Вестник Пермского университета. Серия Биология. 2026. Т. 17, вып. 3. С. 308–318.
Bulletin of Perm University. Biology. 2026. Vol. 17, iss. 3. P. 308–318.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья
УДК 579:873:579.222.2
EDN: OQBDWR
http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-3-308-318

Топография поверхности и механические свойства биопленок родококков при совместном воздействии этоксилированного нонилфенола и наночастиц оксида меди

Елена Александровна Баяндина[1, 2], **Мария Станиславовна Куюкина**[1, 2], **Ирина Борисовна Ившина**[1, 2]

[1] Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия
[2] Институт экологии и генетики микроорганизмов Пермского федерального исследовательского центра РАН, Пермь, Россия
Автор, ответственный за переписку: Елена Александровна Баяндина, elenabaiandinapsu@gmail.com

Аннотация. В последние годы повысился интерес исследователей к возможным синергическим эффектам, оказываемым наноразмерными материалами и токсичными органическими веществами на микробные биопленки, а также к механизмам устойчивости биопленок к данному комбинированному стрессу. При этом большое внимание уделяется воздействию низких (сублетальных) концентраций наночастиц, способных как усиливать антимикробное действие органических токсикантов, так и индуцировать защитные реакции микроорганизмов, приводя к развитию резистентности. С использованием атомно-силовой микроскопии (АСМ) изучены топографические (поверхностный нанорельеф и шероховатость) и упруго-механические изменения клеток в биопленках *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 1263 под воздействием гормоноподобного ксенобиотика – этоксилированного нонилфенола (ЭНФ) и наночастиц оксида меди (НЧ CuO). Установлено, что в присутствии ЭНФ показатель среднеквадратичной шероховатости клеток родококков практически не отличался от контроля, но увеличивался вдвое при совместном воздействии 1.0 г/л ЭНФ и 0.001 г/л НЧ CuO. В режиме силовой спектроскопии обнаружено более чем двукратное повышение силы адгезии между поверхностью биопленки и зондом кантилевера (от 5.3 ± 1.9 до 14.1 ± 5.2 нН) в присутствии ЭНФ и НЧ CuO, при этом адгезивные свойства биопленки определялись в большей степени наличием экзополимерного матрикса. При комплексном химическом стрессе выявлено статистически значимое (в 3.2 раза) увеличение модуля упругости Юнга клеток, свидетельствующее о повышении жесткости клеточной стенки. Полученные результаты отражают адаптационные перестройки биопленок родококков как основы формирования биокаталитических систем, функционально стабильных в условиях комбинированного стресса, вызванного органическим и минеральным ксенобиотиками.

Ключевые слова: биопленки, *Rhodococcus*, этоксилированный нонилфенол, наночастицы оксида меди, атомно-силовая микроскопия, силы адгезии, экзополимерный матрикс

Для цитирования: Баяндина Е. А., Куюкина М. С., Ившина И. Б. Топография поверхности и механические свойства биопленок родококков при совместном воздействии этоксилированного нонилфенола и наночастиц оксида меди // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2026. Т. 17, вып. 3. С. 308–318. http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-3-308-318.

Финансирование: работа выполнена в рамках госзаданий FSNF-2025-0013 и 124020500028-4.

Благодарности: в работе использовано оборудование ЦКП «Специализированный кабинет атомно-силовой и конфокальной микроскопии» ПГНИУ и ЦКП «Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов» ПФИЦ УрО РАН.

MICROBIOLOGY

Original article

Surface topography and mechanical properties of *Rhodococcus ruber* biofilms under combined exposure to ethoxylated nonylphenol and copper oxide nanoparticles

Elena A. Bayandina[1, 2], **Maria S. Kuyukina**[1, 2], **Irina B. Ivshina**[1, 2]

[1] Perm State University, Perm, Russia
[2] Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia
Corresponding author: Elena A. Bayandina, elenabaiandinapsu@gmail.com

© Баяндина Е. А., Куюкина М. С., Ившина И. Б., 2026

Abstract. In recent years, there has been growing interest in the potential synergistic effects of nanomaterials and toxic organic compounds on microbial biofilms, as well as in the mechanisms underlying biofilm resistance to such combined stress. Particular attention has been paid to the effects of low (sublethal) concentrations of nanoparticles, which may enhance the antimicrobial activity of organic toxicants while also inducing protective responses in microorganisms, leading to the development of resistance. Atomic force microscopy (AFM) was used to investigate topographical and viscoelastic changes in cells within *Rhodococcus ruber* IEGM 1263 biofilms under exposure to a hormone-like xenobiotic, ethoxylated nonylphenol (ENP), and copper oxide nanoparticles (CuO NPs). It was found that, in the presence of ENP, the root mean square (RMS) roughness of rhodococcal cells did not differ significantly from the control but increased twofold under combined exposure to 1.0 g/L ENP and 0.001 g/L CuO NPs. Force spectroscopy measurements revealed more than a twofold increase in adhesion force between the biofilm surface and the cantilever probe (from 5.3 ± 1.9 to 14.1 ± 5.2 nN) in the presence of ENP and CuO NPs. At the same time, the adhesive properties of the biofilm were largely determined by the presence of the extracellular polymeric matrix. Under complex chemical stress, a statistically significant (3.2-fold) increase in the Young's modulus of the cells was observed, indicating an increase in the rigidity of the cell wall. The obtained results indicate adaptive restructuring of rhodococcal biofilms, which may serve as a basis for the formation of biocatalytic systems with enhanced functional stability under combined stress induced by organic and mineral xenobiotics.

Keywords: biofilms, *Rhodococcus ruber*, ethoxylated nonylphenol, copper oxide nanoparticles, exopolymer matrix, atomic force microscopy, adhesion force, nanobioremediation

For citation: Bayandina E. A., Kuyukina M. S., Ivshina I. B. [Surface topography and mechanical properties of *Rhodococcus ruber* biofilms under combined exposure to ethoxylated nonylphenol and copper oxide nanoparticles]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Vol. 17, iss. 3 (2026): pp. 308-318. (In Russ.). http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-3-308-318.

Financing: the work was carried out within the framework of the state tasks FSNF-2025-0013 and 124020500028-4.

Acknowledgments: the research work was carried out using the equipment of the Core Facilities Centers "Specialized cabinet of atomic force and confocal microscopy" (PSU) and "Regional Specialised Collection of Alkanotrophic Microorganisms" (IEGM PFRC UB RAS).

Введение

Этоксилированный нонилфенол (ЭНФ) относится к числу наиболее распространенных неионогенных поверхностно-активных веществ (ПАВ), широко используемых в промышленности, сельском хозяйстве и в составе бытовых моющих средств [Xu et al., 2026]. Вследствие масштабного применения ЭНФ регулярно поступает в водные экосистемы со стоками промышленных и коммунальных предприятий [Zhang et al., 2008]. В традиционных системах очистки сточных вод данное соединение подвергается лишь частичной биотрансформации с образованием более устойчивых промежуточных метаболитов, включая нонилфенол и его короткоцепочечные этоксилаты [Lu et al., 2021], обладающие выраженной эндокринно-разрушающей активностью и способностью к биоаккумуляции в пищевых цепях [Servos, 1999; Zhang et al., 2008]. Высокая устойчивость ЭНФ к минерализации и токсическое воздействие на микроорганизмы позволяют рассматривать данное соединение как приоритетный органический загрязнитель, удаление которого требует разработки эффективных биотехнологических подходов [Corvini, Schäffer, Schlosser, 2006; Lu et al., 2008]. Одним из таких подходов является использование биопленочных микробных систем, обладающих повышенной устойчивостью к химическому стрессу, улучшенным удержанием субстрата и долговременной метаболической стабильностью, что делает их перспективными для удаления стойких органических загрязнителей [Mishra et al., 2022]. Сочетание микробных биопленок с функциональными наноматериалами лежит в основе нанобиоремедиации – междисциплинарного подхода, объединяющего микробиологические и нанотехнологические методы для повышения эффективности процессов биодеструкции стойких экотоксикантов [Ikuma, Decho, Lau, 2015; Kuyukina, Bayandina, Ivshina, 2026].

Среди микроорганизмов-деструкторов ксенобиотиков ведущее место занимают бактерии рода *Rhodococcus* благодаря высокой катаболической активности, способности к деградации широкого спектра органических загрязнителей и специфической организации клеточной стенки с высоким содержанием липидов, которые способствуют эффективному взаимодействию клеток с гидрофобными субстратами [Ившина и др., 2025]. Экзополимерный матрикс (ЭПМ) биопленок родококков богат полисахаридами, белками и липидами [Krivoruchko, Nurieva, Ivshina, 2026], что обеспечивает механическую стабильность, сорбционные свойства и защиту клеток от воздействия токсикантов.

Ранее нами было показано, что наночастицы меди (НЧ CuO) в сублетальных концентрациях способны усиливать адгезивные свойства клеток родококков и стимулировать биопленкообразование в присутствии гидрофобных субстратов [Bayandina et al., 2022]. Однако влияние НЧ CuO на структурную организацию и упруго-механические свойства биопленок родококков в условиях воздействия органического загрязнителя, в частности ЭНФ, изучено недостаточно. Атомно-силовая микроскопия (АСМ), как разновидность сканирующей зондовой микроскопии высокого разрешения, является эффективным методом изучения ультраструктуры поверхности и наномеханических свойств микроорганизмов в физиологиче-

ских условиях без необходимости фиксации образца, создания вакуума или напыления металлами [Dorobantu, Goss, Burrell, 2012]. Поскольку нанометаллы и органические вещества воздействуют в первую очередь на клеточную оболочку бактерий, этот метод в сочетании с силовой спектроскопией можно эффективно использовать для оценки изменений поверхностных свойств клеток, подвергшихся воздействию комплексного химического стресса.

Цель настоящего исследования – изучение топографических и упруго-механических свойств клеток в биопленках *Rhodococcus ruber* при совместном воздействии на них наночастиц оксида меди в сублетальной концентрации и этоксилированного нонилфенола.

Материалы и методы

В работе использовали штамм *R. ruber* ИЭГМ 1263 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним ИЭГМ, www.iegmcol.ru). Формирование биопленок осуществляли на стерильных покровных стеклах, помещенных в колбы Эрленмейера объемом 150 мл, содержащие 50 мл бактериальной суспензии ($ОП_{600}$ = 1.0). Культивирование проводили в жидкой минеральной среде К [Каталог штаммов…, 1994], содержащей 1.0 об.% *н*-гексадекана в качестве единственного источника углерода. Инкубацию осуществляли при 28°С и 120 об/мин в течение 72 ч. Динамические условия перемешивания обеспечивали равномерную адгезию клеток к поверхности носителя и формирование стабильных биопленочных структур [Bayandina et al., 2022].

После 72 ч культивирования биопленки трижды промывали стерильным физиологическим раствором (0.9% NaCl) для удаления остатков питательной среды и *н*-гексадекана. Далее к биопленкам добавляли свежую минеральную среду К и вносили ЭНФ (рис. 1) марки Berol 09 (Akzo Nobel, Швеция) в концентрации 1.0 г/л. Выбор данной концентрации определялся ранее установленной устойчивостью коллекционных штаммов *Rhodococcus* spp. к ЭНФ [Баяндина и др., 2023], что позволило оценивать адаптационные реакции биопленок к экотоксиканту.

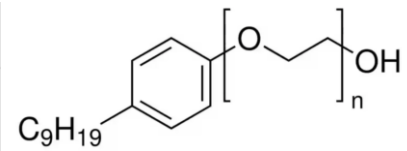


Рис. 1. Структурная формула этоксилированного нонилфенола (n = 9)
[Structural formula of ethoxylated nonylphenol (n = 9)]

Нанопорошок оксида меди (CuO) производства ООО «Эквилибриум» (Саранск, Россия) (средний размер частиц – 60–70 нм) диспергировали в фосфатном буферном растворе (PBS, pH 7.4) с последующей ультразвуковой обработкой в течение 10 мин. с использованием гомогенизатора Soniprep 150 (MSE, Великобритания). Данная процедура обеспечивала дезагрегацию частиц и получение стабильной суспензии. Эту суспензию НЧ CuO в концентрации 0.001 г/л добавляли к предварительно выращенным 72-часовым биопленкам родококков совместно с внесением ЭНФ. После внесения НЧ CuO и ЭНФ культивирование продолжали в динамических условиях при 28°С и 120 об/мин, отбор проб осуществляли на 3 сутки инкубации. Выбранная концентрация НЧ CuO (0.001 г/л) соответствовала сублетальному диапазону, не оказывающему выраженного негативного влияния на жизнеспособность клеток, как было установлено ранее [Bayandina et al., 2022; Kuyukina et al., 2025].

Морфологию поверхности и адгезивные свойства родококков в биопленках изучали с использованием атомно-силового микроскопа MFP-3D-BIO™ (Asylum Research, США), оснащенного программным обеспечением IgorPro 6.38B01 (WaveMetrics, США). Перед измерениями покровные стекла с выращенными биопленками промывали стерильным физиологическим раствором (0.9% NaCl) для удаления несвязанных (планктонных) клеток. Для удаления ЭПМ образцы дополнительно промывали сильным направленным потоком физраствора, повторяя процедуру 5–6 раз. АСМ-сканирование проводили в полуконтактном режиме на воздухе (AC Mode) с использованием кремниевого кантилевера AC240TS (Olympus, Япония) с резонансной частотой 50−90 кГц, константой жесткости 0.5−4.4 Н/м и радиусом кривизны зонда 9 нм. Скорость сканирования образцов составляла 0.5 линии/с. Анализ параметров нанорельефа биопленок проводили как на общих 3D-сканах (20×20 мкм), так и на локальных участках поверхности, соответствующих бактериальным клеткам, избегая участки ЭПМ, с использованием двумерных АСМ-изображений (на каналах высоты и амплитуды). Использовали не менее 3-х сканов одного варианта опыта. Предварительную обработку АСМ-изображений выполняли в программе Gwyddion (http://gwyddion.net). Обработку морфометрических показателей клеток и расчет параметров нанорельефа поверхности, включая среднеквадратичную шероховатость (Rq) клеточной стенки, осуществляли в программе IGOR Pro 6.37 (WaveMetrics, США).

В режиме силовой АСМ-спектроскопии оценивали силу адгезии как биопленок, так и отдельных клеток, по максимальному значению силы взаимодействия между зондом кантилевера и поверхностью об-

разца сканирования, рассчитанному на основании кривых «сила–расстояние» и выраженному в наноньютонах (нН). Использовали кремниевые кантилеверы OMCL-AC24OTS-R3 (Olympus, Япония) с константой жесткостью 2.0 Н/м и резонансной частотой 70 кГц. Измерения проводили в контактном режиме при следующих параметрах сканирования: расстояние силы – 2 мкм, скорость сканирования – 2 Гц, триггерная точка = 1 В. На основе полученных кривых «сила–расстояние» проводили расчет модуля упругости Юнга с использованием коэффициента Пуассона 0.5. Для каждого варианта опыта получали не менее 50 силовых кривых в 3-х повторностях, по которым рассчитывали средние значения силы адгезии и модуля Юнга с использованием программы IGOR Pro 6.37 (WaveMetrics, США).

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием программ PAST, Microsoft Excel 2016. Результаты представлены в виде среднего значения ± стандартного отклонения (M ± SD). Достоверность различий между экспериментальными группами оценивали с помощью непарного t-критерия Стьюдента при нормальном распределении данных и U-критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение

По данным АСМ-сканирования, нативные биопленки *R. ruber* ИЭГМ 1263 характеризовались развитой пространственной организацией и выраженной неоднородностью поверхностного рельефа (рис. 2). На АСМ-изображениях клетки сохраняли типичную палочковидную морфологию и формировали плотные многоклеточные агрегаты, объединенные ЭПМ. Трехмерные изображения (рис. 2А) выявили наличие в биопленке участков с различной высотой, характерных для клеточных агрегатов размером ~10 мкм. На двумерных изображениях отчетливо видны как индивидуальные клетки, так и элементы экзополимерного матрикса, окружающего клеточные агрегаты. Следует отметить, что воздействие ЭНФ и НЧ CuO в подобранных концентрациях не приводило к изменению интегральных топографических свойств биопленок, что подтверждает выявленную нами ранее устойчивость биопленок родококков к химическим стрессам [Баяндина и др., 2023; Kuyukina et al., 2025].

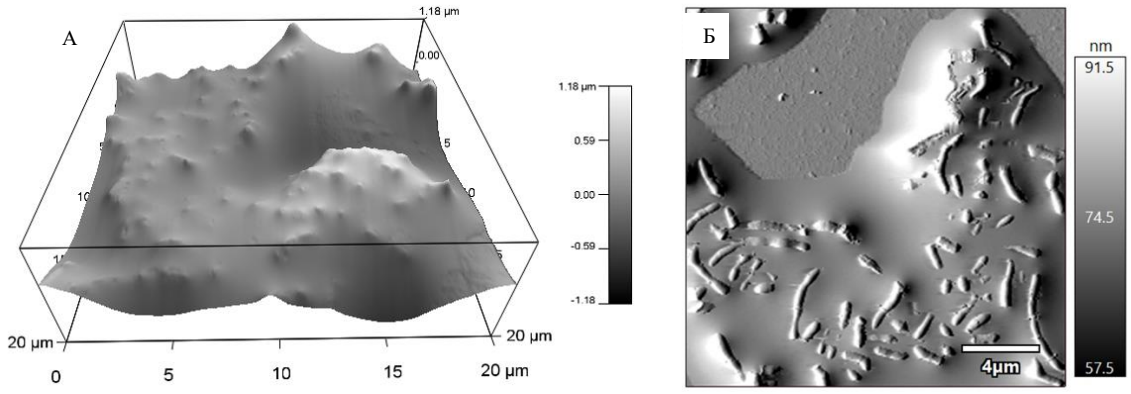


Рис. 2. АСМ-изображение биопленки *R. ruber* ИЭГМ 1263, сформированной на поверхности покровного стекла: 3D- изображение поверхности биопленки (А); 2D-изображение индивидуальных клеток на поверхности клеточных агрегатов, заключенных в ЭПМ (Б)

[AFM visualization of *R. ruber* IEGM 1263 biofilm formed on a glass coverslip: 3D-image of the biofilm surface (A); 2D-image showing cell aggregates and extracellular polymeric matrix components (Б)]

Силовое АСМ-картирование биопленки *R. ruber* ИЭГМ 1263 (рис. 3) выявило выраженную пространственную гетерогенность адгезионных свойств. Области, соответствующие ЭПМ, характеризовались высокими значениями силы адгезии (50–70 нН) и визуализировались как светлые участки на силовых картах, тогда как зоны, ассоциированные с клеточными структурами, демонстрировали существенно более низкие (10–25 нН) значения силы адгезии.

Полученные результаты согласуются с современными представлениями о ключевой роли экзополимерного матрикса в формировании поверхностных и адгезионных свойств биопленок [Flemming, Wingender, 2010]. Заметно более высокие значения силы взаимодействия в матриксных областях указывают на то, что именно ЭПМ вносит основной вклад в связывание биопленки с поверхностями и внешними объектами, тогда как вклад индивидуальных клеток является менее выраженным.

Более выраженная адгезия матриксных участков, вероятно, обусловлена присутствием гидратированных полисахаридов, белков и других макромолекулярных компонентов ЭПМ, содержащих многочисленные функциональные группы, способные участвовать в неспецифических межмолекулярных взаимодействиях. При контакте с зондом АСМ такие полимерные структуры могут формировать множественные

точки связывания и протяженные контакты, что приводит к увеличению регистрируемых адгезионных сил. Аналогичные закономерности ранее были показаны для *Rhodococcus* sp. RC291 с помощью силовой АСМ-спектроскопии [Pen et al., 2015].

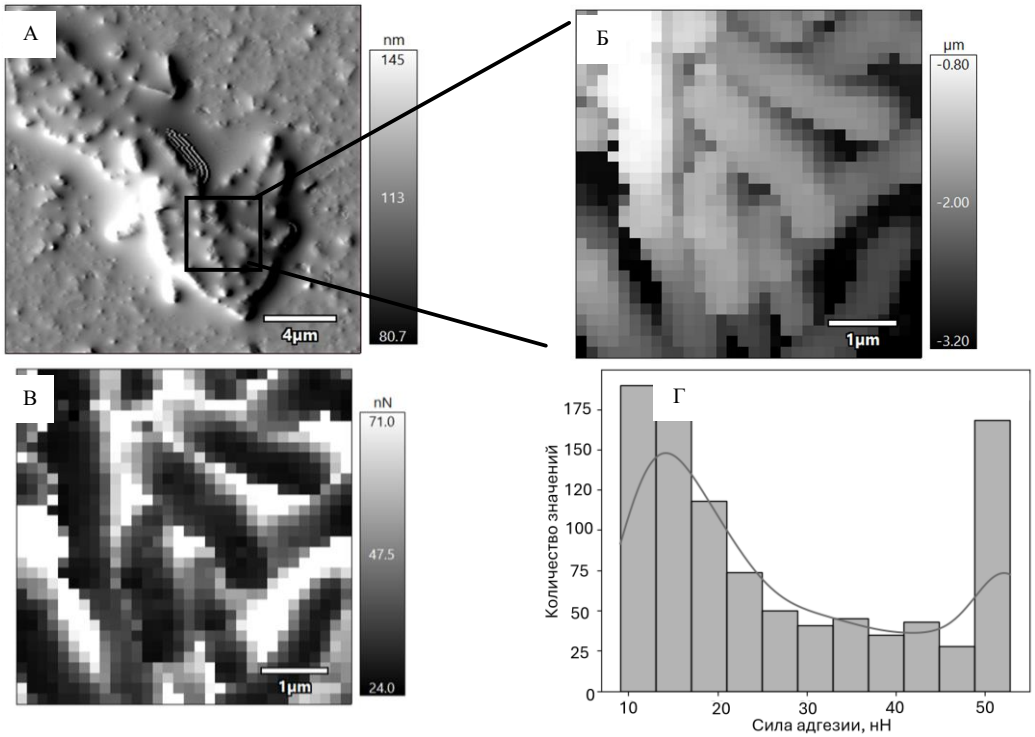


Рис. 3. Адгезионные свойства биопленки *R. ruber* ИЭГМ 1263: двумерное АСМ-изображение биопленки с выделенным участком для силового картирования (А); топографическая карта анализируемого участка поверхности на канале высоты (Б); карта распределения адгезионных сил (В); гистограмма распределения значений силы адгезии (Г): (■) – экспериментальные значения силы адгезии; (—) – сглаженные (выравненные) значения

[Adhesion properties of *R. ruber* IEGM 1263 biofilm: two-dimensional AFM image of the biofilm with a selected area for force mapping (A); AFM image of the analyzed surface area in the height channel (Б); map of the distribution of adhesive forces (B); histogram of adhesion force distribution (Г): bars (■) represent experimental adhesion force values; the dashed line (—) represents smoothed (fitted) values]

Следующей задачей было изучение топографических и упруго-механических свойств индивидуальных клеток родококков в составе биопленки при комбинированном воздействии ЭНФ и НЧ CuO. Анализ топографии поверхности клеток *R. ruber* ИЭГМ 1263 после удаления ЭПМ выявил изменения морфологии клеточной поверхности под воздействием ЭНФ (1.0 г/л) и НЧ CuO (0.001 г/л) (таблица, рис. 4). Так, в контрольных условиях клетки характеризовались относительно однородной поверхностью (рис. 4А1–А3) с невысокими средними значениями шероховатости (Rq = 2.5 ± 0.53 нм). Воздействие ЭНФ не приводило к существенному изменению данного показателя (Rq = 2.4 ± 0.87 нм), однако на АСМ-изображениях наблюдалось появление более выраженной неоднородности клеточного рельефа (рис. 4Б1–Б3).

Топографические, адгезионные и упруго-механические свойства клеток *R. ruber* ИЭГМ 1263 в составе биопленки при комплексном воздействии экотоксикантов

[Topographic, adhesive and viscoelastic properties of *R. ruber* IEGM 1263 cells in the biofilm under the combined effect of ecotoxicants]

Вариант опыта	Среднеквадратичная шероховатость, Rq, нм	Сила адгезии, нН	Модуль Юнга, МПа
Контроль	2.5 ± 0.53	5.3 ± 1.9	139 ± 79
ЭНФ (1.0 г/л)	2.4 ± 0.87	12.4 ± 4.1*	144 ± 78
ЭНФ (1.0 г/л) + НЧ CuO (0.001 г/л)	4.8 ± 0.67*	14.1 ± 5.2*	443 ± 183*

Примечание: *$p < 0,05$ по сравнению с контролем (U-критерий Манна–Уитни).

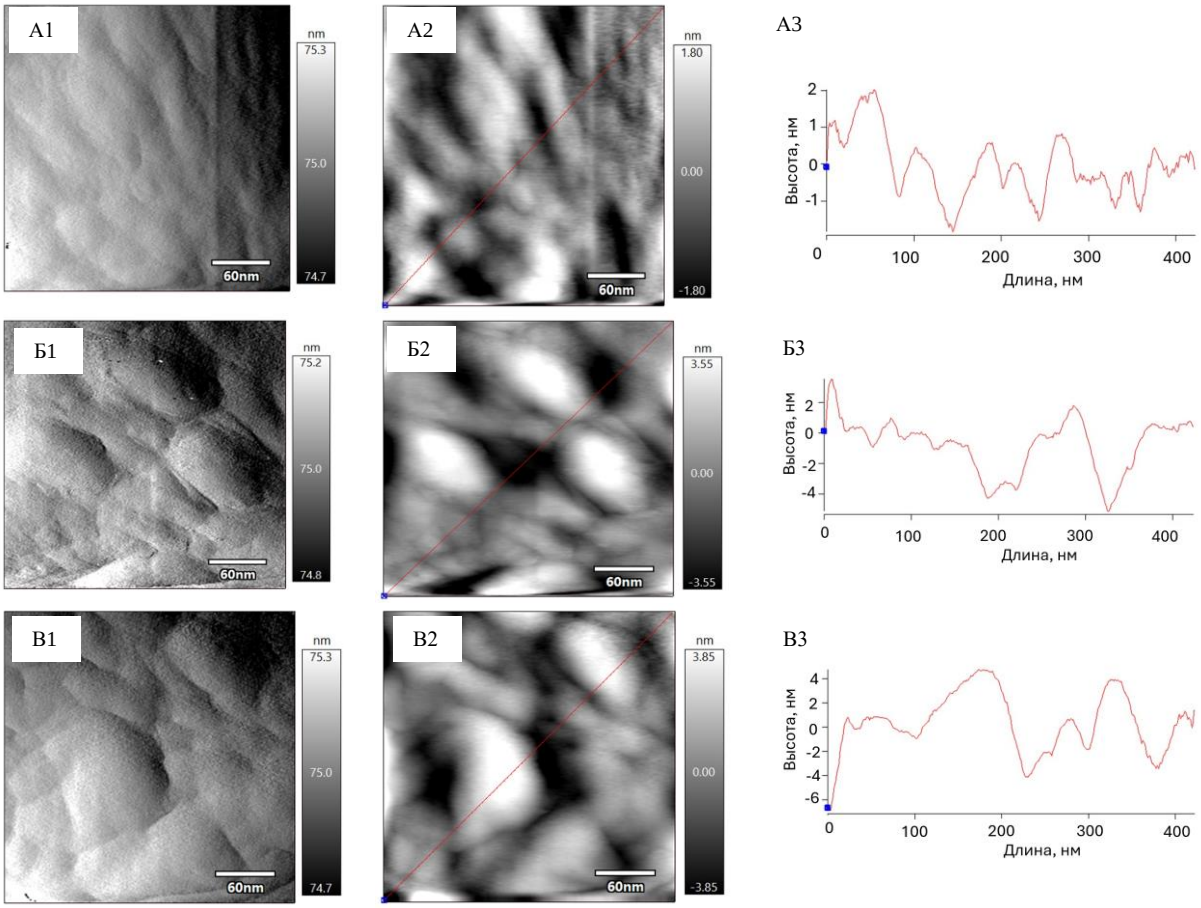


Рис. 4. Топография поверхности клеток *R. ruber* ИЭГМ 1263 в контроле (А1–А3), при воздействии 1.0 г/л ЭНФ (Б1–Б3) и при совместном воздействии 1.0 г/л ЭНФ и 0.001 г/л НЧ CuO (В1–В3). Приведены АСМ-изображения поверхности клеток на канале амплитуды (А1–В1); АСМ-изображения поверхности клеток на канале высоты (nm) с обозначенной линией профилометрии (А2–В2) и профили нанорельефа (nm) клеточной поверхности вдоль выделенной линии сканирования (А3–В3)

[Surface topography of R. *ruber* IEGM 1263 cells in the control (A1-A3), after exposure to 1.0 g/L of ENP (Б1-Б3), and after combined exposure to ENP (1.0 g/L) and CuO nanoparticles (0.001 g/L) (B1-B3). Amplitude AFM images (A1-B1), height AFM images (nm) with a marked profilometry line (A2-B2) and surface nanorelief profiles (nm) obtained along the selected scan line (A3-B3) are shown]

Наиболее заметные изменения топографии клеток были выявлены при совместном воздействии ЭНФ и НЧ CuO. В этом варианте шероховатость поверхности нанорельефа клеток возрастала почти в 2 раза по сравнению с контролем и достигала 4.8 ± 0.67 нм. Увеличение амплитуды высотных колебаний на профилях нанорельефа и появление крупных контрастных ультраструктур на картах высоты (рис. 4В1–В3) свидетельствуют о перестройке поверхностных слоев клеточной стенки под действием комбинированного стресса, вызванного органическим ксенобиотиком и наночастицами металла. Изменение шероховатости поверхности сопровождалось ростом адгезионной способности клеток: в присутствии ЭНФ сила адгезии увеличивалась от 5.3 ± 1.9 до 12.4 ± 4.1 нН, а при добавлении НЧ CuO достигала 14.1 ± 5.2 нН (таблица).

Рассчитанные по данным силовой спектроскопии значения модуля упругости Юнга, характеризующего жесткость клеточной стенки, практически не отличались для контрольных и растущих в присутствии ЭНФ клеток (139 ± 79 МПа и 144 ± 78 МПа соответственно). Однако при совместном воздействии ЭНФ и НЧ CuO наблюдалось его статистически значимое увеличение в 3.2 раза по сравнению с контролем (таблица). Ранее нами было показано, что модуль упругости клеток *R. ruber* ИЭГМ 231 снижался пропорционально концентрации воздействующих наночастиц никеля при 0.01–0.1 г/л и затем удваивался при максимальной концентрации 1.0 г/л параллельно с увеличением силы адгезии [Kuyukina, Glebov, Ivshina, 2022]. Однако в другом исследовании [Zhang et al., 2012] обработка клеток *Escherichia coli* наночастицами гематита повышала жесткость клеток и способствовала появлению множества адгезивных участков на поверхности.

С целью детального изучения адаптационных изменений адгезионных характеристик родококков под воздействием комплексного химического стресса выполнено силовое картирование локальных участков поверхности индивидуальной клетки (рис. 5). На полученных картах адгезии визуализировались участки с повышенными значениями силы взаимодействия (светлые области), чередующиеся с зонами пониженной адгезии (темные области). В контрольных условиях поверхность клетки характеризовалась относительно низкими (5–6 нН) и равномерно распределенными значениями силы адгезии (рис. 5А1–А3), что соответствовало гладкому рельефу клеточной стенки (рис. 4А1–В1).

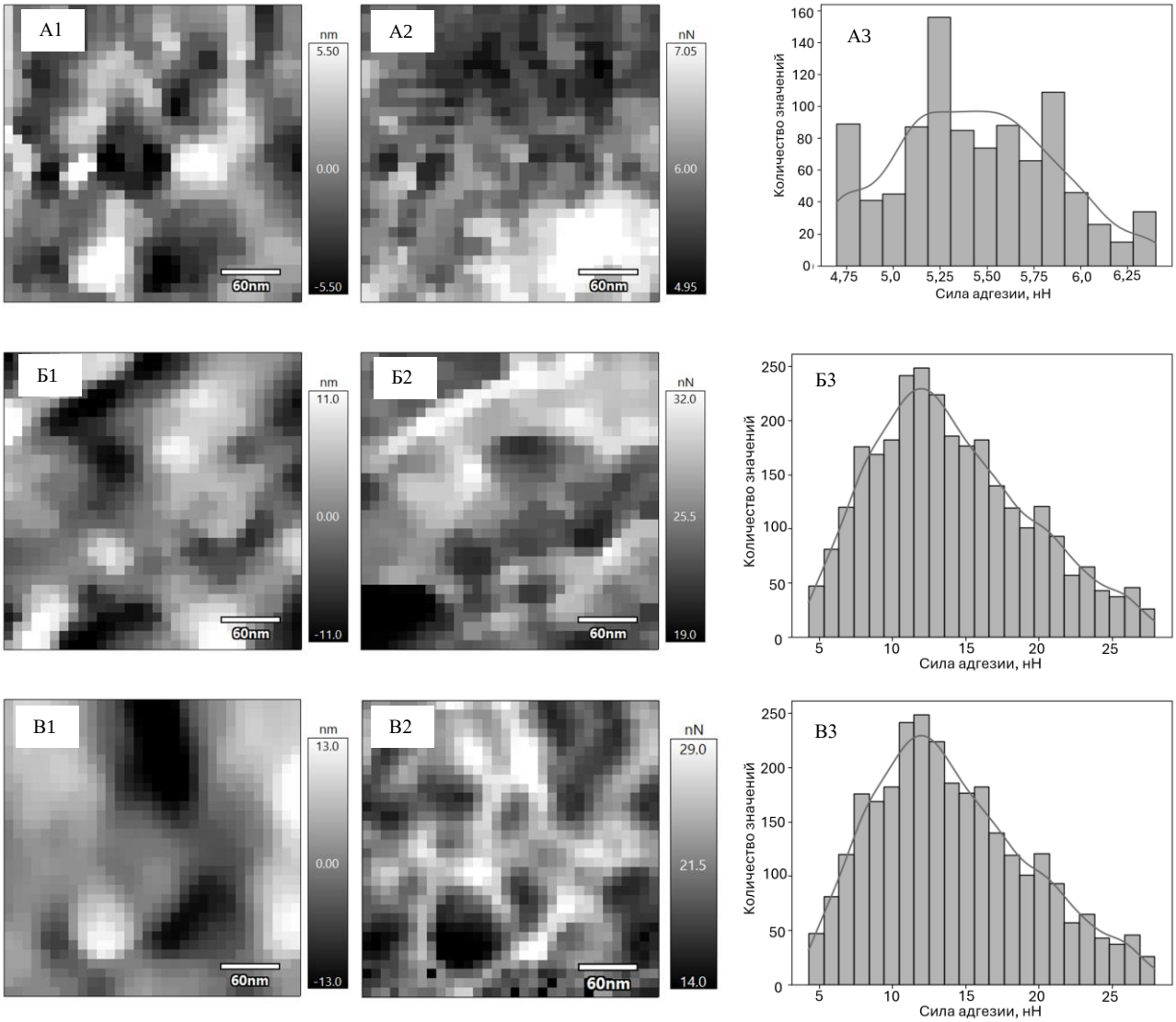


Рис. 5. Распределение адгезионных сил на выбранном участке поверхности клетки *R. ruber* ИЭГМ 1263, отмытой от экзополимерного матрикса, в контроле (А1–А3); при воздействии 1.0 г/л ЭНФ (Б1–Б3); при совместном воздействии 1.0 г/л ЭНФ и 0.001 г/л НЧ CuO (В1–В3). Приведены топографические карты анализируемого участка поверхности на канале высоты (А1–В1); карты адгезии данного участка (А2–В2) и гистограммы распределения значений силы адгезии (А3–В3): (■) – экспериментальные значения силы адгезии; (—) – сглаженные (выравненные) значения

[Distribution of adhesion forces on the selected surface area of a *Rhodococcus ruber* IEGM 1263 cell washed from the extracellular polymeric matrix, in control (A1–A3), after exposure to 1.0 g/L of ENP (Б1–Б3) and after combined exposure to ENP (1.0 g/L) and CuO nanoparticles (0.001 g/L) (B1–B3). Topographic maps of the analyzed surface area on the height channel (A1-B1) are presented, as well as the adhesion maps of this area (A2-B2) and the histograms of adhesion force distribution (A3–B3): bars (■) represent experimental adhesion force values; the dashed line represents smoothed (fitted) values]

Воздействие ЭНФ (1.0 г/л) приводило к увеличению силы адгезии до 10–25 нН. Одновременно наблюдалась более выраженная неоднородность распределения адгезионных взаимодействий и появле-

ние высокоадгезивных (до 27–32 нН) участков, что может быть связано с изменением организации поверхностных структур клеточной стенки и перераспределением компонентов наружного клеточного слоя (рис. 5Б1–Б3).

При совместном воздействии ЭНФ (1.0 г/л) и НЧ CuO (0.001 г/л) значения силы адгезии оставались повышенными по сравнению с контролем и составляли 7.5–20 нН. При этом диапазон распределения адгезионных сил был несколько у́же по сравнению с вариантом только в присутствии ЭНФ, что свидетельствует о снижении пространственной неоднородности поверхностных свойств клеток (рис. 5В1–В3).

Сопоставление полученных топографических (рис. 5А1–В1) и силовых (рис. 5А2–В2) карт выявило обратную зависимость между высотой рельефа и силой адгезии во всех экспериментальных группах. В контрольных клетках эта связь была слабой ($r=-0.29$; $p < 0.01$), что соответствовало относительно гладкой поверхности и равномерному распределению адгезионных сил. При воздействии ЭНФ коэффициент корреляции также был незначительным ($r = -0.25$; $p < 0.01$), но участки с выраженным возвышением рельефа характеризовались низкой степенью адгезии, в то время как в углублениях клеточной стенки адгезия оставалась высокой (рис. 5Б1–Б2). Сильная обратная корреляция ($r=-0.49$; $p<0.01$) зафиксирована при комбинированном воздействии ЭНФ и НЧ CuO, при этом наиболее высокие участки клеточной поверхности характеризовались минимальными значениями силы адгезии (рис. 5В1–В2).

Ранее было показано [Bendinger et al., 1993], что наличие и длина цепи миколовых кислот у коринеформных бактерий определяют гидрофобность клеточной поверхности и влияют на их адгезию к гидрофильным поверхностям, включая стекло. Для родококков характерны миколовые кислоты с большей длиной углеродной цепи (C_{35}–C_{64}) по сравнению с коринебактериями (C_{20}–C_{36}), что определяет высокую гидрофобность их клеточной стенки [Ившина, Криворучко, Куюкина, 2019]. По-видимому, повышенные участки клеточной поверхности (выступы), на которых экспонируются данные соединения, отвечают за адгезию к гидрофобным поверхностям и менее способны к взаимодействию с гидрофильным стеклом.

Напротив, адгезивные белки и полисахариды, локализованные во впадинах рельефа клеточной стенки, а также являющиеся основными компонентами ЭПМ, опосредуют эффективную адгезию родококков к гидрофильным поверхностям [Krivoruchko, Nurieva, Ivshina, 2026]. Следовательно, увеличение шероховатости клеток при совместном воздействии ЭНФ и НЧ CuO, приводящее к повышению адгезионной активности, определяется сложной перестройкой липидных (гидрофобных) и белково-полисахаридных (гидрофильных) компонентов клеточной стенки, что требует дальнейшего исследования.

Выявленное увеличение силы адгезии клеток в биопленках *R. ruber* ИЭГМ 1263 под воздействием умеренного комплексного химического стресса согласуются с данными о стимулирующем эффекте низких доз нанометаллов на биопленкообразование у родококков [Miao et al., 2019; Bayandina et al., 2022; Kuyukina et al., 2025]. Повышение адгезивной активности биопленочных форм бактерий при совместном воздействии ЭНФ и НЧ CuO может быть связано с индукцией синтеза компонентов ЭПМ, прежде всего полисахаридов и белков, что ранее было показано для *R. ruber* при стрессе, вызванном НЧ CuO [Bayandina et al., 2022]. Таким образом, сублетальные концентрации НЧ CuO (0.001 г/л) не только не подавляют, но и усиливают адгезивный потенциал биопленок родококков в присутствии токсичного ЭНФ, что может иметь значение для разработки иммобилизованных биокаталитических систем для использования в экобиотехнологиях.

Заключение

Полученные с помощью атомно-силовой микроскопии результаты демонстрируют, что сублетальная (0.001 г/л) концентрация НЧ CuO способствует существенной модификации структурно-функциональных характеристик биопленок *Rhodococcus ruber* в условиях воздействия этоксилированного нонилфенола. При этом наблюдалась перестройка нанорельефа клеточной поверхности и ЭПМ, сопровождавшаяся усилением шероховатости, повышением силы адгезии и модуля упругости Юнга, а также обнаруженной обратной корреляцией между высотой рельефа клеточной стенки и адгезивной активностью. Выявленные изменения могут рассматриваться как адаптационный механизм, обеспечивающий повышение устойчивости биопленочного сообщества к комбинированному действию экотоксикантов. Полученные данные дополняют представления о взаимодействии НЧ металлов и органических ПАВ с микробными биопленками и представляют интерес для разработки биотехнологических подходов в области нанобиоремедиации.

Список источников

1. Баяндина Е.А и др. Устойчивость коллекционных штаммов родококков к воздействию экотоксиканта – этоксилированного нонилфенола // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2023. Вып. 4. С. 337–348. DOI: 10.17072/1994-9952-2023-4-337-348. EDN: EGMVIP.

2. Ившина И.Б. и др. Актиномицеты *Rhodococcus ruber* – ключевые и универсальные биоокислители газообразных алканов C_2-C_4 // Микробиология. 2025. Т. 94, № 1. С. 3–32. DOI: 10.7868/S3034546425010019. EDN: HEPVUL.

3. Ившина И.Б., Криворучко А.В., Куюкина М.С. Биоразнообразие и систематика микроорганизмов: учеб. пособие. Пермь, 2019. 304 с.

4. Каталог штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов / под ред. И.Б. Ившиной. М.: Наука, 1994. 163 с.

5. Bayandina E.A. et al. Resistance of *Rhodococcus ruber* biofilms to CuO nanoparticles depending on exopolymer matrix composition // Acta Biomedica Scientifica. 2022. Vol. 7, № 5-1. P. 100–109. DOI: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.11. EDN: OSIPVT.

6. Bendinger B. et al. Physicochemical cell surface and adhesive properties of coryneform bacteria related to the presence and chain length of mycolic acids // Applied and Environmental Microbiology. 1993. Vol. 59, № 11. P. 3973–3977. DOI: 10.1128/aem.59.11.3973-3977.1993.

7. Corvini P.F., Schäffer A., Schlosser D. Microbial degradation of nonylphenol and other alkylphenols – our evolving view // Applied Microbiology and Biotechnology. 2006. Vol. 72, № 2. P. 223–243. DOI: 10.1007/s00253-006-0476-5. EDN: GJQHVS.

8. Dorobantu L.S., Goss G.G., Burrell R E. Atomic force microscopy: a nanoscopic view of microbial cell surfaces // Micron. 2012. Vol. 43, № 12. P. 1312–1322. DOI: 10.1016/j.micron.2012.05.005. EDN: MIGXEQ.

9. Flemming H.-C., Wingender J. The biofilm matrix // Nature Reviews Microbiology. 2010. Vol. 8. P. 623–633. DOI: 10.1038/nrmicro2415.

10. Ikuma K., Decho A.W., Lau B.L.T. When nanoparticles meet biofilms – interactions guiding the environmental fate and accumulation of nanoparticles // Frontiers in Microbiology. 2015. Vol. 6. Art. 591. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00591.

11. Krivoruchko A., Nurieva D., Ivshina I. Extracellular polymeric substances produced by actinomycetes of the genus *Rhodococcus* for biomedical and environmental applications // International Journal of Molecular Sciences. 2026. Vol. 25, № 1. Art. 498. DOI: 10.3390/ijms25010498. EDN: IAZEDR.

12. Kuyukina M.S., Bayandina E.A., Ivshina I.B. Interactions of microbial biofilms with metal nanoparticles in the context of bioremediation // Folia Microbiologica. 2026. DOI: 10.1007/s12223-026-01459-5. EDN: VSREKR.

13. Kuyukina M.S. et al. Adaptations of *Rhodococcus rhodochrous* biofilms to oxidative stress induced by copper(II) oxide nanoparticles // Langmuir. 2025. Vol. 41, № 2. P. 1356–1367. DOI: 10.1021/acs.langmuir.4c03987. EDN: TKAQSJ.

14. Kuyukina M.S., Glebov G.G., Ivshina, I.B. Effects of Nickel nanoparticles on *Rhodococcus* cell surface morphology and nanomechanical properties // Nanomaterials. 2022. Vol. 12. Art. 951. DOI: 10.3390/nano12060951. EDN: GJWADT.

15. Lu D. et al. Behavioral disorders caused by nonylphenol and strategies for protection // Chemosphere. 2021. Vol. 275. Art. 129973. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.129973. EDN: ZHJTSA.

16. Lu J. et al. Biodegradation of nonylphenol ethoxylates by *Bacillus* sp. LY capable of heterotrophic nitrification // FEMS Microbiology Letters. 2008. Vol. 280, № 1. P. 28–33. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2007.01039x.

17. Miao L. et al. Low concentrations of copper oxide nanoparticles alter microbial community structure and function of sediment biofilms // Science of the Total Environment. 2019. Vol. 653. P. 705–713. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.10.354.

18. Mishra S. et al. Biofilm-mediated bioremediation is a powerful tool for the removal of environmental pollutants // Chemosphere. 2022. Vol. 294. Art. 133609. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2022.133609. EDN: RDXSCZ.

19. Pen Y. et al. Effect of extracellular polymeric substances on the mechanical properties of *Rhodococcus* // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes. 2015. Vol. 1848, iss. 2. P. 518–526. DOI: 10.1016/j.bbamem.2014.11.007. EDN: URKWKF.

20. Servos M.R. Review of the aquatic toxicity, estrogenic responses and bioaccumulation of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates // Water Quality Research Journal. 1999. Vol. 34, № 1. P. 123–178. DOI: 10.2166/wqrj.1999.005.

21. Xu W. et al. Unveiling the occurrence, ecotoxicity, risks, and removal of major nonylphenol ethoxylate alternatives in the aquatic environment // ACS ES&T Water. 2026. Vol. 6(4). P. 2033–2046. DOI: 10.1021/acsestwater.5c01293. EDN: HHSRWM.

22. Zhang J. et al. Biotransformation of nonylphenol ethoxylates during sewage treatment under anaerobic and aerobic conditions // Journal of Environmental Sciences (China). 2008. Vol. 20, № 2. P. 135–141. DOI: 10.1016/s1001-0742(08)60021-2.

23. Zhang W., Hughes J., Chen Y. Impacts of hematite nanoparticle exposure on biomechanical, adhesive, and surface electrical properties of *Escherichia coli* cells // Appl. Environ. Microbiol. 2012, Vol. 78, № 11. P. 3905–3915. DOI: 10.1128/AEM.00193-12. EDN: RIZMDT.

References

1. Bayandina E.A., Pozdeeva A.V., Kuyukina M.S., Ivshina I.B. [Resistance of collection strains of rhodococci to the ecotoxicant ethoxylated nonylphenol]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 4 (2023): pp. 337-348. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2023-4-337-348. EDN: EGMVIP.

2. Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Krivoruchko A.V., Tyumina E.A. The *Rhodococcus ruber* actinomycetes – key and universal biooxidizers of C2–C4 gaseous alkanes. *Microbiology*. V. 94, No. 1 (2025): pp. 3-32. (In Russ,). DOI: 10.7868/S3034546425010019. EDN: HEPVUL.

3. Ivshina I.B., Krivoruchko A.V., Kuyukina M.S. *Bioraznoobrazie i sistematika mikroorganizmov* [Biodiversity and Systematics of Microorganisms: Textbook]. Perm: Perm State University Publ., 2019. 304 p.

4. Ivshina I.B. (ed.) *Katalog štammov Regional'noj profilirovannoj kollekcii alkanotrofnyh mikroorganizmov* [Catalogue of strains of the Regional Profiled Collection of Alkanotrophic Microorganisms]. Moscow, Nauka Publ., 1994. 163 p. (In Russ.). EDN: OSIPVT.

5. Bayandina E.A., Glebov G.G., Kuyukina M.S., Ivshina I.B. Resistance of *Rhodococcus ruber* biofilms to CuO nanoparticles depending on exopolymer matrix composition. *Acta Biomedica Scientifica*. 2022. Vol. 7, No. 5-1. P. 100-109. DOI: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.11.

6. Bendinger B., Rijnaarts H.H.M., Altendorf K., Zehnder A.J.B. Physicochemical cell surface and adhesive properties of coryneform bacteria related to the presence and chain length of mycolic acids. *Applied and Environmental Microbiology*. V. 59, No. 11 (1993): pp. 3973-3977. DOI: 10.1128/aem.59.11.3973-3977.1993

7. Corvini P.F., Schäffer A., Schlosser D. Microbial degradation of nonylphenol and other alkylphenols – our evolving view. *Applied Microbiology and Biotechnology*. V. 72, No. 2 (2006): pp. 223-243. DOI: 10.1007/s00253-006-0476-5. EDN: GJQHVS.

8. Dorobantu L.S., Goss G.G., Burrell R E. Atomic force microscopy: a nanoscopic view of microbial cell surfaces. *Micron*. V. 43, No. 12 (2012): pp. 1312-1322. DOI: 10.1016/j.micron.2012.05.005. EDN: MIGXEQ.

9. Flemming H.-C., Wingender J. The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*. V. 8 (2010): pp. 623-633. DOI: 10.1038/nrmicro2415.

10. Ikuma K., Decho A.W., Lau B.L.T. When nanoparticles meet biofilms – interactions guiding the environmental fate and accumulation of nanoparticles. *Frontiers in Microbiology*. V. 6 (2015). Art. 591. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00591.

11. Krivoruchko A., Nurieva D., Ivshina I. Extracellular polymeric substances produced by actinomycetes of the genus *Rhodococcus* for biomedical and environmental applications. *International Journal of Molecular Sciences*. V. 25, No. 1 (2026). Art. 498. DOI: 10.3390/ijms25010498. EDN: IAZEDR.

12. Kuyukina M.S., Bayandina E.A., Ivshina I.B. Interactions of microbial biofilms with metal nanoparticles in the context of bioremediation. *Folia Microbiologica*. (2026). DOI: 10.1007/s12223-026-01459-5. EDN: VSREKR.

13. Kuyukina M.S., Bayandina E.A., Kostrikina N.A., Sorokin V.V., Mulyukin A.L., Ivshina I.B. Adaptations of *Rhodococcus rhodochrous* biofilms to oxidative stress induced by copper(II) oxide nanoparticles. *Langmuir*. V. 41, No. 2 (2025): pp. 1356-1367. DOI: 10.1021/acs.langmuir.4c03987. EDN: TKAQSJ.

14. Kuyukina M.S., Glebov G.G., Ivshina, I.B. Effects of Nickel nanoparticles on *Rhodococcus* cell surface morphology and nanomechanical properties. *Nanomaterials*. V. 12 (2022). Art. 951. DOI: 10.3390/nano12060951. EDN: GJWADT.

15. Lu D., Yu L., Li M., Zhai Q., Tian F., Chen W. Behavioral disorders caused by nonylphenol and strategies for protection. *Chemosphere*. V. 275 (2021). Art. 129973. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.129973. EDN: ZHJTSA.

16. Lu J., Jin Q., He Y., Wu J., Zhao J. Biodegradation of nonylphenol ethoxylates by *Bacillus* sp. LY capable of heterotrophic nitrification. *FEMS Microbiology Letters*. V. 280, No. 1 (2008): pp. 28-33. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2007.01039x.

17. Miao L., Wang P., Hou J., Yao Y., Liu Z., Liu S. Low concentrations of copper oxide nanoparticles alter microbial community structure and function of sediment biofilms. *Science of the Total Environment*. V. 653 (2019): pp. 705-713. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.10.354.

18. Mishra S., Huang Y., Li J., Wu X., Zhou Z., Lei Q., Bhatt P., Chen S. Biofilm-mediated bioremediation is a powerful tool for the removal of environmental pollutants. *Chemosphere*. V. 294 (2022). Art. 133609. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2022.133609. EDN: RDXSCZ.

19. Pen Y., Zhang Z.J., Morales-García A.L., Mears M., Tarmey D.S., Edyvean R.G., Banwart S.A., Geoghegan M. Effect of extracellular polymeric substances on the mechanical properties

of *Rhodococcus*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. V. 1848, Iss. 2 (2015): pp. 518-526. DOI: 10.1016/j.bbamem.2014.11.007. EDN: URKWKF.

20. Servos M.R. Review of the aquatic toxicity, estrogenic responses and bioaccumulation of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates. *Water Quality Research Journal*. V. 34, No. 1 (1999): pp. 123-178. DOI: 10.2166/wqrj.1999.005.

21. Xu W., Guo J., Weng H., Tang M., Kong H., Tong Y., Cheng J., Qu C., Yu H., Shi W. Unveiling the occurrence, ecotoxicity, risks, and removal of major nonylphenol ethoxylate alternatives in the aquatic environment. *ACS ES&T Water*. V. 6, No. 4 (2026): pp. 2033-2046. DOI: 10.1021/acsestwater.5c01293. EDN: HHSRWM.

22. Zhang J., Yang M., Zhang Y., Chen M. Biotransformation of nonylphenol ethoxylates during sewage treatment under anaerobic and aerobic conditions. *Journal of Environmental Sciences (China)*. V. 20, No. 2 (2008): pp. 135-141. DOI: 10.1016/s1001-0742(08)60021-2.

23. Zhang W., Hughes J., Chen Y. Impacts of hematite nanoparticle exposure on biomechanical, adhesive, and surface electrical properties of *Escherichia coli* cells. *Appl. Environ. Microbiol*. V. 78, No. 11 (2012): pp. 3905-3915. DOI: 10.1128/AEM.00193-12. EDN: RIZMDT.

Статья поступила в редакцию 24.06.2026; одобрена после рецензирования 25.08.2026; принята к публикации 06.10.2026.
The article was submitted 24.06.2026; approved after reviewing 25.08.2026; accepted for publication 06.10.2026.

Информация об авторах
Е. А. Баяндина – elenabaiandinapsu@gmail.com, аспирант, инженер-исследователь *Rhodococcus*-центра;
М. С. Куюкина – kuyukina@iegm.ru, д-р биол. наук, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ПГНИУ; ведущий научный сотрудник;
И. Б. Ившина – ivshina@iegm.ru, д-р биол. наук, профессор, академик РАН, профессор кафедры микробиологии и иммунологии; заведующая лабораторией Института экологии и генетики микроорганизмов.
Information about the authors
E. A. Bayandina – elenabaiandinapsu@gmail.com, Postgraduate Student, Research Engineer, Rhodococcus-Centre, Perm State University. Department of Microbiology and Immunology, Perm State University;
M. S. Kuyukina – kuyukina@iegm.ru, Dr. Sc. (Biol.), Professor at the Department of Microbiology and Immunology, Perm State University; Leading Research Officer, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences;
I. B. Ivshina – ivshina@iegm.ru, Dr. Sc. (Biol.), Professor, Academician of RAS, Professor at the Department of Microbiology and Immunology, Perm State University; Head of the Laboratory, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences.

Вклад авторов:
Баяндина Е. А. – написание исходного текста; методология; статистическая обработка материала; выводы.
Куюкина М. С. – научное руководство; развитие методологии; написание исходного текста; итоговые выводы.
Ившина И. Б. – концептуализация исследования; редактирование текста.
Contribution of the authors:
Bayandina E. A. – writing the draft; methodology; statistical processing of the material; conclusions.
Kuyukina M. S. –scientific management; research concept; methodology development; writing the draft; final conclusions;
Ivshina I. B. – conceptualization of research; text editing.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interests.