

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.26: 579.222

EDN: WLINVR

doi: 10.17072/1994-9952-2025-4-415-423



Штамм-деструктор фталатов *Stutzerimonas* sp. SJ1gc0r из почвы береговой зоны техногенного галощелочного водоема

Юлия Игоревна Нечаева^{1, 2, 3}, Анна Александровна Пьянкова^{2, 4✉},

Елена Генриховна Плотникова^{1, 2, 5}

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

² Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

³ ulia-2012@mail.ru

^{4✉} pyankova.a@iegm.ru

⁵ peg@iegm.ru

Аннотация. Галощелочные среды представляют особый интерес для исследований, поскольку характеризуются уникальным разнообразием экстремофильных микроорганизмов, которые приспособлены к условиям высокой солености и щелочности среды. Среди экстремофильных микроорганизмов особенного внимания заслуживают биодеструкторы различных ароматических и алифатических соединений, оказывающих негативное воздействие на экосистемы и здоровье человека. Из почвы береговой зоны техногенного галощелочного водоема, расположенного на территории Верхнекамского месторождения калийно-магниевых солей (г. Березники, Пермский край), выделен штамм SJ1gc0r, который идентифицирован как представитель рода *Stutzerimonas*. Анализ гена 16S рРНК данного штамма показал наибольший уровень сходства (99.69%) с гомологичным геном *Stutzerimonas zhaodongensis* NEAU-ST5-21^T. Штамм способен к росту в присутствии фталатов в качестве единственного источника углерода и энергии: дибутилфталата (ДБФ) и диметилфталата (ДМФ), а также возможных продуктов биодеструкции этих соединений: орто-фталевой (ОФК), бензойной кислот (БК) и бутанола. Выделенный штамм может развиваться на ДБФ в качестве субстрата с содержанием в среде культивирования до 70 г/л NaCl. Наиболее высокий показатель удельной скорости роста штамма SJ1gc0r выявлен при культивировании клеток в среде с содержанием 30 г/л NaCl, а максимальная оптическая плотность зафиксирована на среде с содержанием 70 г/л NaCl. В геноме штамма выявлен ген *benA*, кодирующий α -субъединицу бензоат 1,2-диоксигеназы – ключевого фермента разложения БК. На основании полученных данных для штамма SJ1gc0r предложены 2 альтернативных пути разложения ДБФ. Штамм *Stutzerimonas* sp. SJ1gc0r представляет интерес для дальнейших исследований и перспективен для использования в биотехнологических целях.

Ключевые слова: галощелочной водоем, экстремофилы, *Stutzerimonas*, дибутилфталат, биодеструкция

Для цитирования: Нечаева Ю. И., Пьянкова А. А., Плотникова Е. Г. Штамм-деструктор фталатов *Stutzerimonas* sp. SJ1gc0r из почвы береговой зоны техногенного галощелочного водоема // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2025. Вып. 4. С. 415–423. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2025-4-415-423>.

Благодарности: исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ 124020500028-4). В работе использовано оборудование ЦКП «Исследования материалов и веществ» ПФИЦ УрО РАН.

MICROBIOLOGY

Original article

Phthalate-degrading strain *Stutzerimonas* sp. SJ1gc0r from soil in the coastal zone of a technogenic saline-alkaline reservoir

Yulia I. Nечаева^{1, 2, 3}, Anna A. Pyankova^{2, 4✉}, Elena G. Plotnikova^{1, 2, 5}

¹ Perm State University, Perm, Russia

² Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm, Russia

³ ulia-2012@mail.ru

^{4✉} pyankova.a@iegm.ru

⁵ peg@iegm.ru

Abstract. Haloalkaline environments are of particular interest for research, as they are characterized by a unique diversity of extremophilic microorganisms that are adapted to high salinity and alkalinity. Among these extremophilic microorganisms, strains that degrade various aromatic and aliphatic compounds, which have detrimental effects on ecosystems and human health, deserve special attention. Strain SJ1gcor, identified as a member of the genus *Stutzerimonas*, was isolated from the coastal soil of a technogenic saline-alkaline reservoir located within the Verkhnekamsk potassium-magnesium salt deposit (Berezniki, Perm Krai). Analysis of the 16S rRNA gene of the studied strain revealed the highest level of similarity (99.69%) to the homologous gene of *Stutzerimonas zhaodongensis* NEAU-ST5-21^T. The strain is capable of growing as a sole source of carbon and energy on phthalates: dibutyl phthalate (DBP) and dimethyl phthalate (DMP), as well as the possible degradation products of these compounds: *ortho*-phthalic acid (OPA), benzoic acid (BA) and butanol. It was demonstrated that the strain is capable of growing on DBP as a substrate with a NaCl content of up to 70 g/L in the culture medium. The highest specific growth rate of the strain SJ1gcor was found when cultivating in a medium containing 30 g/L NaCl, and the maximum optical density was recorded in a medium containing 70 g/L NaCl. The *benA* gene encoding the α -subunit of benzoate 1,2-dioxygenase, a key enzyme in BA degradation, was identified in the strain's genome. Based on the data obtained, two alternative DBP degradation pathways were proposed for the strain SJ1gcor. Therefore, the strain *Stutzerimonas* sp. SJ1gcor is of interest for further research and holds promise for biotechnological applications.

Keywords: saline-alkaline reservoir, extremophiles, dibutyl phthalate, destruction, *Stutzerimonas*

For citation: Nechaeva Yu. I., Pyankova A. A., Plotnikova E. G. [Phthalate-degrading strain *Stutzerimonas* sp. SJ1gcor from soil in the coastal zone of a technogenic saline-alkaline reservoir]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 4 (2025): pp. 415-423. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2025-4-415-423>.

Acknowledgments: the work was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (No. 124020500028-4). The work was carried out using the equipment of the Core Facilities Center “Research of materials and matter” at the PFRC UB RAS.

Введение

Засоленные и щелочные среды (соленые и щелочные озера, шламохранилища, засоленные и щелочные почвы, промышленные регионы добычи соли и морские отложения) представляют собой уникальные экосистемы с высоким разнообразием экстремофильных микроорганизмов, которые приспособлены к условиям высокой солености и щелочности среды. Данные микроорганизмы обладают высоким биотехнологическим потенциалом, поскольку способны продуцировать биохимически активные ферменты, устойчивые к щелочным показателям pH и высокой концентрации соли. В связи с этим они широко используются в различных областях, таких как медицина, сельское хозяйство и промышленность [Yadav et al., 2018; Varshney et al., 2023].

На территории Верхнекамского месторождения калийно-магниевых солей в г. Березники (Пермский край, Россия) расположен техногенный щелочной водоем, который долгое время использовался в качестве накопителя для производственных отходов. Особенностями данного водоема являются высокое содержание водорастворимых солей, сильнощелочной показатель pH (10–12) и высокая концентрация тяжелых металлов, мышьяка и органических загрязнителей [Белкин, 2020; Belkin et al., 2024], к которым относятся и эфиры фталевой кислоты (фталаты).

Эфиры фталевой кислоты (ЭФК) – это синтетические органические соединения, которые повсеместно используются в качестве пластификаторов при производстве различных пластмасс для обеспечения гибкости и прочности материалов, а также при производстве строительных материалов, мебели, косметики, игрушек, медицинских устройств и пестицидов [Sharma et al., 2021]. Поскольку ЭФК связаны с полимерной матрицей только за счет слабых нековалентных связей, они легко мигрируют в окружающую среду и накапливаются в почвах, воде, осадках сточных вод, донных отложениях, воздухе и растениях [Khurshid et al., 2025]. Доказано, что ЭФК оказывают неблагоприятное воздействие как на здоровье человека, так и на экосистемы в целом. Несмотря на это, большая часть стран все еще использует ЭФК в различных сферах производства. В связи с этим актуален поиск наиболее эффективных способов разрушения данных токсичных соединений для уменьшения пагубного влияния на экосистемы и здоровье человека [Wang et al., 2021].

Биодеградация является одним из основных способов разложения различных ЭФК иmono(поли)ароматических соединений, поскольку отличается высокой эффективностью, экологичностью, безопасностью и низкой стоимостью. Доказано, что аэробная деградация более эффективна по сравнению с анаэробной [Benjamin et al., 2015]. Известны бактерии-деструкторы фталатов, являющиеся представителями разных таксонов, в частности родов *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Comamonas*, *Enterobacter*, *Gordonia*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Sphingobium* и *Variovorax* [Kaur et al., 2023].

В настоящее время накоплен большой объем данных о штаммах, способных к деградации ЭФК [Kaur et al., 2023], показана сложность и многообразие механизмов биодеградации у различных штаммов бак-

терий, однако данных о деструкции эфиров фталевой кислоты и других ароматических соединений в условиях засоления и высокой щелочности среды недостаточно. Данный факт подчеркивает необходимость более детального изучения механизмов деградации ЭФК в условиях засоления и щелочности среды, а также поиск эффективных галофильтальных/галотolerантных и алкалофильтальных штаммов биодеструкторов ЭФК.

Цель исследования – физиологическая и молекулярно-генетическая характеристика галотolerантного штамма-деструктора фталатов, выделенного из почвы береговой зоны галощелочного водоема (г. Березники, Пермский край).

Материалы и методы

Объект исследования. В работе использован бактериальный штамм SJ1gcog, который был выделен из почвы береговой зоны техногенного галощелочного водоема, расположенного на территории Верхнекамского месторождения калийно-магниевых солей в г. Березники (Пермский край, Россия). Образцы почвы для исследований были предоставлены сотрудниками ЕНИ ПГНИУ. Данный водоем использовался в качестве резервного накопителя производственных отходов на время строительства основного шламохранилища и отличается высокой концентрацией легкорастворимых солей, тяжелых металлов, а также щелочным показателем pH [Belkin et al., 2024]. В почве, из которой выделен исследованный штамм, обнаружен дибутилфталат (неопубликованные данные).

Среды и условия культивирования. При получении накопительной культуры и изучении способности штамма к деструкции ароматических и алифатических углеводородов использовали минеральную среду Раймонда (МСР) [Raymond, 1961]. В качестве субстратов в МСР добавляли дибутилфталат (ДБФ), диметилфталат (ДМФ), диэтилфталат (ДЭФ), орто-фталевую, терефталевую (ТФК) и бензойную кислоты, дизельное топливо, бутанол, нафталин, бифенил и фенантрен в концентрации 1.0 г/л. Для приготовления богатой среды Раймонда (БСР) в МСР добавляли 2.5 г/л дрожжевого экстракта («Biospringer», Франция) и 5 г/л триптона («VWR Life Science Amresco», США) в качестве ростовых субстратов. Агар («Helicon», Россия) в количестве 15 г/л использовали для приготовления твердых сред. В экспериментах использовали среды без добавления соли, а также среды с концентрацией NaCl до 100 г/л. Для проверки способности штамма к росту при различных значениях pH использовали буферные системы, приготовленные на основе БСР. Бактериальные клетки выращивали на агаризованной среде БСР при pH 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0. Рост оценивали на седьмой день культивирования [Методы ..., 1983].

Накопительное культивирование и выделение бактерий. Образец почвы (5 г) ресуспендировали в 10 мл МСР, далее 200 мкл почвенной суспензии добавляли в 50 мл МСР с орто-фталевой кислотой (1 г/л) в качестве единственного источника углерода и энергии в колбу объемом 100 мл. Культивирование проводили на терmostатируемом шейкере Environmental Shaker Incubator ES-20/60 («BioSan», Латвия) при 100 об/мин в течение 2 мес., после этого проводили последовательные пересевы полученной накопительной культуры на МСР с орто-фталевой кислотой (1 г/л). Полученную путем 3-х последовательных пересевов суспензию высевали на агаризованную БСР с содержанием 30 г/л NaCl и инкубировали при температуре 28°C до появления отдельных колоний. Описание морфологии колоний бактерий проводили при росте клеток на агаризованной БСР (30 г/л NaCl). Чистые бактериальные культуры для долгосрочного хранения замораживали при температуре -80°C в 20% растворе глицерола [Нетрусов, 2005].

Идентификация бактерий. Выделение ДНК из чистой культуры бактерий проводили общепринятым методом [Ausbel et al., 1995]. Амплификацию гена 16S rPHK осуществляли с использованием универсальных бактериальных праймеров 8F и 1492R [Lane, 1991] на амплификаторе C1000 Touch™ Thermal Cycler («Bio-Rad Laboratories», США).

Исследование гена деструкции бензойной кислоты (*benA*). Амплификацию фрагмента гена *benA* (длина – 521 п.н.), который кодирует α -субъединицу бензоат 1,2-диоксигеназы, проводили с использованием праймеров *benA*-F (5'-GCCACGAGGCCAGATTCCC-3') и *benA*-R (5'-GGTGGCGCGTAGTTCCAGTG-3') [Baggi et al., 2008]. В качестве положительного контроля использовали ДНК штамма-деструктора бензойной кислоты *Rhodococcus wratislaviensis* KT112-7 [Егорова и др., 2013].

Для детекции ПЦР-продуктов использовали горизонтальный электрофорез в 1% агарозном геле с использованием 1× буфера TBE (Трис – 10.8 г/л, борная кислота – 5.5 г/л, 0.5M ЭДТА – 4 мл, вода дистилированная – 79.7 мл/л) при комнатной температуре, напряжении 5–15 В/см в течение 20–40 мин. Агарозные гели окрашивали раствором бромистого этидия (0.5 мкг/мл) в течение 15 мин и фотографировали в УФ-свете с помощью системы гельдокументирования BioDocAnalyze («Bio-Rad Laboratories»,

США). Для определения размеров полученных фрагментов использовали маркер длин ДНК 100+ bp DNA Ladder («ЕвроГен», Россия).

Секвенирование и анализ генов. Определение нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК и *benA* проводили с применением набора реактивов «GenSeq-100» («Синтол», Россия) на автоматическом секвенаторе Нанофор 05 («Синтол», Россия) согласно рекомендациям производителя. Анализ полученных последовательностей осуществляли с использованием программ Sequence Scanner v. 2.0, MEGA v. 10 (<http://www.megasoftware.net>). Поиск гомологичных последовательностей осуществляли по международным базам данных EzBioCloud (<http://www.ezbiocloud.net>) и GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Рост штамма на ДБФ оценивали с использованием культивирования в жидкой МСР с ДБФ (1 г/л) без добавления соли и в присутствии 30, 50 и 70 г/л NaCl. В качестве инокулята использовали культуру в экспоненциальной фазе роста, предварительно выращенную в жидкой МСР с ДБФ в концентрации 1.0 г/л. Оптическую плотность (ОП₆₀₀) культуральной жидкости определяли на спектрофотометре UV-Visible BioSpec-mini («Shimadzu», Япония) при длине волны 600 нм в кювете с длиной оптического пути 1 см. Удельную скорость роста (μ , ч⁻¹) рассчитывали по стандартной формуле:

$$\mu = (\ln B_2 - \ln B_1)/(t_2 - t_1),$$

где B_1 и B_2 – оптическая плотность культуры в момент времени t_1 и t_2 , соответственно [Нетрусов, 2005].

Статистическая обработка результатов. Все эксперименты были выполнены в трехкратной повторности. Для обработки полученных данных использовали среду программирования R.

Результаты и их обсуждение

С использованием метода накопительного культивирования на МСР с добавлением *ортого*-фталевой кислоты в качестве единственного источника углерода и энергии из образца почвы, отобранный в береговой зоне галошечного техногенного водоема, изолирован бактериальный штамм SJ1gc0r. Выделенный штамм имел округлые бежево-желтые прозрачные колонии, размером около 1–2 мм, с гладкой блестящей поверхностью.

Согласно анализу фрагмента гена 16S рРНК (647 п.н.), штамм SJ1gc0r имеет наибольшее (99.69%) сходство со штаммом *Stutzerimonas zhaodongensis* NEAU-ST5-21^T (ранее *Pseudomonas zhaodongensis*). Представители вида *S. zhaodongensis* были выделены из засоленных и щелочных почв [Zhang et al., 2015], морских отложений [Xu et al., 2022], морской воды [Zhao et al., 2024] и загрязненных нефтью грунтовых вод [Khodaei et al., 2017]. Показано, что штаммы вида *Stutzerimonas (Pseudomonas) zhaodongensis* способны к биоремедиации загрязненных нефтью отложений [Qiao et al., 2024], деградации дизельного топлива [Xu et al., 2022], смеси углеводородов (бензол, толуол, этилбензол и ксилен) [Khodaei et al., 2017] и гербицида Хизалофоп-П-этил (QPE) [Zhang et al., 2017].

При культивировании штамма на среде БСР с разной концентрацией соли показано, что штамм способен к росту на среде как без добавления NaCl, так и в присутствии NaCl до 70 г/л. Также выявлено, что штамм способен к росту на среде с pH 6–8.

Поскольку штамм был выделен из накопительной культуры с добавлением в качестве субстрата ОФК, в первую очередь была проведена проверка способности штамма к росту на *ортого*-фталевой кислоте, эфирах фталевой кислоты – дибутилфталате (ДБФ), диметилфталате (ДМФ), диэтилфталате (ДЭФ) и терефталевой кислоте (ТФК). Также проведена проверка роста штамма на бензойной кислоте, нафтилине, фенантрене, бифениле, дизельном топливе (ДТ) и бутаноле. Установлено, что штамм способен к эффективному росту на ДБФ, ДМФ, *ортого*-фталевой и бензойной кислотах, а также бутаноле. При этом он не растет на ДЭФ, терефталевой кислоте, бифениле, нафтилине, фенантрене и ДТ.

Согласно литературным данным, *ортого*-фталевая кислота – ключевой метаболит разложения фталатов. В частности, основной путь деградации ДБФ (один из представителей ЭФК) включает: гидролиз ДБФ через образование монобутилфталата до ОФК с использованием различных гидролаз; разложение ОФК до протокатеховой кислоты (ПКК), которая далее метаболизируется по *ортого*- и *мета*-пути до соединений цикла Кребса [Hu et al., 2021]. Бензойная кислота является промежуточным метаболитом при разложении различных ароматических соединений (бифенил, фенол, толуол), кроме того, известно, что данное соединение может быть метаболитом при разложении ОФК. Ранее путь разложения *ортого*-фталевой кислоты через образование бензоата упоминался для штаммов *Glutamicibacter* sp. 0426 [Ren et al., 2024] и *Pseudarthrobacter defluvii* E5 [Chen et al., 2021]. Также известно, что возможным метаболитом при разложении ДБФ может быть бутанол, который преобразуется в масляную кислоту. Образующийся ацетил-КоА при окислении жирной кислоты вступает в цикл Кребса [Mahajan et al., 2019].

Ростовой эксперимент был проведен на МСР с добавлением ДБФ в качестве субстрата с содержанием NaCl до 70 г/л и без нее. Среди эфиров фталевых кислот ДБФ представляет особый интерес, поскольку

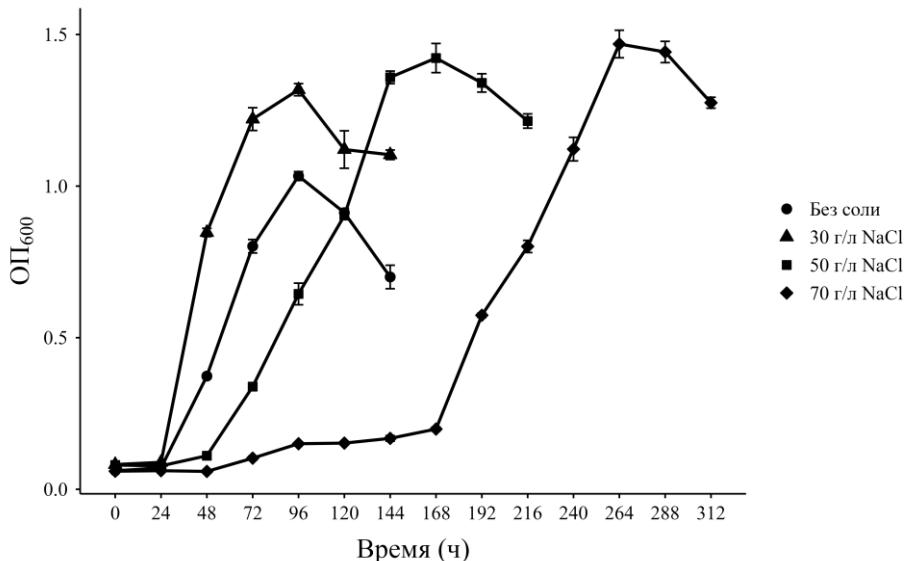
обладает мутагенными и канцерогенными свойствами даже в минимальных концентрациях, а также является одним из наиболее используемых ЭФК во всем мире [Peng et al., 2025]. В связи с тем, что ДБФ обладает высокой токсичностью, биоаккумуляционным потенциалом и низкой скоростью биодеградации в окружающей среде, он включен в списки приоритетных загрязнителей Агентством по охране окружающей среды США, Европейского союза, Канады, Японии, а также Китайским национальным центром мониторинга окружающей среды [Lakshminikandan et al., 2025]. Поэтому изучение ростовых показателей штамма при использовании ДБФ в качестве единственного источника углерода и энергии может быть полезно для разработки мероприятий по биоремедиации загрязненных местообитаний.

Нами при культивировании бактериальных клеток на ДБФ в качестве субстрата в среде без содержания соли и в присутствии NaCl показано, что наиболее высокий показатель удельной скорости роста наблюдался при культивировании бактерий в среде с содержанием 30 г/л NaCl, а максимальная ОП₆₀₀ зафиксирована на среде с содержанием 70 г/л NaCl (табл. 1, рисунок).

Таблица 1

Параметры роста штамма SJ1gcor в MCP с ДБФ (1.0 г/л) при разных концентрациях NaCl
[Growth parameters of the strain SJ1gcor in MMR and DBP (1.0 g/L) at different concentrations of NaCl]

Концентрация NaCl, г/л	Удельная скорость роста, ч ⁻¹	Максимальное значение ОП ₆₀₀
Без NaCl	0.018±0.001	1.04
30	0.030±0.002	1.29
50	0.015±0.001	1.39
70	0.012±0.001	1.45



Рост штамма SJ1gcor в MCP с ДБФ (1.0 г/л) при разных концентрациях NaCl

[Growth of the strain SJ1gcor in MMR and DBP (1.0 g/L) at different concentrations of NaCl]]

Поскольку штамм способен к росту на бензойной кислоте, являющейся возможным метаболитом разложения ЭФК, проведена амплификация гена *benA*, кодирующего α -субъединицу бензоат 1,2-диоксигеназы, которая является ключевым ферментом начального пути окисления бензоата [Parales et al., 2006]. Проведено секвенирование и анализ амплифицированного *benA*-гена. Сравнительный анализ *benA*-гена с гомологичными последовательностями из базы данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) показал, что наибольшее сходство данная последовательность имеет с последовательностями гена *benA* бактерий-представителей родов *Stutzerimonas*. В таблице 2 представлены гомологичные последовательности гена *benA*, которые имеют наибольшее сходство с геном штамма SJ1gcor. Сходство на уровне 94.07% сравниваемая последовательность имеет с геном *benA* штамма *Stutzerimonas kunmingensis* 7850S, который был выделен из донных отложений Марианской впадины (табл. 2).

На основании полученных данных можно предположить, что разложение ДБФ идет до орто-фталевой кислоты через образование монобутилфталата. По литературным данным, в преобразовании ДБФ до монобутилфталата участвуют альфа/бета гидролазы, эстеразы, карбоксилэстеразы или липазы [Ren et al., 2018]. Способность штамма SJ1gcor к росту на бензойной кислоте и наличие гена *benA* могут свидетельствовать о том, что у данного штамма может быть 2 альтернативных пути разложения орто-фталевой кислоты: либо с помощью кластера генов, участвующих в разложении орто-фталевой кислоты

до протокатеховой кислоты, либо через преобразование ОФК до бензойной кислоты за счет декарбоксилирования и разложения бензоата с использованием кластера генов *benABCDE*.

Таблица 2

**Сравнительный анализ гена *benA* штамма *Stutzerimonas* sp. SJ1gcor
с близкайшими гомологичными последовательностями из базы данных GenBank**
[Comparative analysis of the *benA* gene of the strain *Stutzerimonas* sp. SJ1gcor
with the closest homologous sequences from the GenBank database]

Гомологичные гены в GenBank	Номер в GenBank	Сходство, (%)	Место выделения
Ген <i>benA</i> , <i>Stutzerimonas kunmingensis</i> 7850S	CP090366	94.07	Донные отложения Марианской впадины
Ген <i>benA</i> , <i>Stutzerimonas chloritidismutans</i> ABH-495	CP085257	93.01	Донные отложения озера: Китай
Ген <i>benA</i> , <i>Pseudomonas stutzeri</i> 19SMN4 ^T	CP007509	93.01	Загрязненные морские донные отложения: Испания
Ген <i>benA</i> , <i>Pseudomonas knackmussii</i> B09-2	CP096208	92.58	Вода: Индийский океан, Китай
Ген <i>benA</i> , <i>Stutzerimonas chloritidismutans</i> 6L11	CP086067	91.74	Галошечная ризосферная почва: Китай
Ген <i>benA</i> , <i>Pseudomonas stutzeri</i> CCUG 29243	CP003677	91.53	Загрязненные морские отложения: Средиземное море

Для получения более полных данных о метаболических путях штамма и кластерах генов, участвующих в разложении различных ароматических соединений, необходимо проведение дополнительных исследований, в частности полногеномное секвенирование и анализ транскриптомных данных.

Заключение

В результате проведенных исследований из почвы береговой зоны галошечного водоема, расположенного на территории Верхнекамского месторождения солей (г. Березники, Пермский край), изолирован штамм-деструктор фталатов (дибутилфталата, диметилфталата) *Stutzerimonas* sp. SJ1gcor. Кроме эффективного роста на среде с дибутилфталатом и диметилфталатом, штамм способен к росту на ортофталевой, бензойной кислотах и бутаноле в качестве субстрата. Необходимо отметить, что штамм способен к росту на ДБФ в условиях повышенного содержания NaCl (до 70%). В геноме штамма выявлен ген *benA*, который участвует в первой стадии разложения бензойной кислоты. Нуклеотидная последовательность гена имеет наибольший процент идентичности с геном *benA* штамма *Stutzerimonas kunmingensis* 7850S, который изолирован из донных отложений Марианской впадины. На основании полученных данных выдвинуто предположение о том, что у штамма могут быть 2 альтернативных пути разложения ортофталевой кислоты до соединений цикла Кребса: 1) через образование бензойной кислоты и последующее разложение бензоата, 2) через разложение с использованием кластера фталатных генов.

Таким образом, исследованный штамм *Stutzerimonas* sp. SJ1gcor представляет интерес для дальнейших исследований, поскольку обладает высоким биодеградационным потенциалом. Данный штамм может быть использован в качестве бактериального агента при планировании мероприятий, направленных на очистку окружающей среды от эфиров фталевой кислоты, в том числе биоремедиации местообитаний, характеризующихся высоким содержанием NaCl.

Список источников

1. Белкин П.А. Химический состав родникового стока в районе складирования отходов разработки и обогащения калийных солей // Вестник Пермского университета. Геология. 2020. Т. 19(3). С. 232–240. DOI: 10.17072/psu.geol.19.3.232. EDN: DMUFJO.
2. Егорова Д.О. и др. Деструкция ароматических углеводородов штаммом *Rhodococcus wratislaviensis* KT112-7, выделенным из отходов соледобывающего предприятия // Прикладная биохимия и микробиология. 2013. Т. 49(3). С. 267–278. DOI: 10.7868/S0555109913030070. EDN: PXPZZB.
3. Методы общей бактериологии: в 3 т. / под ред. Ф. Герхардта и др. М.: Мир, 1983. Т. 1–3.
4. Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии. М.: Академия, 2005. 608 с.
5. Ausbel F.M. Short Protocols in Molecular Biology. 3rd ed. N.Y.: John Wiley & Sons, 1995. 450 p.

6. Baggi G. et al. Co-metabolism of di-and trichlorobenzoates in a 2-chlorobenzoate-degrading bacterial culture: Effect of the position and number of halo-substituents // International Biodeterioration & Biodegradation. 2008. Vol. 62(1). P. 57–64. DOI: 10.1016/j.ibiod.2007.12.002.
7. Belkin P. et al. Sediment microbial communities of a technogenic saline-alkaline reservoir // Heliyon. 2024. Vol. 10(13). Art. e33640. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e33640.
8. Benjamin S. et al. A monograph on the remediation of hazardous phthalates // Journal of Hazardous Materials. 2015. Vol. 298. P. 58–72. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.05.004.
9. Chen F. et al. High-efficiency degradation of phthalic acid esters (PAEs) by *Pseudarthrobacter defluvii* E5: performance, degradative pathway, and key genes // Science of the Total Environment. 2021. Vol. 794. Art. 148719. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.148719.
10. Hu R. et al. Bacteria-driven phthalic acid ester biodegradation: current status and emerging opportunities // Environment International. 2021. Vol. 154. Art. 106560. DOI: 10.1016/j.envint.2021.106560.
11. Kaur R. et al. Biodegradation of phthalates and metabolic pathways: an overview // Environmental Sustainability. 2023. Vol. 6. P. 303–318. DOI: 10.1007/s42398-023-00268-7.
12. Khodaei K. et al. BTEX biodegradation in contaminated groundwater using a novel strain (*Pseudomonas* sp. BTEX-30) // International Biodeterioration & Biodegradation. 2017. Vol. 116. P. 234–242. DOI: 10.1016/j.ibiod.2016.11.001.
13. Khurshid S. et al. Di-butyl phthalates (DBP) in the environment: health risks and advances in treatment technologies // Environ. Geochem. Health. 2025. Vol. 47. Art. 371. DOI: 10.1007/s10653-025-02707-2.
14. Lakshmikandan M. et al. Efficient biodegradation of elevated di-n-butyl phthalate levels by microalga *Coelastrella terrestris* MLUN1 and its post-treatment potential // Journal of Water Process Engineering. 2025. Vol. 73. Art. 107694. DOI: 10.1016/j.jwpe.2025.107694.
15. Lane D.J. 16S/23S rRNA sequencing // Nucleic acid techniques in bacterial systematics. 1991. P. 115–175.
16. Mahajan R. et al. Biodegradation of di-n-butyl phthalate by psychrotolerant *Sphingobium yanoikuyae* strain P4 and protein structural analysis of carboxylesterase involved in the pathway // International Journal of Biological Macromolecules. 2019. Vol. 122. P. 806–816. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.10.225.
17. Parales R.E., Resnick S.M. Aromatic ring hydroxylating dioxygenases // *Pseudomonas*: Volume 4 Molecular Biology of Emerging Issues. Boston, MA: Springer US, 2006. P. 287–340.
18. Peng C. et al. Biodegradation of various phthalic acid esters at high concentrations by *Gordonia alkavitans* GH-1 and its degradation mechanism // Environmental Technology & Innovation. 2025. Vol. 38. Art. 104066. DOI: 10.1016/j.eti.2025.104066.
19. Qiao Y. et al. Novel agents consisting of *Pseudomonas zhaodongensis* and dimethylsulfoniopropionate (DMSP) enhancing bioremediation of oil-contaminated sediments at deep-sea condition // Environmental Technology & Innovation. 2024. Vol. 36. Art. 103744. DOI: 10.1016/j.eti.2024.103744.
20. Raymond R.L. Microbial oxidation of n-paraffinic hydrocarbons // Developments in Industrial Microbiology. 1961. Vol. 2(1). P. 23–32.
21. Ren C. et al. Complete degradation of di-n-butyl phthalate by *Glutamicibacter* sp. strain 0426 with a novel pathway // Biodegradation. 2024. Vol. 35(1). P. 87–99. DOI: 10.1007/s10532-023-10032-7.
22. Ren L. et al. Bacteria-mediated phthalic acid esters degradation and related molecular mechanisms // Applied Microbiology and Biotechnology. 2018. Vol. 102(3). P. 1085–1096. DOI: 10.1007/s00253-017-8687-5.
23. Sharma N. et al. DBP biodegradation kinetics by *Acinetobacter* sp. 33F in pristine agricultural soil // Environmental Technology & Innovation. 2021. Vol. 21. Art. 101240. DOI: 10.1016/j.eti.2020.101240.
24. Varshney S., Bhattacharya A., Gupta A. Halo-alkaliphilic microbes as an effective tool for heavy metal pollution abatement and resource recovery: challenges and future prospects // 3 Biotech. 2023. Vol. 13(12). Art. 400. DOI: 10.1007/s13205-023-03807-5.
25. Wang Y., Qian H. Phthalates and their impacts on human health // Healthcare (Basel). 2021. Vol. 9(5). Art. 603. DOI: 10.3390/healthcare9050603.
26. Xu W. et al. Bacterial communities and culturable petroleum hydrocarbon degrading bacteria in marine sediments in the northeastern South China Sea // Frontiers in Environmental Sciences. 2022. Vol. 10. Art. 865636. DOI: 10.3389/fenvs.2022.865636.
27. Yadav A.N., Saxena A.K. Biodiversity and biotechnological applications of halophilic microbes for sustainable agriculture // Journal of Applied Biology and Biotechnology. 2018. Vol. 6(1). P. 48–55. DOI: 10.7324/JABB.2018.60109.
28. Zhang H. et al. Purification and properties of a novel quizalofop-p-ethyl-hydrolyzing esterase involved in quizalofop-p-ethyl degradation by *Pseudomonas* sp. J-2 // Microbial Cell Factories. 2017. Vol. 16. Art. 80. DOI: 10.1186/s12934-017-0695-8.
29. Zhang L. et al. *Pseudomonas zhaodongensis* sp. nov., isolated from saline and alkaline soils // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2015. Vol. 65(Pt 3). P. 1022–1030. DOI: 10.1099/ijss.0.000057.

30. Zhao Z. et al. Diversity and potential metabolic characteristics of culturable copiotrophic bacteria that can grow on low-nutrient medium in Zhenbei Seamount in the South China Sea // Microbial Ecology. 2024. Vol. 87. Art. 157. DOI: 10.1007/s00248-024-02475-z.

References

1. Belkin P.A. [Chemical composition of spring discharge in the area of mining waste storage and potassium salt enrichment]. *Bulletin of Perm University. Geology.* V. 19(3) (2020): pp. 232-240. (In Russ.). DOI: 10.17072/psu.geol.19.3.232.
2. Egorova D.O. et al. [Degradation of aromatic hydrocarbons by the *Rhodococcus wratislaviensis* KT112-7 isolated from waste products of a salt-mining plant]. *Applied Biochemistry and Microbiology.* V. 49(3) (2013): pp. 244–255. DOI: 10.7868/S0555109913030070.
3. Gerhardt F., ed. *Metody obščej bakteriologii* [Methods of general bacteriology]. Moscow, Mir Publ., 1983. V. 1–3. (In Russ.).
4. Netrusov A.I. *Praktikum po mikrobiologii* [Practicum on microbiology]. Moscow, Akademija Publ., 2005. 608 p. (In Russ.).
5. Ausbel F.M. *Short Protocols in Molecular Biology*. 3rd ed. N.Y., John Wiley & Sons, 1995. 450 p.
6. Baggi G. et al. Co-metabolism of di-and trichlorobenzoates in a 2-chlorobenzoate-degrading bacterial culture: Effect of the position and number of halo-substituents. *International Biodeterioration & Biodegradation.* V. 62(1) (2008): pp.57-64. DOI: 10.1016/j.ibiod.2007.12.002.
7. Belkin P. et al. Sediment microbial communities of a technogenic saline-alkaline reservoir. *Heliyon.* Vol. 10(13) (2024). Art. e33640. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e33640.
8. Benjamin S. et al. A monograph on the remediation of hazardous phthalates. *Journal of Hazardous Materials.* V. 298 (2015): pp. 58-72. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.05.004.
9. Chen F. et al. High-efficiency degradation of phthalic acid esters (PAEs) by *Pseudarthrobacter defluvii* E5: performance, degradative pathway, and key genes. *Science of the Total Environment.* V. 794 (2021). Art. 148719. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.148719.
10. Hu R. et al. Bacteria-driven phthalic acid ester biodegradation: current status and emerging opportunities. *Environment International.* V. 154 (2021). Art. 106560. DOI: 10.1016/j.envint.2021.106560.
11. Kaur R. et al. Biodegradation of phthalates and metabolic pathways: an overview. *Environmental Sustainability.* V. 6 (2023): pp. 303-318. DOI: 10.1007/s42398-023-00268-7.
12. Khodaei K. et al. BTEX biodegradation in contaminated groundwater using a novel strain (*Pseudomonas* sp. BTEX-30). *International Biodeterioration & Biodegradation.* V. 116 (2017): pp. 234-242. DOI: 10.1016/j.ibiod.2016.11.001.
13. Khurshid S. et al. Di-butyl phthalates (DBP) in the environment: health risks and advances in treatment technologies. *Environ. Geochem. Health.* V. 47 (2025). Art. 371. DOI: 10.1007/s10653-025-02707-2.
14. Lakshmikanthan M. et al. Efficient biodegradation of elevated di-n-butyl phthalate levels by microalga *Coelastrella terrestris* MLUN1 and its post-treatment potential. *Journal of Water Process Engineering.* V. 73 (2025). Art. 107694. DOI: 10.1016/j.jwpe.2025.107694.
15. Lane D.J. 16S/23S rRNA sequencing. *Nucleic acid techniques in bacterial systematics.* 1991, pp. 115-175.
16. Mahajan R. et al. Biodegradation of di-n-butyl phthalate by psychrotolerant *Sphingobium yanoikuyae* strain P4 and protein structural analysis of carboxylesterase involved in the pathway. *International Journal of Biological Macromolecules.* V. 122 (2019): pp. 806-816. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.10.225.
17. Parales R.E., Resnick S.M. Aromatic ring hydroxylating dioxygenases. *Pseudomonas: Volume 4 Molecular Biology of Emerging Issues.* Boston, MA, Springer US, 2006, pp. 287-340.
18. Peng C. et al. Biodegradation of various phthalic acid esters at high concentrations by *Gordonia alkalinivorans* GH-1 and its degradation mechanism. *Environmental Technology & Innovation.* V. 38 (2025). Art. 104066. DOI: 10.1016/j.eti.2025.104066.
19. Qiao Y. et al. Novel agents consisting of *Pseudomonas zhaodongensis* and dimethylsulfoniopropionate (DMSP) enhancing bioremediation of oil-contaminated sediments at deep-sea condition. *Environmental Technology & Innovation.* V. 36 (2024). Art. 103744. DOI: 10.1016/j.eti.2024.103744.
20. Raymond R.L. Microbial oxidation of n-paraffinic hydrocarbons. *Developments in Industrial Microbiology.* V. 2(1) (1961): pp. 23-32.
21. Ren C. et al. Complete degradation of di-n-butyl phthalate by *Glutamicibacter* sp. strain 0426 with a novel pathway. *Biodegradation.* V. 35(1) (2024): pp. 87-99. DOI: 10.1007/s10532-023-10032-7.
22. Ren L. et al. Bacteria-mediated phthalic acid esters degradation and related molecular mechanisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* V. 102(3) (2018): pp. 1085-1096. DOI: 10.1007/s00253-017-8687-5.
23. Sharma N. et al. DBP biodegradation kinetics by *Acinetobacter* sp. 33F in pristine agricultural soil. *Environmental Technology & Innovation.* V. 21 (2021). Art. 101240. DOI: 10.1016/j.eti.2020.101240.

24. Varshney S., Bhattacharya A., Gupta A. Halo-alkaliphilic microbes as an effective tool for heavy metal pollution abatement and resource recovery: challenges and future prospects. *3 Biotech.* V. 13(12) (2023). Art. 400. DOI: 10.1007/s13205-023-03807-5.
25. Wang Y., Qian H. Phthalates and their impacts on human health. *Healthcare (Basel).* V. 9(5) (2021). Art. 603. DOI: 10.3390/healthcare9050603.
26. Xu W. et al. Bacterial communities and culturable petroleum hydrocarbon degrading bacteria in marine sediments in the northeastern South China Sea. *Frontiers in Environmental Sciences.* V. 10 (2022). Art. 865636. DOI: 10.3389/fenvs.2022.865636.
27. Yadav A.N., Saxena A.K. Biodiversity and biotechnological applications of halophilic microbes for sustainable agriculture. *Journal of Applied Biology and Biotechnology.* V. 6(1) (2018): pp. 48-55. DOI: 10.7324/JABB.2018.60109.
28. Zhang H. et al. Purification and properties of a novel quizalofop-*p*-ethyl-hydrolyzing esterase involved in quizalofop-*p*-ethyl degradation by *Pseudomonas* sp. J-2. *Microbial Cell Factories.* V. 16 (2017). Art. 80. DOI: 10.1186/s12934-017-0695-8.
29. Zhang L. et al. *Pseudomonas zhaodongensis* sp. nov., isolated from saline and alkaline soils. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* V. 65(Pt 3) (2015): pp. 1022-1030. DOI: 10.1099/ijss.0.000057.
30. Zhao Z. et al. Diversity and potential metabolic characteristics of culturable copiotrophic bacteria that can grow on low-nutrient medium in Zhenbei Seamount in the South China Sea. *Microbial Ecology.* V. 87 (2024). Art. 157. DOI: 10.1007/s00248-024-02475-z.

Статья поступила в редакцию 13.10.2025; одобрена после рецензирования 03.11.2025; принята к публикации 02.12.2025.

The article was submitted 13.10.2025; approved after reviewing 03.11.2025; accepted for publication 02.12.2025.

Информация об авторах

Ю. И. Нечаева – инженер ИЭГМ УрО РАН, аспирант ПГНИУ;
А. А. Пьянкова – младший научный сотрудник ИЭГМ УрО РАН;
Е. Г. Плотникова – д-р биол. наук, доцент, зав. лабораторией ИЭГМ УрО РАН, профессор ПГНИУ.

Information about the authors

Yu. I. Nechaeva – engineer at IEGM UB RAS, postgraduate student at Perm State University;
A. A. Pyankova – junior researcher at IEGM UB RAS;
E. G. Plotnikova – doctor of biological sciences, associate professor, head of laboratory at IEGM UB RAS, professor of Perm State University.

Вклад авторов:

Нечаева Ю. И. – экспериментальная работа; статистическая обработка материала; написание исходного текста.
Пьянкова А. А. – экспериментальная работа; доработка текста.
Плотникова Е. Г. – научное руководство; концепция исследования; доработка текста.

Contribution of the authors:

Nechaeva Yu. I. – experimental work; statistical processing of material; writing the source text.
Pyankova A. A. – experimental work; text revision.
Plotnikova E. G. – research supervision; research concept; text revision.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.