаталитического гидролиза нитрилов в промышленных процессах (экстремобиокатализе), а также для очистки сточных вод и биоремедиации территорий, загрязненных нитрильными соединениями, в условиях высокого рН и засоления. Экспериментально обоснована возможность использования нитрилутилизирующих родококков для биотрансформации БНК – материала нитриловых перчаток, одного из основных компонентов медицинских отходов периода пандемии COVID-19. Предварительная комбинированная обработка полимера ультрафиолетовым облучением и замораживанием-оттаиванием способствует усиленному

нарастанию биопленки, что открывает перспективы разработки технологий ускоренной биоремедиации резиновых отходов. Результаты исследования используются в лекционных курсах для студентов магистратуры биологического факультета Пермского государственного национального исследовательского университета.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа выполнена с применением классических методов микробиологии, таких как получение чистых культур микроорганизмов и их культивирование, определение ростовых характеристик и количества жизнеспособных клеток. Для определения продуктов реакции и оценки ферментативной активности использован метод ВЭЖХ, наличие генов метаболизма нитрилов подтверждено методом ПЦР, штаммы идентифицированы методом секвенирования гена 16S рРНК. Биопленки визуализированы методом сканирующей электронной микроскопии, изменение структуры полимера подтверждено методом спектроскопии полного внутреннего отражения с преобразованием Фурье в инфракрасном диапазоне (ATR-FTIR).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Нитрилутилизующие бактерии, изолированные из осадка и грунтов содового шламохранилища, относятся к филумам *Actinomycetota* и *Pseudomonadota*, содержат гены неэнантиоселективных амидаз и Fe-содержащей нитрилгидратазы, при этом у них отсутствуют гены нитрилаз и Co-содержащих нитрилгидратаз. Амидазная активность изолятов значительно (до 10 раз) превышает нитрилгидратазную.

2. *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416), выделенный из содового шлама, и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417), изолированный из грунта содового шламохранилища, проявляют исключительную устойчивость к высоким концентрациям нитрилов (до предела растворимости), гексана и толуола (до 80%), при этом устойчивы к высоким значениям pH и минерализации, что подтверждает их галоалкалотолерантность.

3. Повышение щелочности и степени минерализации среды, а также снижение температуры стимулирует формирование биопленок у изолятов нитрилутилизующих бактерий, выделенных из осадка и грунта содового шламохранилища.

4. Нитрилутилизующие *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) способны к росту с бутадиен-нитрильным каучуком как единственным источником азота; в процессе роста формируют биопленку на поверхности полимера и способствуют его окислительному старению и образованию амидных групп.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов подтверждается использованием адекватных методов статистической обработки, выполнением анализов на современном оборудовании, применением комплекса классических и современных микробиологических, генетических, биохимических и аналитических методов, а также методов визуализации.

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на Международной молодежной научно-практической конференции-форуме «Современная наука и инновации», Пермь, 2023; Международной конференции ученых-биологов «Фундаментальные и прикладные аспекты биологии», Пермь, 2024; 26-ой Пущинской школе-конференции молодых ученых с международным участием «Биология - наука XXI века», Пущино, 2024; XX Всероссийской научной конференции молодых ученых «Экологическая безопасность в условиях антропогенной трансформации природной среды», Пермь, 2025.

Результаты проведенных исследований опубликованы в 12 научных работах: 4 статьи в рецензируемых научных журналах, включенных в Перечень ВАК Минобрнауки РФ / Единый государственный перечень научных изданий («Белый список», уровни 1–3), из которых 3 публикации – в журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus (Q1–Q3) и

Web of Science; а также 5 статей в сборниках, входящих в базу данных РИНЦ, 1 статья в сборнике материалов международных конференций, индексируемом в Scopus и WoS CPCI, и тезисы 2 докладов.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 162 страницах машинописного текста, содержит 23 рисунка и 9 таблиц, состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов, трех глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы, приложения. Список литературы включает 253 источника, из них 26 отечественных и 227 зарубежных авторов.

Связь работы с научными программами и собственный вклад автора. Исследования выполнены при финансовой поддержке Государственного задания на тему «Биоразнообразие микроорганизмов в антропогенно-загрязненных экосистемах и функционально-генетические механизмы их адаптации к стрессовым условиям внешней среды», регистрационный номер НИОКТР 124020500028-4. Исследования выполнены частично в рамках проекта международных исследовательских групп на базе государственных образовательных учреждений или научных организации Пермского края на тему «Получение препаратов для сельского хозяйства на основе клеток и ферментов микроорганизмов экстремальных экосистем», соглашение № С-26/507 (2020-2023 годы).

Основная часть экспериментов выполнена автором самостоятельно, проведена их математическая обработка, анализ и обобщение полученных результатов. Подготовка к печати научных работ, отражающих результаты диссертационного исследования, осуществлена автором самостоятельно или при участии соавторов. Сканирующая электронная микроскопия выполнена в «Горном институте УрО РАН» – филиале Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН. Спектроскопия с преобразованием Фурье выполнена в «Институте технической химии УрО РАН» – филиале Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН. Секвенирование генов 16S рРНК выполнено на базе ООО «Евроген», Москва.

Благодарности. Автор выражает благодарность научному руководителю, заведующей лабораторией молекулярной биотехнологии «ИЭГМ УрО РАН», д.б.н., доценту Юлии Геннадьевне Максимовой; к. г.-м. н. Оксане Викторовне Коротченковой, старшему научному сотруднику лаборатории геологии месторождений полезных ископаемых (зав. лаб. – д. г.-м. н. И.И. Чайковский) «Горного института УрО РАН» – филиала ПФИЦ УрО РАН, за выполнение сканирующей электронной микроскопии образцов; а также Ирине Алексеевне Борисовой, ведущему инженеру лаборатории структурно-химической модификации полимеров (зав. лаб. – к. т. н. С.А. Астафьева) «Института технической химии УрО РАН» – филиала ПФИЦ УрО РАН, за выполнение спектроскопии с преобразованием Фурье.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1 посвящена обзору литературы, в котором содержатся сведения о гидролизе нитрилов у микроорганизмов, нитрилгидролизующих экстремофилах и возможностях биodeградации нитрилсодержащих полимеров.

Глава 2 посвящена объектам и методам исследования.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования. Изоляты выделены из проб содового шлама и грунта старой карты содового шламохранилища АО «Березниковский содовый завод» (Maksimova *et al.*, 2026). Водная составляющая имеет рН в диапазоне 11–12,6, в донных отложениях содовых озер – рН 11. Образцы грунта с территории осушенного содового озера умеренно-щелочные (рН 8–8,5). Минерализация на глубине 5 см в районе старой карты шламохранилища достигает 3,8 г/л, на осушенной поверхности 17 г/л, шлама 98,2 г/л (Шилова и др., 2020).

Изоляты выделены на селективной агаризованной минеральной среде (0,05% NaCl, pH 7,2) с 10 мМ ацетамида или 0,25% ацетонитрила в качестве единственного источника углерода. Наиболее детально изучены перспективные штаммы *R. qingshengii* 5Э и *R. erythropolis* 6Э, депонированные нами в Региональную профилированную коллекцию алканотрофных микроорганизмов (WDCM # 768) (<http://iegmcol.ru/>) под номерами IEGM 1416 и IEGM 1417 соответственно. Остальные выделенные и описанные в работе изоляты поддерживаются в лаборатории молекулярной биотехнологии «ИЭГМ УрО РАН» – филиала ПФИЦ УрО РАН.

Видовая идентификация бактериальных изолятов проведена путем анализа последовательности гена 16S рРНК, амплифицированного с праймерами 27F: 5'- AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG -3' и 1492R: 5'- TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T -3' (Weisburg *et al.*, 1991). Качество секвенированных нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК оценивали в программе Chromas Lite 2.1, их гомологию с известными генами микроорганизмов анализировали с помощью сервиса Nucleotide BLAST, NCBI. Сравнение нуклеотидных последовательностей проводили с применением программ ClustalW 2.0.9 и YACWGUI 1.2.

Детекция генов амидаз, нитрилгидратаз и нитрилаз. Амплификацию ДНК проводили с применением термостабильной Taq-SE ДНК-полимеразы (ООО «СибЭнзим», Новосибирск) на термоциклере T100 (Biometra, Германия). Праймеры, использованные для детекции генов метаболизма нитрилов и амидов, сконструированы в лаборатории молекулярной биотехнологии «ИЭГМ УрО РАН» (Демаков и др., 2009 а,б; Павлова и др., 2011). Для положительного контроля использована ДНК *R. erythropolis* E-84 и *R. erythropolis* 4-1. Праймеры для выявления генов ферментов, участвующих в трансформации нитрилов и амидов, основаны на генах родококков. Амидаза 1 типа *R. erythropolis* (E12517) и *R. rhodochrous* N-774 (X54074); алифатическая амидаза 2 типа *R. erythropolis* (M88614, Genbank); энантиоселективная амидаза *R. erythropolis* (AY026386, Genbank); Co-нитрилгидратаза *R. rhodochrous* J1 (D67027); Fe-нитрилгидратазы *R. rhodochrous* N-774, (X54074); нитрилазы алифатическая *R. rhodochrous* K22 (D12583) и ароматическая *R. rhodochrous* J1 (D67026).

Оценка оптической плотности и нитрилгидролизующей активности бактерий. Оптическую плотность (ОП) среды культивирования измеряли на фотоэлектроколориметре КФК-3 (АООТ «ЗОМЗ», Россия) при $\lambda = 540$ нм в 0,5 см кюветах.

Амидазную активность определяли по образованию акриловой кислоты из акриламида, субстрат добавляли в концентрации 50 мМ. Время ферментативной реакции для изолятов составляло 24 ч, для *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) – 2 ч. За единицу удельной активности нитрилгидратазы и амидазы принимали количество биокатализатора, образующего соответственно 1 ммоль акриламида или акрилата при трансформации акрилонитрила или акриламида за 1 ч и выражали в ммоль / г сухих клеток / ч.

Продукты реакции определяли методом ВЭЖХ. Разделение реакционной смеси проводили на хроматографе Infinity II LC 1260 (Agilent, Германия) с колонкой Synergi 4u Hydro–RP 80A (250 × 4,6 мм). В качестве подвижной фазы использовали 25 мМ NaH₂PO₄ с 5% ацетонитрила, скорость потока составляла 0,500 мл/мин при 25°C, детекцию продуктов реакции проводили при длине волны 200 нм.

Подбор оптимальной концентрации источника углерода и азота. Штаммы культивировали 10-14 сут. с сорбитом или ацетамидом в 100 мл среды N при перемешивании со скоростью 120 об./мин и температуре 22–25°C. Для *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) концентрация сорбита в среде культивирования составила 0,1, 0,5, 1, 1,5%; для *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) концентрация ацетамида была 5, 25, 50, 100 мМ.

В аналогичных условиях культивирования подбирали оптимальную концентрацию источника азота. В минеральную среду N, содержащую в качестве источника углерода сорбит для *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) или ацетамид для *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417), вносили

4,56; 9,12; 13,68 и 18,24 mM ацетонитрила. Определяли ОП и нитрилгидролизующую активность клеток биомассы.

Влияние растворителей на рост штаммов. Оценивали толерантность штаммов *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) к гексану, толуолу, бутанолу, ацетону, этанолу и этилацетату в соотношениях 10, 20, 50 и 80% к среде БТН. Культивировали 7 суток при 22–25°C. Рост культур оценивали по изменению ОП среды.

Исследование воздействия различных концентраций NaCl и pH реакционной среды на активность нитрилгидролизующих бактерий. *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) культивировали в 100 мл среды N с 0,5 г/л хлорида натрия (pH 7,0) в плоскодонных колбах на роторной качалке (120 об/мин, 22–25°C) в течение 10 сут. Подготовленную биомассу ресуспендировали в 1 мл среды N с 0,5 и 50 г/л NaCl (pH 7 и 10). Далее инкубировали 2 ч на качалке при 25°C и постоянном перемешивании со скоростью вращения 120 об/мин. Измеряли активность клеток биомассы.

Зависимость биопленкообразования от концентрации NaCl, температуры и pH. Бактерии выращивали в питательном бульоне БТН на 96-луночных полистирольных планшетах производства «Медполимер» (Россия) в течение 7 суток. Инокулят вносили в объеме 10 мкл, предварительно культивируя до ОП 540 = 0,5. Для оценки влияния осмотического стресса на формирование биопленки концентрацию NaCl в среде доводили до 5, 10, 50, 100, 150 и 200 г/л при pH 7,0, 30°C. Для оценки влияния температуры бактерии инкубировали при 8, 15, 30 и 37°C, за контроль принимали температуру 30°C. Кислотность среды варьировалась в диапазоне pH 6–12, среда содержала 0,5 г/л NaCl, температура культивирования 30°C.

ОП суспензии клеток регистрировали методом спектрофотометрии при длине волны 540 нм на планшетном ридере Infinite M1000 pro, «ТЕСАН» (Швейцария). Биопленкообразующую способность штаммов оценивали методом окраски кристаллическим фиолетовым. После культивирования содержимое лунок удаляли декантацией, биопленки отмывали 200 мкл калий-фосфатного буфера (pH 7,0–7,2) для удаления неадгезированных клеток, после чего окрашивали 0,1% водным раствором кристаллического фиолетового в течение 40 минут. Интенсивность образования биопленки, пропорциональную количеству связанного красителя, оценивали спектрофотометрически. Краситель экстрагировали из биопленки 200 мкл 96% этанола, измеряли ОП полученных растворов ($\lambda = 540$ нм) на планшетном ридере Infinite M1000 pro «ТЕСАН» (Швейцария).

Культивирование родококков с бутадиен-нитрильным каучуком. В качестве источника азота вносили БНК (перчатки нитриловые неопудренные нестерильные смотровые, одноразовые, цвет голубой, «Venovy», Малайзия), разрезанный на квадраты 1 x 1 см, 10 шт на 200 мл среды. *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) (0,7 мл, ОП₅₄₀=0,5) инокулировали в минеральную безазотистую среду с 1,5% сорбитом или 1% глюкозой соответственно. Выращивали в течение 14 дней при 25°C и 120 об/мин на качалке. Определяли количество акриламида, акриловой кислоты и акрилонитрила в культуральной жидкости методом ВЭЖХ. БНК предварительно обрабатывали ультрафиолетовым облучателем (модель д-01) «Солнышко» мощностью 300 ВА на расстоянии 10 см, в течение 15 мин с двух сторон и / или трижды подвергали циклам замораживания и оттаивания в течение 15 мин каждый (-20°C/+25°C). В качестве контроля использовали БНК без обработки, минеральную среду без источника азота с засевом и БНК в минеральной среде без засева.

Предварительно культивировали *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) на минеральной среде с 9,12 mM ацетонитрила в качестве азотного субстрата и источниками углерода – 1,5% сорбита и 50 mM ацетамида соответственно. После 10 сут культивирования биомассу концентрировали центрифугированием, отмывали от питательной среды фосфатным буфером (pH 7) и вносили 3,098 г и 3,427 г сырой биомассы *R. qingshengii* 5Э

(IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) в минеральную среду с 1,5% сорбитом или 1% глюкозой соответственно. БНК предварительно обрабатывали УФ и замораживанием / оттаиванием. После культивирования в течение 1 месяца БНК отмывали от среды фосфатным буфером и исследовали методом Фурье-спектроскопии, а также визуализировали биопленки методом сканирующей электронной микроскопии.

Сканирующая электронная микроскопия. Электронные микрофотографии получали при ускоряющем напряжении 20 кВ на сканирующем электронном микроскопе VEGA 3 LMH с системой рентгеновского энергодисперсионного микроанализа Oxford Instruments INCA Energy 250/X-max 20 (Tescan, Чехия). Нативные и обработанные УФ и замораживанием/оттаиванием фрагменты БНК предварительно напыляли углеродом.

Фурье-спектроскопия. Инфракрасные спектры поглощения образцов БНК регистрировали на Фурье-спектрометре VERTEX-80v ("Bruker", Германия) в диапазоне 4000–400 см⁻¹ при спектральном разрешении 4 см⁻¹. Обработку спектров проводили с помощью пакета прикладных программ OPUS.

На основании полученных Фурье-спектров БНК были рассчитаны углеводородный и карбонильный индексы, а также степени их изменения.

Углеводородный индекс (I_h) был рассчитан по формуле (1):

$$I_h = \frac{H_{CH}}{H_{CN}}, \quad (1)$$

где H_{CH} – площадь пика (3060–2716 см⁻¹) в усл. ед., H_{CN} – площадь пика (2271–2209 см⁻¹) в усл. ед.

Карбонильный индекс (I_c) рассчитывали по формуле (2):

$$I_c = \frac{H_{CO}}{H_{CN}}, \quad (2)$$

где H_{CO} – площадь пика (1807–1492 см⁻¹) в усл. ед.

Степень изменения показателей рассчитывалась по формуле (3):

$$\Delta I = \frac{I_{Smpl}}{I_{Contr}}, \quad (3)$$

где I_{Smpl} – углеводородный или карбонильный индекс БНК после воздействия, I_{Contr} – углеводородный или карбонильный индекс БНК без обработки.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного пакета Microsoft Excel 2021 и GraphPad Prism 8.0.1. Результаты были получены как минимум из трех независимых экспериментов. Были определены среднее значение, стандартное отклонение и стандартная ошибка среднего. Данные были проверены на нормальность распределения, в случае нормального распределения значимость различий анализировалась с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), $p < 0,05$, с последующим апостериорным тестом Тьюки (HSD). В случае ненормального распределения использовали критерий Краскела–Уоллиса.

Главы 3, 4 и 5 посвящены результатам исследования и их обсуждению.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Таксономическое разнообразие нитрилутилизирующих бактерий содового шламохранилища (Сыровацкая, Максимов, Максимова, 2025). Проведен микробиологический скрининг проб грунта, отобранных на территории шламонакопителя АО «Березниковский содовый завод», на наличие бактерий, обладающих способностью к гидролизу нитрилов и амидов. Ацетонитрил либо ацетамид являлись единственными источниками углерода и энергии. Пробы были отобраны с различных глубин грунта:

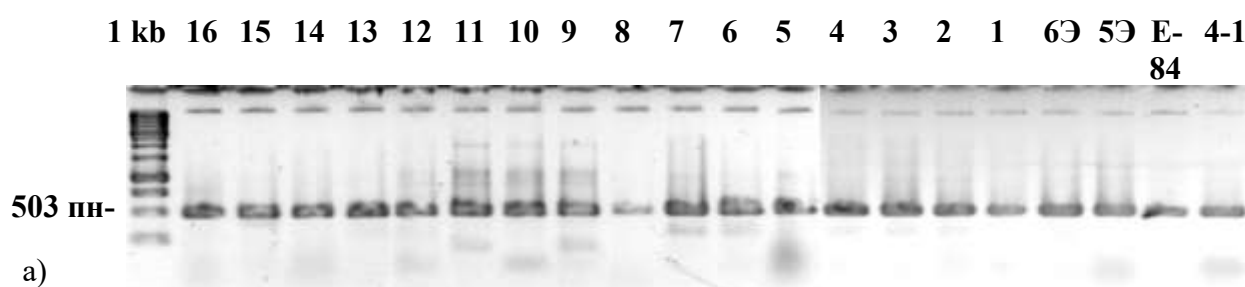
поверхности (изоляты обозначали как ССОП), глубины 5 см (ССО35) и 10 см (ССО310). Изоляты идентифицированы методом секвенирования гена 16S рРНК (Таблица 1).

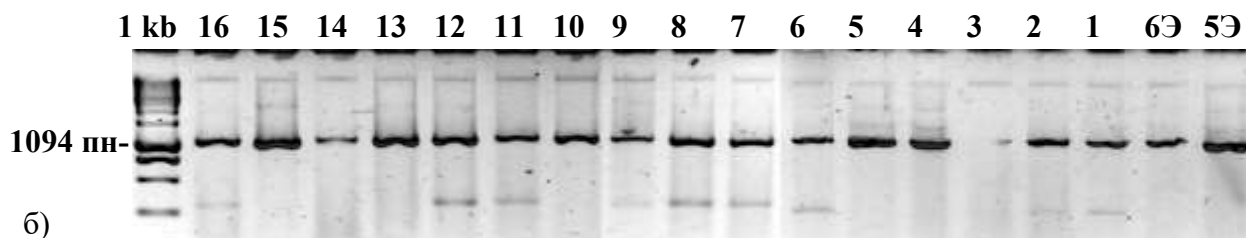
16 изолятов, выделенных преимущественно из грунта старой карты шламохранилища (рН 8), принадлежали к филумам *Actinomycetota* и *Pseudomonadota*. Содовый шлам состоял из ионов кальция, хлора, карбонатов и гидрокарбонатов и имел рН 11, что снижало микробное разнообразие по сравнению с грунтом старой карты. Из содового шлама на ацетонитриле был изолирован только один штамм галоалкалотолерантных родококков.

Таблица 1 – Идентификация нитрилгидролизующих бактерий, выделенных с территории содового шламохранилища АО "Березниковский содовый завод". В табл. выборочно отражены изоляты с наибольшими устойчивостью и способностью к формированию биопленок.

Изолят	Источник выделения	Вид	Типовой штамм	Сходство, %	Длина прочтения, нукл.
1	2	3	4	5	6
Источник углерода – ацетонитрил (ацн)/ацетамид (ацд)					
ССОЗ 3 (ацд)	Грунт, старая карта	<i>Pseudomonas mandelii</i>	NBRC 103147(T)	98,00	751
ССОЗ 1.4 (ацд)	Грунт, старая карта	<i>Rhodococcus sp.</i>	JCM 15477(T)	100	666
ССОП 1 (ацд)	Грунт, старая карта, поверхность	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	DSM 30006(T)	99,87	876
ССОП 1.2 (ацд)	Грунт, старая карта, поверхность	<i>Rhizobium nepotum</i>	39/7(T)	99,77	876
5Э (ацн)	Шлам, новая карта	<i>Rhodococcus qingshengii</i>	JCM 15477(T)	99,42	537
6Э (ацн)	Грунт, 5 см глубины, старая карта	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	NBRC 15567(T)	99,84	651

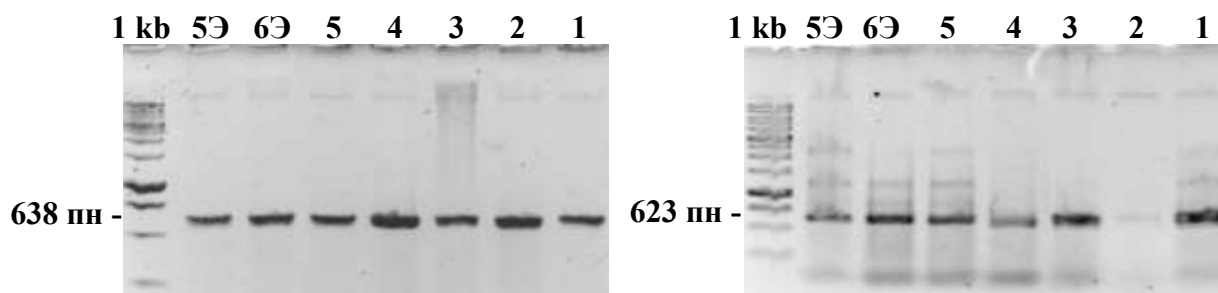
Детекция генов амидаз, нитрилгидратаз, нитрилаз у изолятов и штаммов. Известно, что у родококков встречается несколько структурно-различных групп амидаз. Из щелочного высокоминерализованного биотопа были выделены бактериальные изоляты различной таксономической принадлежности, в том числе изоляты родококков. Методом ПЦР установлено, что у всех исследуемых экстремотолерантных изолятов есть гены амидаз 1 и 2 типов (Рисунок 1), но не обнаруживается энантиоселективная амидаза. Также у обоих штаммов и изолятов обнаружены гены Fe-содержащей нитрилгидратазы (Рисунок 2, представлены 5 изолятов) и отсутствует Co-содержащая. Гены нитрилаз также не обнаружены. *R. erythropolis* E-84, *R. erythropolis* 4-1 применяли как положительный контроль.





б)

Рисунок 1 – ПЦР-продукты, соответствующие генам амидаз, гомологичных таковым по молекулярному весу амидазам 1 типа *R. erythropolis*, E12517, *R. rhodochrous* N-774, X54074 (а) и амидазам 2 типа *R. erythropolis*, M88614 (б). *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) (5Э), *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) (6Э), *R. erythropolis* E-84, *R. erythropolis* 4-1.¹



а)

б)

Рисунок 2 – ПЦР-продукты, соответствующие генам альфа (а) и бета (б) субъединиц Fe-содержащей нитрилгидратазы, гомологичных таковым по молекулярному весу из *R. rhodochrous* N-774, X54074.²

Влияние источников углерода и азота на рост и нитрилгидролизующую активность штаммов *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417). Для выявления оптимальных концентраций источников углерода в среду вносили сорбит в диапазоне от 0,1% до 1,5% для *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и ацетамид от 5 до 100 мМ для *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417). Наибольшее накопление биомассы и активность фермента наблюдали при росте бактериальных культур на минеральной среде с 1,5% сорбита (ОП₅₄₀ = 0,659; 6,9 ммоль/г/ч) и 50 мМ ацетамида (ОП₅₄₀ = 0,587; 0,2 ммоль/г/ч) (Рисунок 3).

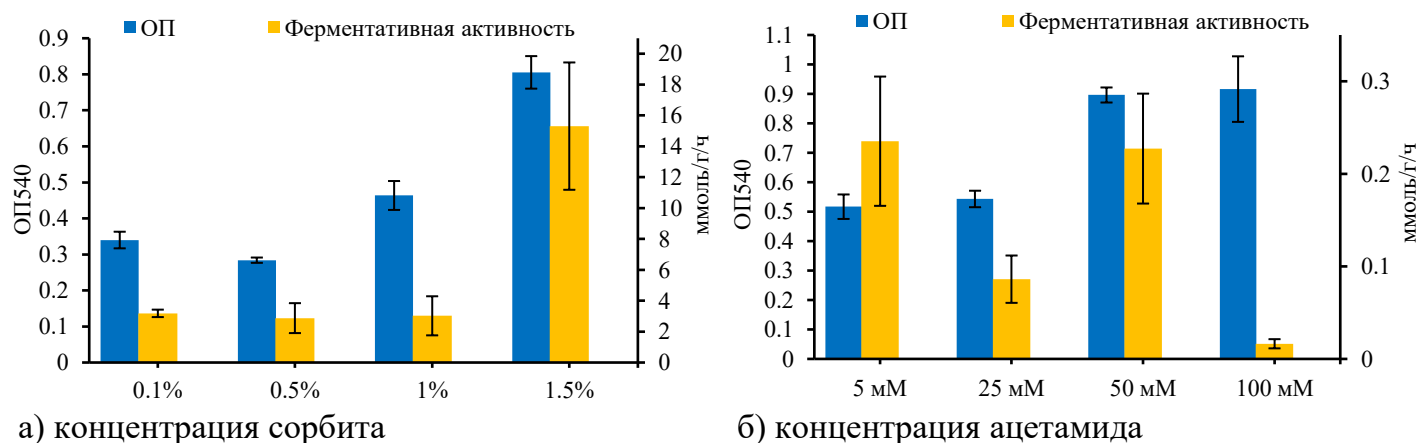


Рисунок 3 – Влияние различных концентраций источника углерода на накопление биомассы и активность нитрилгидролизующих ферментов *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) (а) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) (б), инкубация 10-14 сут.³

Концентрации ацетонитрила варьировали от 4,56 до 18,24 мМ. Ферментативная

¹ Опубликовано: Сыровацкая Г.А., Максимов А.Ю., Максимова Ю.Г., 2025, <https://doi.org/10.17072/1994-9952-2025-3-279-288>

² Опубликовано там же

³ Опубликовано: Syrovatskaya G.A., Maksimov A.Yu., Korotchenkova O.V., Maksimova Yu.G., 2026, <https://doi.org/10.1155/ijm/7513883>

активность и накопление биомассы *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) возрастали при 18,24 мМ ацетонитрила в среде до 25,4 ммоль/г/ч и ОП₅₄₀ = 0,879. У *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) при 9,12 мМ ацетонитрила – до 0,2 ммоль/г/ч и ОП₅₄₀ = 0,850.

Определен оптимальный источник азота для роста и проявления нитрилгидратазной активности *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417). Установлено, что накопление биомассы *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) было максимальным при использовании ацетонитрила в качестве единственного источника азота. Пик нитрилгидратазной активности фиксируется при культивировании в среде с нитритом натрия. Присутствие мочевины в качестве источника азота в среде ингибирует активность обоих ферментов. Следует отметить, что присутствие нитрит-ионов в среде приводит к подавлению амидазной активности штамма.

У *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) нитрилгидратазная активность превышает амидазную, достигая 20 ммоль/г/ч, тогда как у *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417), наоборот, амидазная активность значительно выше нитрилгидратазной, максимальна на нитрате и составляет 14 ммоль/г/ч. Накопление биомассы *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) не зависит от источника азота. Нитриты и нитраты приводят к равномерному проявлению активности как нитрилгидратазы, так и амидазы.

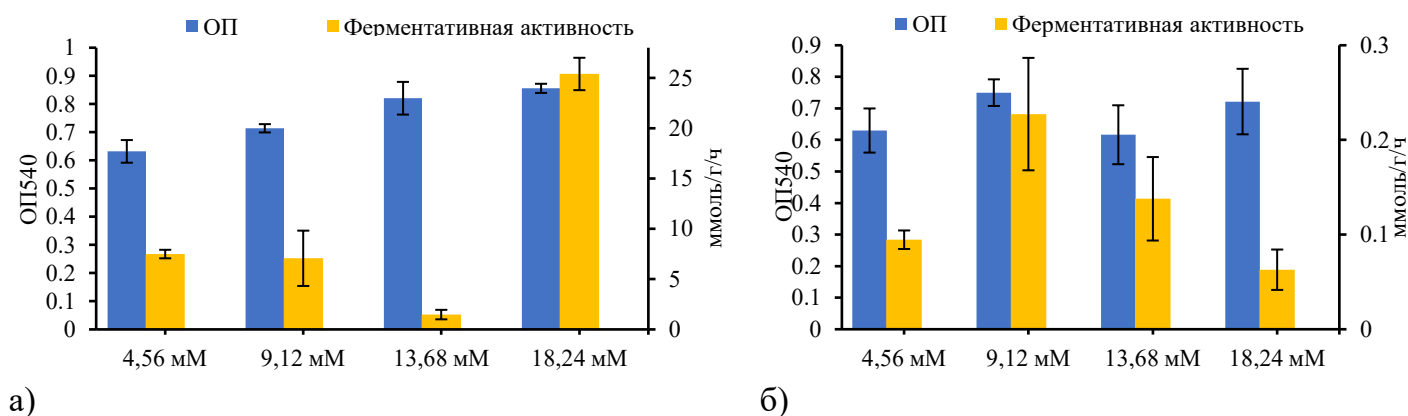


Рисунок 4 – Влияние различных концентраций источника азота (ацетонитрила) в среде на накопление биомассы и нитрилгидролизующую активность штамма *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) (а) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) (б), инкубация 10-14 сут.⁴

Ацетонитрил является селективным источником азота для бактерий, обладающих ферментами гидролиза нитрилов. Ацетонитрил индуцировал как нитрилгидратазную, так и амидазную активности, хотя они не были максимальны. В дальнейшем было изучено влияние различных концентраций ацетонитрила на накопление биомассы и проявление нитрилгидролизующей активности родококков (Рисунок 4).

Для дальнейших ростовых экспериментов и определения ферментативной активности в среду культивирования *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) в качестве источника углерода добавляли 1,5% сорбита и 50 мМ ацетамид соответственно, а в качестве источника азота 9,12 мМ ацетонитрил для обоих штаммов. Это позволило получить максимальную биомассу с выраженной ферментативной активностью.

Определена достоверность отличий в накоплении биомассы штаммов в присутствии в среде гексана и толуола от контроля (рост на среде БТН без растворителей) (Рисунок 5).

⁴ Опубликовано: Syrovatskaya G.A., Maksimov A.Yu., Korotchenkova O.V., Maksimova Yu.G., 2026, <https://doi.org/10.1155/ijm/7513883>

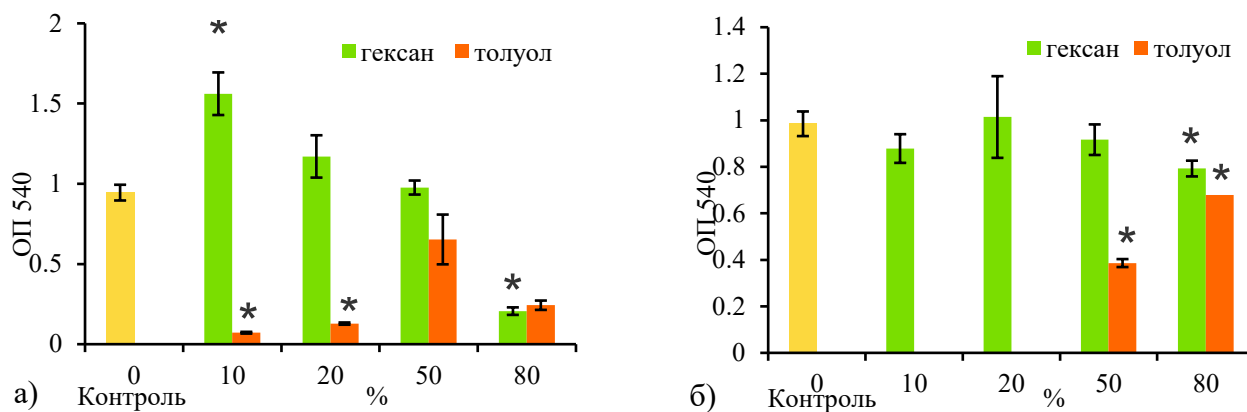


Рисунок 5 – Влияние 10-80% гексана и толуола на накопление биомассы *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) (а) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) (б), $p < 0,05$, культивирование 7 суток⁵

Гексан поддерживал накопление биомассы исследуемых бактериальных культур, при этом *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) сохранял значительную ростовую активность даже при 80% этого растворителя в питательной среде. Статистически значимыми были отличия роста *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) на 10%-ном (увеличение, $p < 0,05$) и 80%-ном (уменьшение, $p < 0,05$) гексане. Рост *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) на среде с гексаном не отличался от контроля, и только в среде с 80% гексана достоверно снижался на 20%. Штаммы росли в присутствии высоких концентраций толуола. Предположительно, это связано с фазовым разделением среды на гидрофобный и гидрофильный компоненты при повышенных концентрациях толуола, что снижало непосредственный контакт клеток с токсичным агентом.

Экстремально высокая устойчивость к нитрилам у штаммов, впервые выделенных из сред содового шламохранилища, вероятно, связана с сочетанием галотолерантности со способностью к гидролизу нитрилов. Так, в работе А.В. Максимовой (Максимова, 2016) было показано, что минимальная ингибирующая концентрация (МИК) акрилонитрила для продуцента нитрилгидратазы *R. ruber* gt1 составляет 0,06 М, тогда как ацето- и акрилонитрил в насыщающей концентрации (до 1,5 М) не приводили к ингибированию роста изученных нами штаммов.

Влияние pH и минерализации реакционной среды на нитрилгидролизующую активность *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417). Показано, что *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) проявлял наибольшую активность при pH 10 (Рисунок 6).

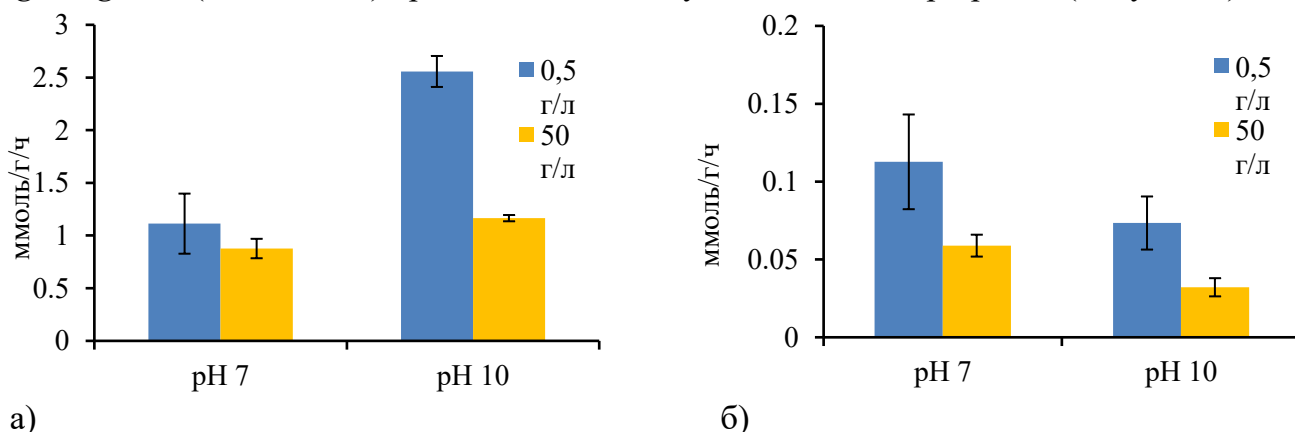


Рисунок 6 – Нитрилгидролизующая активность штамма *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) (а) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) (б) в реакционной среде при различных соотношениях pH и NaCl

Нитрилгидролизующая активность *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) при pH 7 и

⁵ Опубликовано: Maksimova Yu.G., Syrovatskaya G.A., Maksimov A.Yu., 2026, <https://doi.org/10.1007/s12088-024-01445-w>

концентрациях NaCl 0,5 и 50 г/л составила 1,1 и 0,9 ммоль/г/ч соответственно, тогда как в среде с pH 10 активность достигала 2,6 и 1,2 ммоль/г/ч соответственно.

Активность *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) при pH 10 ниже, чем при pH 7 (Рисунок 6, б). Нитрилгидролизующая активность *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) при pH 7 составила 0,1 и 0,06 ммоль/г/ч в реакционной среде с содержанием NaCl 0,5 и 50 г/л соответственно.

Воздействие pH, NaCl и температуры на формирование биопленок *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) (Maksimova, Syrovatskaya, Maksimov, 2026). Известно, что формирование биопленки у микроорганизмов является естественной стратегией существования в природе и усиливается в ответ на неблагоприятные условия среды, что дает основание считать его адаптивной реакцией. Исследовано биопленкообразование штаммов в условиях повышенной концентрации соли (5-200 г/л NaCl) и различной щелочности среды (pH 7-12). Способность формировать биопленки оценивали по отношению ОП экстрагированного кристаллического фиолетового (отражающего биомассу) к ОП суспензии клеток.

Установлено, что при концентрации NaCl выше 50 г/л в среде рост планктонной биомассы *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) снижается. Повышение концентрации NaCl в среде индуцировало переход клеток к росту в виде биопленок. Для штамма *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) достоверное увеличение индекса биопленкообразования наблюдается в широком диапазоне концентраций солей, вызывающих осмотический стресс – от 50 до 200 г/л NaCl ($p < 0,05$) с максимумом при 200 г/л.

У штамма *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) адаптивный ответ на засоление носит характер выраженного скачка: экстремально высокий подъем интенсивности формирования биопленок регистрируется при 10 г/л (возрастание более чем в 15 раз относительно контроля) и 50 г/л NaCl ($p < 0,05$). При дальнейшем увеличении минерализации среды (100–200 г/л) показатели биопленкообразования у штамма 6Э снижаются, но отличия от контроля остаются статистически значимыми, тогда как планктонный рост значительно угнетается. Повышенное биопленкообразование у *R. erythropolis* 6Э при умеренном солевом стрессе (10–50 г/л) отражает его стратегию адаптации к условиям биотопа старой карты содового шламохранилища.

Соотношение биомассы биопленки к планктонной форме в щелочной среде также возрастало, достигая у *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) пика при pH 12 и 10 соответственно. Оба штамма усиленно формировали биопленки в ответ на воздействие этих стрессовых факторов (Рисунок 7).

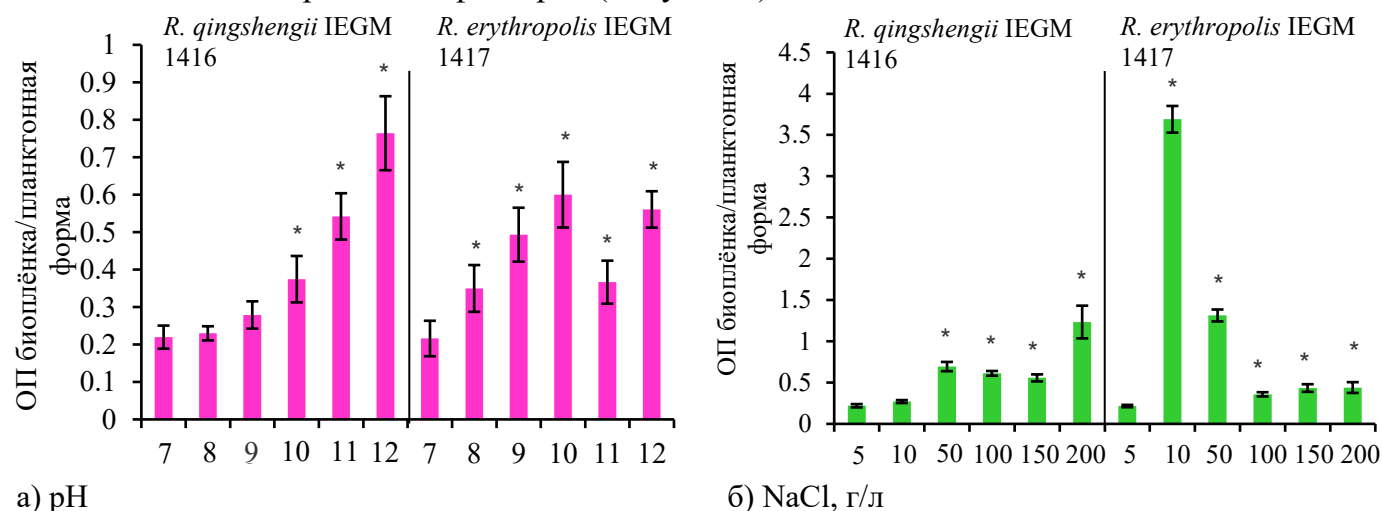


Рисунок 7 – Влияние pH и NaCl среды на формирование биопленок у *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417), * $p < 0,05$, инкубация 7 суток⁶

Температура 37°C ингибирует накопление биомассы биопленки, в то время как биомасса

⁶ Опубликовано Maksimova Yu.G., Syrovatskaya G.A., Maksimov A.Yu., 2026, <https://doi.org/10.1007/s12088-024-01445-w>

планктонных клеток значительно превышает таковую при 30°C (Рисунок 8).

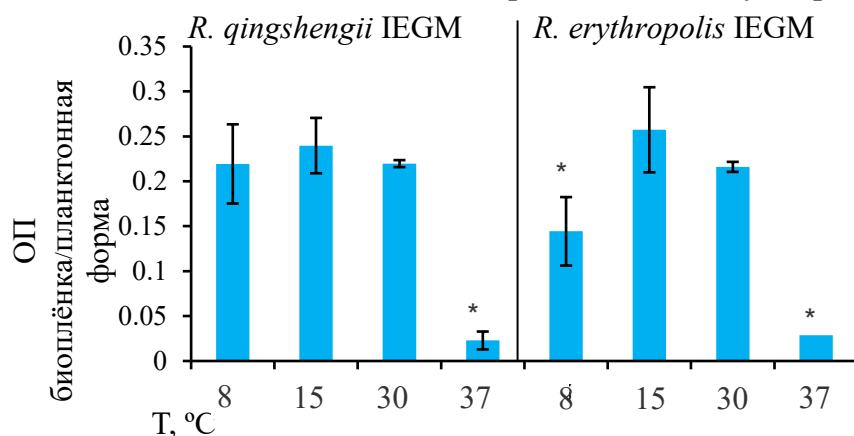


Рисунок 8 – Влияние температуры на формирование биопленок у *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417), * $p < 0,05$, инкубация 7 суток⁷

ОП экстрагированного красителя, отражающая накопление биомассы биопленки, у обоих штаммов при 37°C не превышала 0,027. Также наблюдается некоторое снижение образования биопленки у *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) при 8°C. Усиленное образование биопленок наблюдается в неблагоприятных, но не летальных условиях. Данные штаммы являются галоалкалотолерантными, но не алкалофилами или галофилами, поэтому высокие показатели pH и минерализации являются для них стрессовыми условиями.

Рост *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) на среде с бутadiен-нитрильным каучуком как единственным источником азота (Syrovatskaya, Maksimov, Korotchenkova, Maksimova, 2026). *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) были выращены на среде с 1,5% сорбитом, либо 1% глюкозой соответственно, и фрагментами (1×1 см) БНК в качестве единственного источника азота (10 шт на 200 мл среды). Определили количество КОЕ/мл в культуральной жидкости после роста *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) с БНК в течение 2 недель. Определено, что после роста штаммов родококков на безазотистой минеральной среде с БНК, предварительно обработанным УФ и замораживанием-оттаиванием, количество КОЕ/мл в культуральной жидкости достоверно превышало ($p < 0,05$) таковое после инкубации бактерий в среде без источника азота. Биопленка *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417), выращенная в течение месяца на БНК, обработанном УФ и замораживанием-оттаиванием, содержала $(7,28 \pm 0,48) \times 10^6$ и $(6,27 \pm 0,72) \times 10^6$ КОЕ/см² соответственно.

Сканирующая электронная микроскопия биопленок родококков на поверхности бутadiен-нитрильного каучука. Получены микрофотографии биопленок *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) на поверхности фрагментов БНК (Рисунок 9). Нативные фрагменты БНК неоднородны и имеют шероховатую (Рисунок 9 а) и гладкую пористую (Рисунок 9 б) поверхности, что приводит к неравномерному формированию биопленки, более выраженной на шероховатой поверхности. Однако различий между поверхностями БНК при обработке только УФ, совместно с замораживанием-оттаиванием или после инкубации предварительно обработанного полимера в стерильной минеральной среде не наблюдалось.

Массивная биопленка сформировалась на БНК через месяц культивирования при внесении большого объема биомассы. В структуре биопленок *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) были четко видны очертания вытянутых клеток (Рисунок 9 в, г).

⁷ Опубликовано: Maksimova Yu.G., Syrovatskaya G.A., Maksimov A.Yu., 2026, <https://doi.org/10.1007/s12088-024-01445-w>

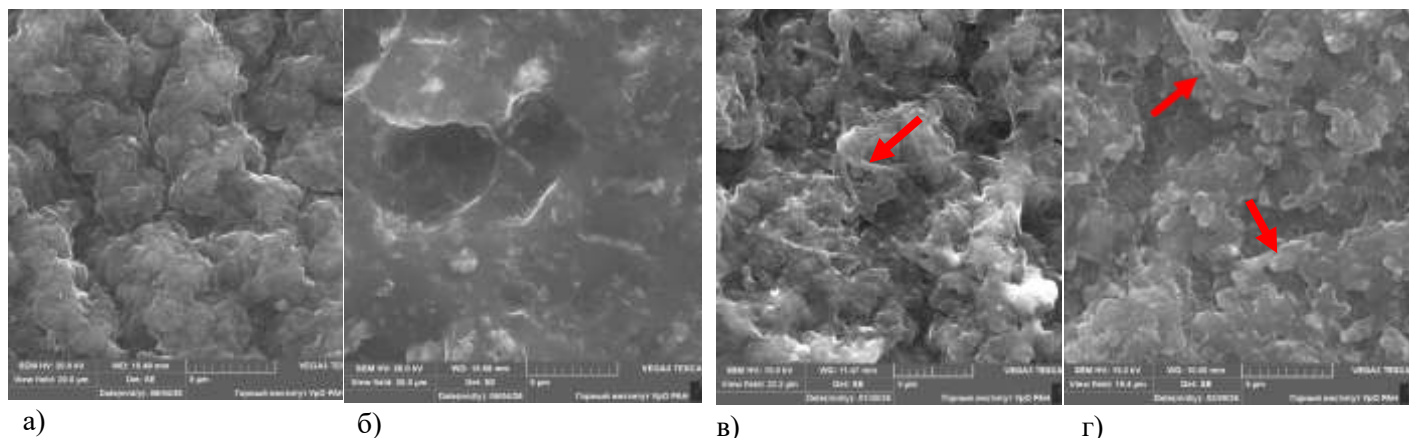


Рисунок 9 – Сканирующая электронная микроскопия: полимер, обработанный УФ и замораживанием-оттаиванием, после инкубации в стерильной минеральной среде, шероховатая (а) и гладкая (б) сторона; биопленки *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) (в) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) (г) выращенные в течение месяца на полимере как единственном источнике азота.⁸

Биопленка представляла собой слизистый матрикс с палочковидными клетками, погруженными вглубь экзополимерного вещества. Внеклеточный матрикс с менее выраженными контурами клеток наблюдался после двух недель роста на БНК; в некоторых случаях на поверхности вне слизистого матрикса присутствовали палочковидные клетки.

Оценка изменений структуры бутадиен-нитрильного каучука при культивировании родококков методом Фурье-спектроскопии. ATR-FTIR спектры были получены для необработанного БНК, после УФ-облучения и замораживания-оттаивания, инкубации предварительно обработанного УФ и подвергнутого замораживанию-оттаиванию БНК в стерильной минеральной среде, а также после роста *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) в течение 1 месяца на БНК, предварительно обработанном УФ и замораживанием-оттаиванием, без дополнительного источника азота.

Полученные ATR-FTIR спектры типичны для БНК (Kawashima, Ogawa, 2005; Chakraborty *et al.*, 2007). Все образцы демонстрировали стабильный пик, характерный для нитрильной группы (2237 см^{-1}), и интенсивный пик при 966 см^{-1} , типичный для деформационных колебаний транс-связей $\text{C}=\text{C}$, указывающих на бутадиеновые звенья.

Известно, что старение полимера вызывает поверхностные изменения (например, трещины и шероховатость) и изменения в ATR-FTIR спектрах (Campanale *et al.*, 2023). Сравнение пиков показывает, что обработанные образцы, в отличие от исходного материала, демонстрируют уменьшение содержания гидроксильных/аминогрупп, исчезновение широкого плато при 3422 см^{-1} и перераспределение в карбонильной области ($1730\text{--}1770\text{ см}^{-1}$), что часто сопровождается старением или химическую модификацию полимеров. Низкая интенсивность спектра и изменения в области $1730\text{--}1770\text{ см}^{-1}$ подтверждают окисление под воздействием УФ-света. Различная интенсивность (0,10 против 0,35) пиков для двух сторон БНК после инкубации со штаммами *Rhodococcus* указывает на различия поверхности, которые могут быть связаны с разной степенью шероховатости, что, во-первых, приводит к неодинаковой плотности контакта с кристаллом прибора, а во-вторых – к неравномерному накоплению биопленки. Наблюдается изменение в карбонильной области ($1700\text{--}1800\text{ см}^{-1}$) УФ-облученных образцов, а именно появление пиков при 1769 и 1729 см^{-1} , что указывает на образование новых кислородсодержащих групп (кетонов, альдегидов или сложных эфиров) в результате разрыва полимерных цепей и присоединения кислорода под действием света. Амплитуда сигнала

⁸ Опубликовано: Syrovatskaya G.A., Maksimov A.Yu., Korotchenkova O.V., Maksimova Yu.G., 2026, <https://doi.org/10.1155/ijm/7513883>

уменьшается, что является характерным признаком фотостарения. Однако нитрильные пики сохраняются, так как акрилонитрильные звенья сополимера более устойчивы к УФ-воздействию, чем бутадиеновые области или лабильные примеси.

Пики в ATR-FTIR спектрах в диапазоне $1630\text{--}1690\text{ см}^{-1}$ и $1530\text{--}1560\text{ см}^{-1}$ указывают на присутствие амидных групп – Амид I и Амид II соответственно (Ji *et al.*, 2020; Threlfall, 2022). Появление новых пиков в области $1548\text{--}1667\text{ см}^{-1}$, характерных для амидных групп, в спектрах образцов после бактериальной обработки подтверждает превращение нитрилов в амиды, катализируемое нитрилгидратазами. На гладкой стороне полимера наблюдается пик (0,050) при 1667 см^{-1} , подтверждающий превращение нитрильной $\text{C}\equiv\text{N}$ группы в амидную ($-\text{CONH}_2$). Пик при 1608 см^{-1} может указывать на образование двойных связей, сопряженных с карбонилами, или на накопление промежуточных продуктов окисления. Разница в наборе пиков и их интенсивности между сторонами подтверждает, что бактериальный рост происходил неравномерно. Окислительное старение подтверждается появлением карбонильных групп (1729 см^{-1}) и амидных групп ($1667, 1548\text{--}1551\text{ см}^{-1}$) по отношению к неизменным группам, таким как нитрильные (2237 см^{-1}) или алифатические C-H ($2919\text{--}2924\text{ см}^{-1}$).

Было установлено, что амидные группы не образуются после УФ-облучения, замораживания-оттаивания и инкубации обработанного полимера в стерильной минеральной среде. Рост штаммов *Rhodococcus* приводит к накоплению амидных соединений, что указывает на изменения в полимерной цепи под влиянием микробных ферментов.

Наблюдаются значительные изменения площадей пиков, соответствующих различным химическим группам. Площадь пика при $2919\text{--}2850\text{ см}^{-1}$, соответствующая углеводородным группам, уменьшается после УФ-обработки (с 17,944 до 13,131 усл. ед.) и значительно уменьшается в образцах БНК после их инкубации с бактериями обоих штаммов (до 6,627 усл. ед.) по сравнению с исходным образцом. Более того, инкубация полимера, предварительно обработанного УФ и замораживанием-оттаиванием в стерильной минеральной среде, приводит к уменьшению интегральных площадей пиков (до 8,384 усл. ед.), но остается выше, чем у БНК после бактериального роста. Это может указывать на модификацию углеводородной основы каучука под влиянием УФ-излучения, инкубации в стерильной минеральной среде, и особенно после воздействия штаммов *Rhodococcus*. Площадь пика при 2237 см^{-1} , соответствующая нитрильной группе, уменьшается после УФ-обработки (с 0,645 до 0,567 усл. ед.), после обработки и инкубации в стерильной минеральной среде (до 0,442 усл. ед.) и после бактериального роста на шероховатой стороне (до 0,379 усл. ед.), что указывает на химические изменения или деградацию нитрильных групп в структуре полимера. Площадь пика в области $1807\text{--}1492\text{ см}^{-1}$ незначительно уменьшается после УФ-воздействия и инкубации в стерильной минеральной среде (с 6,931 до 6,662 усл. ед.), а также уменьшается после бактериального роста на шероховатой стороне (до 5,892 усл. ед.). Появление или усиление пиков в этой области (около 1700 см^{-1}) часто связано с образованием карбонильных групп C=O в результате окисления или других реакций деградации, что характерно для процессов старения полимеров под внешним воздействием. Изменения, наблюдаемые в области низкочастотной, высокоинформативной области спектра (ниже 1500 см^{-1}), указывают на химические превращения пластификаторов, присутствующих в исходном образце (пики при 1182, 1127, 1092, 1047 см^{-1}).

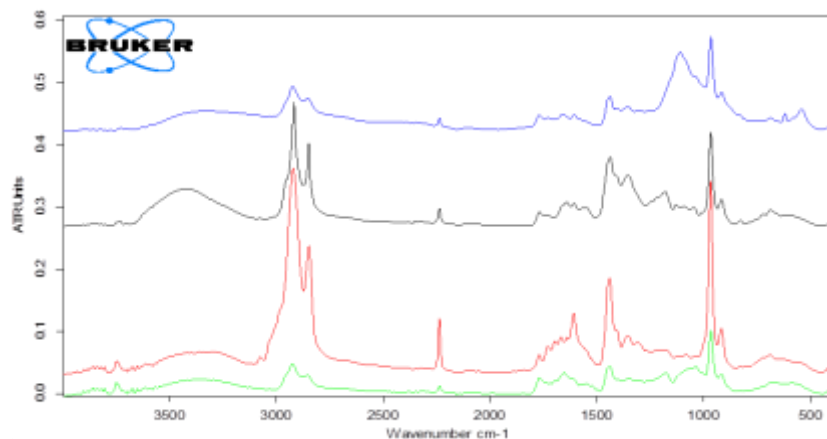


Рисунок 8 – объединенные ИК-спектры БНК (ATR-FTIR): черная линия – необработанный БНК; синяя линия – БНК после УФ-обработки и замораживания-оттаивания; зеленая и красная линии – БНК после роста *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) на шероховатой и гладкой сторонах соответственно.⁹

Были рассчитаны углеводородный индекс, отражающий общую долю углеводородного скелета (как насыщенного, так и частично ненасыщенного) по отношению к полярным звеньям акрилонитрила, и карбонильный индекс, указывающий на степень окисления углеводородного скелета (Таблица 2).

Таблица 2 – Углеводородный и карбонильный индексы БНК

Образцы		Углеводородный индекс (I_h) / ΔI	Карбонильный индекс (I_c) / ΔI
БНК без инкубации в минеральной среде	Без воздействий	27,82 / 1	10,75 / 1
	После обработки УФ, циклов замораживания-оттаивания	23,16 / 0,83	9,50 / 0,88
БНК после обработки УФ, циклов замораживания-оттаивания и инкубации в минеральной среде	Стерильные	18,97 / 0,68	15,07 / 1,40
	После инкубации с бактериями	17,49 / 0,63	15,55 / 1,45

Было обнаружено, что углеводородный индекс БНК последовательно уменьшается после УФ-облучения, инкубации в стерильной среде и в присутствии бактерий, тогда как карбонильный индекс увеличивается как после инкубации в стерильной среде, так и при культивировании *Rhodococcus*.

Деградация БНК микроорганизмами – это сложный многостадийный процесс, затрагивающий как основную цепь полимера, так и функциональные группы. Ключевые изменения в полимере протекают по нескольким путям: во-первых, микробные оксигеназы и пероксидазы атакуют двойные связи бутадиеновых звеньев (пики при 966–967 cm^{-1}), что приводит к разрыву цепи и образованию более коротких фрагментов. В местах разрыва появляются новые кислородсодержащие группы (альдегиды, кетоны и карбоновые кислоты), что объясняет изменения в области 1600–1750 cm^{-1} . На основе расчетов углеводородного и карбонильного индексов можно заключить, что углеводородные цепи подвергаются частичной деградации под влиянием УФ и бактериальных ферментов. Их количество уменьшается, тогда как карбонильный индекс увеличивается, что указывает на окисление углеводородов. Значительное уменьшение высоты нитрильного пика (2237 cm^{-1}) на шероховатой стороне БНК при воздействии бактерий, сопровождающееся незначительным уменьшением высоты пика бутадиеновых звеньев (966–967 cm^{-1}), указывает на то, что бактерии преимущественно

используют нитрильные группы. Это соответствует тому факту, что штаммы *Rhodococcus* росли в присутствии источника углерода, но с БНК в качестве единственного источника азота, что исключало необходимость использования углеродной основной цепи полимера в качестве субстрата для роста.

Гидролиз нитрильных групп происходит с помощью нитрилаз или нитрилгидратаз: нитрилы превращаются в карбоновые кислоты нитрилазами или в амиды нитрилгидратазами, причем последние далее гидролизуются в карбоновые кислоты амидазами. Появление новых пиков в области $1548\text{--}1667\text{ см}^{-1}$, характерных для амидных групп, подтверждает этот процесс. Ранее мы подтвердили, что *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) содержат гены, кодирующие железосодержащие нитрилгидратазы и амидазы (Сыровацкая и др., 2025), и проявляют нитрилгидратазную активность даже в щелочных средах (Maksimova *et al.*, 2025). Интенсивные пики при 1667 и 1551 см^{-1} в ATR-FTIR-спектрах БНК свидетельствуют о биохимической деградации при росте нитрилутилизирующих родококков; они не фиксируются при УФ-обработке либо последующей инкубации в стерильной минеральной среде. Ограничением исследования выступает короткий период наблюдения (2 недели – 1 месяц), недостаточный для полной оценки деградации БНК. Начальные изменения поверхности БНК обусловлены совокупностью физических факторов (УФ, замораживание-оттаивание, инкубация в минеральной среде) и биологических процессов (формирование биопленки нитрилутилизирующих бактерий).

Микроорганизмы часто инициируют деградацию не самого полимера, а низкомолекулярных добавок (пластификаторов и антиоксидантов), которые легче усваиваются. Изменения в области ниже 1500 см^{-1} указывают на химические изменения пластификаторов, присутствующих в исходном образце. Деградация пластика в природных условиях сложна и включает комбинацию фотодеградации и биodeградации; степень фотодеградации, которая предшествует биodeградации, значительно зависит от типов используемых добавок (Niu *et al.*, 2025). БНК, основной компонент нитрильных перчаток, может содержать остаточные ускорители вулканизации, антиоксиданты или родственные вещества, способные высвобождать следовые количества азота. После УФ-облучения, циклов замораживания-оттаивания и длительной инкубации БНК в стерильной среде содержание ионов аммония составляло 2 мг/л . Хотя этого недостаточно для поддержания устойчивого бактериального роста в качестве единственного источника азота, это следовое количество ионов аммония может способствовать начальной пролиферации бактерий и усиливать на ранней стадии формирование биопленки на БНК.

Экзополисахаридный матрикс биопленки обеспечивает адгезию клеток, инициирует биокоррозию и служит защитным резервуаром для внеклеточных веществ. Удержание в этой структуре стабильных внутриклеточных ферментов (включая нитрилгидролизующие ферменты, высвобождаемые при лизисе клеток) фактически превращает матрикс во внешнюю метаболическую систему (Flemming *et al.*, 2023).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из экстремально щелочного (pH 8-11) и высокоминерализованного биотопа содового шламохранилища выделен ряд изолятов нитрил- и амидгидролизующих бактерий, демонстрирующих определенное таксономическое разнообразие. Изоляты принадлежат к филумам *Actinomycetota* (рода *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Microbacterium*) и *Pseudomonadota* (рода *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Ensifer*, *Acinetobacter*). Наибольшее разнообразие обнаружено в слабощелочном грунте (pH 8) старой карты шламонакопителя, где идет процесс восстановления экосистемы. Из крайне агрессивной среды содового шлама (pH 11) выделен лишь один штамм галоалкалотолерантных нитрилутилизирующих родококков (*R. qingshengii*),

что указывает на его исключительную способность к адаптации в щелочной среде, бедной органическим субстратом.

Все выделенные изоляты обладают нитрилгидратазной и амидазной активностью, причем у большинства изолятов амидазная активность превышает нитрилгидратазную, что может быть связано с отсутствием достаточной концентрации биогенных нитрильных соединений в таком биотопе. Подтверждена работа двухступенчатой нитрилгидратазно-амидазной системы: при трансформации акрилонитрила в среде обнаруживаются как промежуточный продукт (акриламид), образующийся при гидролизе нитрила ферментом нитрилгидратазой, так и конечный (акриловая кислота), который накапливается при трансформации амида в карбоновую кислоту амидазой.

Молекулярно-генетический анализ показал консервативность и специфичность генетического аппарата гидролиза нитрилов у исследованных экстремотолерантных штаммов. У всех изученных бактерий обнаружены гены, кодирующие амидазы 1 и 2 типа, а также Fe-содержащую нитрилгидратазу. Гены Co-содержащей нитрилгидратазы, нитрилаз и энантиоселективной амидазы отсутствуют, что определяет возможный путь катализа и субстратную специфичность.

Установлены оптимальные концентрации источников углерода (сорбит, ацетамид) и азота (ацетонитрил) для накопления биомассы и максимальной ферментативной активности *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417), причем эти оптимумы являются штаммоспецифичными. Для *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) оптимальная концентрация источников углерода и азота в среде составляет 1,5% сорбита и 18,24 мМ ацетонитрила, для *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) – 50 мМ ацетамида и 9,12 мМ ацетонитрила. Это свидетельствует о разных метаболических стратегиях адаптации к конкретным условиям среды.

Штаммы проявляют исключительную толерантность к алифатическим нитрилам (ацетонитрилу и акрилонитрилу) в концентрациях, соответствующих пределу их растворимости (1,5 М), что, вероятно, является следствием их галоалкалотолерантности и перекрестной устойчивости. Из других растворителей рост поддерживал только гексан (до 80%). Толуол не оказывал значительного ингибирующего действия, вероятно, из-за фазового расслоения, ограничивающего контакт клеток с растворителем. Бутанол, ацетон, этанол и этилацетат сильно ингибировали рост во всем диапазоне концентраций (10-80%).

Комплексное исследование подтвердило статус штаммов как галоалкалотолерантных и выявило, что образование биопленки является для них центральной адаптивной реакцией на стрессовые условия. Оба штамма способны расти в широком диапазоне pH (6-12) и с солью в умеренных концентрациях (до 10 г/л NaCl). *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) проявил бóльшую галотолерантность при pH 6 (рост при 50 г/л NaCl). Повышение солёности (10-50 г/л NaCl) и щелочности (pH 10-12) среды достоверно усиливало образование биопленки у обоих штаммов, при этом соотношение биопленка/планктонная биомасса значительно увеличивалось. В целом, щелочные условия (pH 8-11) и пониженные температуры (8-15°C) стимулировали биопленкообразование, в то время как высокая температура (37°C) и экстремальная солёность (50 г/л) подавляли его у большинства изолятов. *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) были более устойчивы к повышенной концентрации соли и формировали биопленки даже при 200 г/л NaCl в среде. Выявленные стратегии (активное формирование биопленок в ответ на стресс) напрямую коррелируют с условиями местообитания штаммов и изолятов и являются механизмом выживания в нестабильной и агрессивной среде шламохранилища.

Процессы биокоррозии и биодеструкции полимеров связаны со способностью микроорганизмов формировать биопленки (Журина, 2020). Усиленный рост микроорганизмов происходит в тех местах, где уже имеются повреждения, вызванные воздействием абиотических факторов окружающей среды (Плакунов и др., 2020). Биообрастание является первым этапом деградации материала. Рост бактериальных колоний на поверхности создает микронапряжения, которые способствуют образованию микротрещин, что облегчает доступ

кислорода и ферментов вглубь материала, ускоряя химическую деградацию. БНК является материалом, содержащим в своем составе бутадиеновые и акрилонитриловые звенья, поэтому для биodeградации этого полимера требуется способность микроорганизмов к деструкции как бутадиеновой составляющей (углеводородный остов), так и акрилонитриловых звеньев.

Среди бактерий, разлагающих каучук, чаще встречаются бактерии, содержащие миколовые кислоты в клеточной стенке (*Gordonia*, *Nocardia*, *Mycobacterium*). Процесс биоразложения ограничен поверхностью резины из-за ее структурной сложности и нерастворимости в воде (Chittella *et al.*, 2021). Одним из важных препятствий к микробной деградации пластиков является их гидрофобность, затрудняющая контакт клеток с поверхностью пластика. Образование поверхностно-активных веществ бактериями является ключевым фактором при бактериальном разложении, поскольку секреция молекул биосурфактанта снижает поверхностное натяжение и облегчает прикрепление бактерий к поверхности (Котова и др., 2021). Актинобактерии рода *Rhodococcus* способны разлагать различные ксенобиотики, синтезируют широкий спектр разрушающих ферментов, таких как дегидрогеназы, пероксидазы, оксигеназы, алкилсульфатазы, и фенолгидролазы, а также производят гликолипидные биосурфактанты (Krivoruchko *et al.*, 2019).

Процесс разрушения БНК под воздействием микроорганизмов является сложным многостадийным процессом, затрагивающим как основную полимерную цепь, так и функциональные группы (Tauber *et al.*, 2020). Ключевые изменения в полимере происходят в нескольких направлениях: оксигеназы и пероксидазы микроорганизмов атакуют двойные связи бутадиеновых звеньев (пик 966–967 см^{-1} спектра), в результате происходит разрыв цепи с образованием более коротких фрагментов, а на месте разрывов появляются новые кислородсодержащие группы (альдегиды, кетоны и карбоновые кислоты), что объясняет изменения в области 1600–1750 см^{-1} . Гидролиз нитрильных групп протекает при участии ферментов нитрилаз или нитрилгидратаз: нитрилы трансформируются до карбоновых кислот нитрилазами, либо нитрилгидратазами до амидов. Затем амидаза гидролизует амиды до карбоновых кислот. Появление новых пиков в области 1548–1667 см^{-1} , соответствующих амидным группам, подтверждает протекание этого процесса. Интенсивные пики 1667 и 1551 см^{-1} , появляющиеся в Фурье-спектре БНК после культивирования нитрилутилизующих родококков, являются доказательством биохимической деградации, которая не наблюдается при обработке одним только УФ или после инкубации обработанного полимера в стерильной питательной среде. Процесс деградации пластмасс в природных условиях достаточно сложен и является результатом одновременного воздействия физических факторов и биodeградации. Фотодеградация, как правило, предшествует биodeградации и может существенно зависеть от различных типов добавок, присутствующих в полимерах (Niu *et al.*, 2025).

Установлено, что галоалкалотолерантные *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) способны образовывать биопленки на БНК в отсутствие дополнительного источника азота. *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) изменяет структуру полимера при выращивании с БНК в качестве единственного источника азота. Для повышения эффективности этого процесса необходима предварительная обработка БНК УФ-излучением и замораживанием-оттаиванием. Окислительное старение материала наблюдалось как после УФ-облучения, так и после бактериального роста. Биопленкообразование было подтверждено как сканирующей электронной микроскопией, так и прямым подсчетом КОЕ. Ферменты галоалкалотолерантных нитрил-утилизующих родококков индуцируют химические изменения в БНК, соответствующие начальным стадиям окисления основной цепи и трансформации нитрильных групп.

Перспективой дальнейшей разработки темы является более детальное и долговременное изучение изменений, происходящих в БНК под воздействием галоалкалотолерантных нитрилутилизующих родококков, а также разработка технологии процесса утилизации акриловых полимеров с помощью отдельных штаммов и микробных сообществ (полимикробных биопленок).

ВЫВОДЫ

1. Из грунтов и осадков содового шламохранилища АО «Березниковский содовый завод» на минеральной среде с ацетамидом или ацетонитрилом в качестве единственных источников углерода выделено соответственно 6 и 10 изолятов амид- и нитрилутилизирующих бактерий, 6 из которых относятся к филуму *Actinomycetota*, 10 – к филуму *Pseudomonadota*. Из содового шлама с экстремально высоким pH (11) и минерализацией (98,2 г/л) выделен единственный нитрилутилизирующий изолят, идентифицированный как *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416), обладающий нитрилгидратазной активностью.

2. Показано, что геном всех исследуемых экстремотолерантных изолятов содержал гены неэнантиоселективных амидаз 1 и 2 типов, а также Fe-содержащей нитрилгидратазы. Гены Co-содержащей нитрилгидратазы и нитрилазы отсутствовали. *Rhodococcus qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *Rhodococcus erythropolis* 6Э (IEGM 1417) проявляли нитрилгидролизующую активность в щелочной среде. Активность *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) в реакционной среде с pH 10 была выше в 2,36 раз по сравнению с pH 7 и достигала 2,6 ммоль/г/ч. Активность *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) при pH 10 и 50 г/л NaCl в 37,5 раза превышала таковую у *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417). Амидазная активность большинства изолятов значительно (до 10 раз) превышает нитрилгидратазную.

3. Определено, что *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) проявляет максимальную амидазную активность (2,8 ммоль/г/ч) и накапливает наибольшую биомассу (ОП540 = 0,805) при росте на жидкой минеральной среде с 1,5% сорбита. Для *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) максимальный выход биомассы (ОП540 = 0,916) и наибольшая активность (7,5 ммоль/г/ч) зафиксированы при 100 и 50 мМ ацетамида в среде соответственно. Оба штамма проявляют исключительную толерантность к высоким концентрациям нитрилов (до 1,5 М) и органических растворителей (гексан, толуол).

4. Установлено, что все выделенные изоляты способны к формированию биопленок. Щелочная среда (pH 12) достоверно увеличивает соотношение биомасс биопленки и планктонных клеток, особенно у *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416). Формирование биопленок было более интенсивным при понижении температуры до 8-15°C. Повышение минерализации среды до 10 и 50 г/л NaCl стимулирует биопленкообразование *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417).

5. Выявлено, что *R. qingshengii* 5Э (IEGM 1416) и *R. erythropolis* 6Э (IEGM 1417) способны к биопленочному росту на поверхности БНК и в планктонной форме в среде с БНК без дополнительных источников азота. Поверхностная модификация БНК после инкубации с родококками сопровождается появлением амидных групп в его структуре. Окислительное старение материала, доказанное изменением углеводородного индекса с 27,82 до 17,49 и карбонильного индекса с 10,75 до 15,55, возрастает в ряду: БНК без обработки → БНК после УФ-облучения → БНК после УФ-облучения и инкубации в стерильной минеральной среде → БНК после УФ-облучения и инкубирования с бактериями.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в журналах Перечня ВАК РФ и международных цитатно-аналитических баз:

1. Maksimova Yu.G., Syrovatskaya G.A., Maksimov A.Yu. Nitrile-hydrolyzing haloalkalitolerant *Rhodococci* of soda sludge storage // Indian Journal of Microbiology. 2026. V. 66, № 1. P. 141–149. (WoS, SCOPUS Q3, IF 2,2, Белый список, уровень 2)

2. Syrovatskaya G.A., Maksimov A.Yu., Korotchenkova O.V., Maksimova Yu.G. Haloalkalitolerant nitrile-utilizing *Rhodococcus* strains promote the biodegradation of nitrile-butadiene rubber // International Journal of Microbiology. 2026. V. 2026. Article 7513883. (WoS, SCOPUS Q1-Q2, IF 3,4, Белый список, уровень 2)

3. Syrovatskaya G.A., Maksimova A.Yu., Maksimova Yu.G. Extremophilic and extremotolerant nitrile-hydrolyzing microorganisms: distribution and biotechnological potential (Review) // Applied Biochemistry and Microbiology. 2026. V. 62, № 4. P. 637–652. (WoS, SCOPUS

Q3, IF 1,1, Белый список, уровень 2, русск. версия уровень 1)

4. **Сыровацкая Г.А.,** Максимов А.Ю., Максимова Ю.Г. Филогенетическое разнообразие нитрилутилизующих бактерий содового шламохранилища и их некоторые физиолого-биохимические особенности // Вестник Пермского университета. Серия «Биология». 2025. № 3. С. 279–288. (ВАК, РИНЦ, IF 0,5, Белый список, уровень 3)

Публикации в других журналах и сборниках:

5. Shilova A.V., Maksimov A.Yu., Maksimova Yu.G., **Syrovatskaya G.A.**, Shaikhatarova E.E. Biocatalytic potential of nitrile hydrolyzing bacteria isolated from alkaline technogenic environment // AIP Conference Proceedings. Actual Problems of Organic Chemistry and Biotechnology, OCBT 2020: Proceedings of the International Scientific Conference. AIP Publishing, 2022. Article 030087. (WoS CPCI, SCOPUS)

6. Шилова А.В., **Сыровацкая Г.А.,** Шайхатарова Э.Э., Максимов А.Ю., Максимова Ю.Г. Биокаталитический потенциал нитрилгидролизующих бактерий, выделенных из щелочной техногенной среды // Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии: материалы заочных докладов Международной научной конференции / Под ред. Т.В. Глухаревой, Ю.И. Нейн, Т.А. Поспеловой, В.А. Бакулева. 2020. С. 447–449. (РИНЦ)

7. **Сыровацкая Г.А.,** Максимова Ю.Г. Трансформация акрилонитрила алкалотолерантными бактериями содового шламохранилища // Фундаментальные и прикладные аспекты биоинформатики, биотехнологии и недропользования: сборник статей Всероссийской научной конференции с международным участием. Пермь, 2021. С. 137–140. (РИНЦ)

8. **Сыровацкая Г.А.,** Максимова Ю.Г. Оптимизация минеральной среды культивирования алкалотолерантных нитрилутилизующих бактерий содового шламохранилища // Сборник тезисов 26-й Пущинской школы-конференции молодых ученых с международным участием «Биология — наука XXI века». Пущино, 2023. С. 189–190. (РИНЦ)

9. **Сыровацкая Г.А.,** Максимова Ю.Г. Физиолого-биохимические свойства алкалотолерантных нитрилгидролизующих родококков // В сборнике: Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сборник научных трудов. Минск, 2023. С. 551–558. (РИНЦ)

10. **Сыровацкая Г.А.,** Максимова Ю.Г. Оптимизация минеральной среды культивирования нитрилгидролизующих алкалотолерантных родококков и их физиолого-биохимические свойства // Фундаментальные и прикладные аспекты биологии: сборник статей Международной конференции ученых-биологов. Пермь, 2024. С. 126–131. (РИНЦ)

11. **Сыровацкая Г.А.,** Максимова Ю.Г. Биопленкообразование нитрилгидролизующих бактерий высокоминерализованной экстремальной среды антропогенного происхождения // PLAMIC2024: материалы IV Международной научной конференции «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего» и III Всероссийской конференции с международным участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания». Иркутск, 2024. С. 435–438. (РИНЦ)

12. **Сыровацкая Г.А.,** Максимова Ю.Г. Бактерии высокоминерализованной экстремальной среды антропогенного происхождения, гидролизующие нитрилы // Экологическая безопасность в условиях антропогенной трансформации природной среды: сборник материалов Всероссийской научной конференции молодых ученых с международным участием, посвященной памяти Г.А. Воронова, Н.Ф. Реймерса и Ф.Р. Штильмарка. Пермь, 2025. С. 221–224. (РИНЦ)

Сыровацкая Галина Андреевна

**ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
НИТРИЛГИДРОЛИЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ СОДОВОГО
ШЛАМОХРАНИЛИЩА ГОРОДА БЕРЕЗНИКИ**

1.5.11. Микробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Подписано в печать ____ . ____ . ____ . Формат 60×90/16.
Усл. печ.л. 1. Тираж 100 экз. Заказ.
Набор компьютерный.

Отпечатано в «Институте экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения
Российской академии наук» - филиале Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского
отделения Российской академии наук
614081, г. Пермь, ул. Голева, 13