Вестник Пермского университета. Серия Биология. 2023. Вып. 4. С. 337–348. Bulletin of Perm University. Biology. 2023. Iss. 4. P. 337–348.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579:873:579.222.2

doi: 10.17072/1994-9952-2023-4-337-348

Устойчивость коллекционных штаммов родококков к воздействию экотоксиканта — этоксилированного нонилфенола

Елена Александровна Баяндина $^{1 \boxtimes}$, Анастасия Владимировна Поздеева 2 , Мария Станиславовна Куюкина $^{3, \, 5}$, Ирина Борисовна Ившина $^{4, \, 6}$

- ^{1–4} Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия
- ^{5, 6} Институт экологии и генетики микроорганизмов ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия
- ^{1⊠} elenabaiandinapsu@gmail.com
- ² pozdeeva07@gmail.com
- 3,5 kuyukina@iegm.ru
- 4, 6 ivshina@iegm.ru

Аннотация. Этоксилированный нонилфенол (ЭНФ) — широко применяемый поверхностно-активный агент, относящийся к наиболее распространенным ксеноэстрогенам — гормоноподобным ксенобиотикам, накопление которых в окружающей среде оказывает негативное воздействие на эндокринную систему животных и человека, повышая тем самым уровень экологического риска. Естественные процессы биодеградации ЭНФ затруднены вследствие его высокой токсичности для водных и почвенных микроорганизмов, что требует поиска устойчивых штаммов-биодеструкторов данного экополлютанта. В работе выполнен скрининг 50 штаммов актинобактерий рода *Rhodococcus* из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, http://www.iegmcol.ru) по устойчивости к ЭНФ и изучено воздействие ксенобиотика на динамику формирования биопленок родококков. Отобраны устойчивые к высоким (МИК > 125 г/л) концентрациям ЭНФ штаммы *R. ruber* ИЭГМ 615, ИЭГМ 1263, *R. rhodochrous* ИЭГМ 655, выделенные из нефтезагрязненных экосистем. Показано, что длительное (до 72 ч.) культивирование биопленок *R. ruber* ИЭГМ 71 в присутствии 15 г/л ЭНФ способствовало увеличению адгезивной активности клеток и синтезу экзополимерного матрикса, играющего основную роль в защите бактерий от токсичного воздействия ЭНФ. Полученные данные раскрывают потенциал родококков для детоксикации ксеноэстрогенов из группы алкилированных фенолов, что может быть использовано при разработке биотехнологических методов очистки окружающей среды от данных экотоксикантов.

Ключевые слова: биоремедиация, *Rhodococcus*, этоксилированный нонилфенол, устойчивость, минимальная ингибирующая концентрация, биопленки, КЛСМ

Для цитирования: Устойчивость коллекционных штаммов родококков к воздействию экотоксиканта — этоксилированного нонилфенола / Е. А. Баяндина, А. П. Поздеева, М. С. Куюкина, И. Б. Ившина // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2023. Вып. 4. С. 337–348. http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-4-337-348.

Благодарности: работа выполнена в рамках госзаданий 123041400034-2, 122010800029-1 и поддержана грантом МИГ С-26/827. Использовано оборудование ЦКП «Специализированный кабинет атомносиловой и конфокальной микроскопии» ПГНИУ и ЦКП «Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов» ПФИЦ УрО РАН.

MICROBIOLOGY

Original article

Resistance of *Rhodococcus* collection strains to the effects of ecotoxicant – ethoxylated nonylphenol

Elena A. Bayandina $^{1\boxtimes}$, Anastasia V. Pozdeeva 2 , Maria S. Kuyukina $^{3,\,5}$, Irena B. Ivshina $^{4,\,6}$

- ^{1–4} Perm State University, Perm, Russia
- ^{5, 6}Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms PFRC of the Ural Branch RAS, Perm, Russia
- $^{1 \boxtimes}$ elenabaiandinapsu@gmail.com
- ² pozdeeva07@gmail.com
- 3,5 kuyukina@iegm.ru

337

4,6 ivshina@iegm.ru

Abstract. Ethoxylated nonylphenol (ENP), a widely used surfactant, is one of the most common xenoestrogens, hormone—like xenobiotics, the accumulation of which in the environment has a negative impact on the endocrine system of animals and humans, thereby increasing the level of environmental risk. Natural processes of ENP biodegradation are hindered due to its high toxicity to soil and aquatic microorganisms, which requires the selection of resistant strains-biodegraders of this ecopolutant. The screening of 50 strains of actinobacteria of the genus Rhodococcus from the Regional Specialised Collection of Alkanotrophic Microorganisms (acronym IEGM, http://www.iegmcol.ru) on resistance to ENP and the effect of xenobiotics on the dynamics of the formation of rhodococcal biofilms was studied. The strains R. ruber IEGM 615, 1263, and R. rhodochrous IEGM 655, isolated from oil-polluted ecosystems, resistant to high (MIC> 125 g/l) concentrations of ENP, were selected. It has been shown that long-term (up to 72 h) cultivation of R. ruber IEGM 71 biofilms in the presence of 15 g/l ENP contributed to an increase in the adhesive activity of cells and the synthesis of an exopolymer matrix, which plays a major role in protecting bacteria from the toxic effects of ENP. The obtained data reveal the potential of rhodococci for detoxification of xenoestrogens from the group of alkylated phenols, what can be used in the development of biotechnological methods of environmental purification from these ecotoxicants.

Keywords: bioremediation, *Rhodococcus*, ethoxylated nonylphenol, resistance, minimum inhibitory concentration, biofilms, CLSM

For citacion: Bayandina E. A., Pozdeeva A. V., Kuyukina M. S., Ivshina I. B. [Resistance of collection strains of *Rhodococcus* to the effects of ecotoxicant – ethoxylated nonylphenol]. *Bulletin of Perm University*. *Biology*. Iss. 4 (2023): pp. 337-348. (In Russ.). http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-4-337-348.

Acknowledgments: the work was carried out within the framework of state tasks 123041400034-2, 122010800029-1 and supported by the MIG C-26/827 grant. 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

Этоксилаты нонилфенола широко используются в различных отраслях промышленности в качестве поверхностно-активных веществ, эмульгаторов, смачивающих и диспергирующих веществ, а также солюбилизаторов [Quina, Hinze, 1999; Materna et al., 2001; Dong, Hao, 2010; Negin, Ali, Xie, 2017; Priac et al., 2017]. Попадая в окружающую среду со сточными водами, этоксилированный нонилфенол (ЭНФ) и продукты его разложения оказывают негативное воздействие на представителей флоры и фауны, что связано с их способностью выступать как эстрогены и нарушать гормональный баланс у живых организмов [Ferguson et al., 2003]. Эти соединения могут накапливаться в тканях организмов и вызывать изменения в репродуктивной системе, гормональные нарушения, воздействуя на иммунную, нервную системы, проявляя токсичность для экосистемы в целом. Поэтому контроль, ограничение использования и распространения ЭНФ являются важными мерами для защиты окружающей среды и сохранения биологического разнообразия [Kovalchuk et al., 2007; Fucic et al., 2012; Shen et al., 2016; Ademollo et al., 2018; Petrick et al., 2020; Seralini, Jungers, 2021]. В почве и воде ЭНФ подвергается частичной деградации и превращается в нонилфенол, который может длительно существовать в различных изомерных формах [White, 1993; Eganhouse et al., 2009; Lu, Gan, 2014; Korsman et al., 2015; Peng et al., 2023].

Процессы биодеградации ЭНФ и нонилфенола описаны для некоторых родов бактерий, в частности *Acidovorax, Bacillus, Klebsiella, Pseudomonas, Sphingomonas* и *Stenotropomonas* [Soares et al., 2003; Corvini et al., 2004; Yuan, Yu, Chang, 2004; Watanabe et al., 2012; Ruiz et al., 2013], а также грибов *Rhodotorula* [Wu, Qiu, 2011] и *Metarhizium* [Różalska et al., 2015]. Некоторые исследователи изучали деградацию алкилфенолов природными сообществами загрязненных почв [Kim, Kwak, An, 2019], речных отложений [Cladière et al., 2014], смешанными микробными популяциями в биореакторах [Buitrón, Torres-Bojorges, Cea-Barcia, 2015; Ferrer-Polonio et al., 2022] и очистных сооружениях [Lara-Moreno et al., 2022]. При этом показано [Кузикова и др., 2019], что естественные процессы биодеградации ЭНФ затруднены вследствие его высокой токсичности для водных и почвенных микроорганизмов.

Актинобактерии рода *Rhodococcus* характеризуются широким спектром деградируемых соединений, включая алифатические и ароматические углеводороды, галогенированные и азотсодержащие производные, а также органические растворители, пестициды, фармполютанты, гормоны и средства личной гигиены [Ivshina et al., 2012; Krivoruchko, Kuyukina, Ivshina, 2019, Nazari et al., 2022, Tian et al., 2022]. Родококки способны к формированию биопленок, состоящих из бактериальных клеток и ассоциированного с ними экзополимерного матрикса (ЭПМ), образованного полисахаридами, белками и липидами и играющего важную роль в защите клеток от воздействия токсичных факторов [Ваyandina et al., 2022]. Следует отметить, что формирование биопленок является преимущественным способом существования микроорганизмов в окружающей среде, который обеспечивает защиту клеток от физико-химических и биологических воздействий, тем самым позволяя им выживать в стрессовой среде [Flemming, Wuertz,

2019]. В литературе описан процесс разложения 17β-эстрадиола клетками *Rhodococcus equi* DSSKP-R-001 [Wang, 2019], однако биодеградация других ксеноэстрогенов родококками ранее не исследовалась.

Цель работы — изучение влияния ЭНФ на жизнеспособность актинобактерий рода *Rhodococcus* в планктонной культуре и в составе биопленок, а также отбор устойчивых коллекционных штаммов для возможного применения в технологиях очистки окружающей среды от токсичных ксеноэстрогенов.

Материалы и методы

Бактериальные культуры и условия культивирования. В работе использовали 50 штаммов родококков из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ, номер во Всемирной федерации коллекций культур 285, http://www.iegmcol.ru). Культуры принадлежали к трем видам *Rhodococcus*: *R. erythropolis* (33 штамма), *R. rhodochrous* (4 штамма), *R. ruber* (13 штаммов). Выбор коллекционных штаммов определялся их высокой каталитической активностью по отношению к сложным органическим соединениям.

Культивирование биопленок на покровных стеклах ($24 \times 50 \times 0.15$ мм) для микроскопии (Gerhard Menzel, UK) осуществляли в жидкой минеральной среде К [Ившина, Каменских, Ляпунов, 1994], содержащей 1.0 об. % μ -гексадекана, в колбах Эрленмейера объемом 150 мл при постоянном перемешивании (130 об/мин), 28°C в течение 24—72 ч. В экспериментах использовали ЭНФ марки «Berol 09» (Akso Nobel, Швеция) в концентрации 5, 10 и 15 г/л.

Определение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) ЭНФ в отношении родокок-ков проводили методом двукратных серийных разведений в среде RS [Куюкина и др., 2000] с использованием 96-луночных микропланшетов («Медполимер», Россия). ЭНФ вносили в лунки микропланшета в начальной концентрации 250 г/л с последующим двукратным разведением, после чего добавляли по 10 мкл бактериальной суспензии ($3.0 \times 10^7 \text{ кл/мл}$) и осуществляли инкубирование в течение 3 сут. при температуре 28° С. Затем бактериальные клетки окрашивали 0.2%-ным водным раствором йодонитротетрозолия (ИНТ). Оценку жизнеспособности клеток проводили по изменению оптической плотности (ОП) суспензии вследствие образования красно-фиолетового формазана с помощью планшетного спектрофотометра Multiskan Ascent (Thermo Electron Corporaton, США) при длине волны 630 нм.

Методика КЛСМ-сканирования. Покровное стекло с выращенной биоплёнкой подсушивали на воздухе в течение 10–15 мин., затем добавляли флуоресцентный краситель LIVE/DEAD® BacLightTM Bacterial Viability Kit (Invitrogen, США) и оставляли в темном месте на 15–20 мин. Препарат промывали деионизированной водой для удаления остатков красителя, среды и планктонных клеток. КЛСМ-сканирование проводили с помощью микроскопа FluoView 1000 (Olympus, Япония) с использованием иммерсионного объектива (×100, числовая апертура 1.4). Для возбуждения флуоресценции SYTO9 и пропидиум йодида, входящих в состав красителя LIVE/DEAD®, применяли аргоновый лазер ($\lambda = 488$ нм) с 505/525-нм барьерным фильтром, и гелий-неоновый лазер ($\lambda = 543$ нм) с 560/660-нм барьерным фильтром. Полученные изображения анализировали с помощью программы FV10-ASW 3.1 (Olympus Corporation, Япония).

Статистический анализ результатов исследований проводили с использованием стандартной программы Excel 2016, вычисляя среднее значение и стандартное отклонение (m \pm SD). Кластерный и корреляционный анализ данных (коэффициент Пирсона с уровнем значимости р < 0.005) проводили с помощью программы Past3.

Результаты и их обсуждение

Представленная дендрограмма (рис. 1) иллюстрирует распределение исследованных коллекционных штаммов родококков по кластерам в зависимости от значений МИК ЭНФ. По нашим данным, почти половина (24 из 50 исследованных культур) представителей Rhodococcus spp. не сохраняли жизнеспособность при концентрации ЭНФ свыше 0.5–2.0 г/л, что указывает на высокую токсичность данного соединения. Остальные штаммы группировались в 3 основные группы с соответствующими значениями МИК ЭНФ: 2–50, 50–125 и >125 г/л. Видоспецифические различия в чувствительности родококков к действию ЭНФ не выявлены. При этом штаммы R erythropolis в целом характеризовались более высокой чувствительностью к воздействию ЭНФ по сравнению с представителями R ruber и R rhodochrous (соответствующие средневидовые значения МИК ЭНФ составили 22, 96 и 100 г/л). Возможно, более высокая устойчивость представителей R rhodochrous и R ruber связана с их способностью продуцировать недиффундирующий красно-оранжевый пигмент (тогда как колонии R erythropolis имеют палево-телесную окраску), участвующий в защите клеток от повреждающих факторов, в частности ионов тяжелых металлов [Ившина, Куюкина, Костина, 2013]. Отобраны наиболее устойчивые к высоким (МИК ≥ 125 г/л) концен-

трациям ЭНФ штаммы *R. ruber* ИЭГМ 615, *R. ruber* ИЭГМ 1263 и *R. rhodochrous* ИЭГМ 655, являющиеся представителями экологически значимых видов родококков.

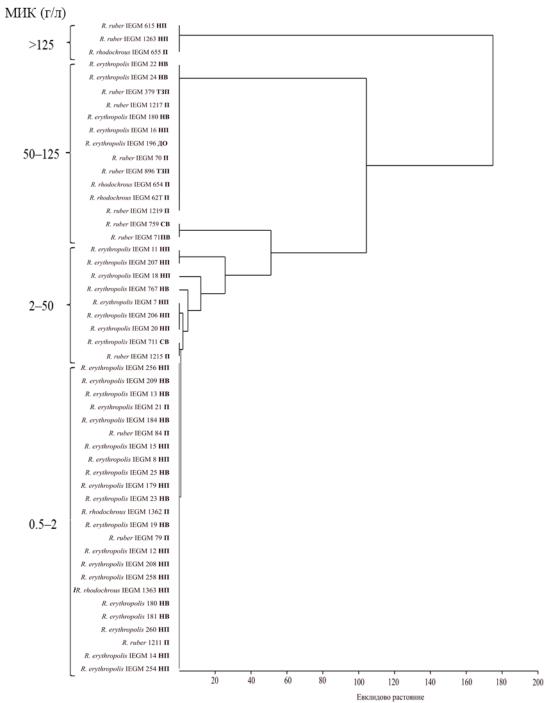


Рис. 1. Дендрограмма распределения коллекционных штаммов *Rhodococcus* spp. по чувствительности к ЭНФ.

МИК — минимальная ингибирующая концентрация. ДО — донные отложения, НП — нефтезагрязненная почва, НВ — нефтезагрязненная вода, П — почва, ТЗП — техногенно загрязненная почва, СВ — сточная вода

[Dendrogram of distribution of collection strains of *Rhodococcus* spp. according to sensitivity to ENP. MIC – minimum inhibitory concentration. BS – bottom sediments, OCS – oil-contaminated soil, OCW – oil-contaminated water, S – soil, TCP – technogenically contaminated soil, SW – sewage wastewater]

Родококки представляют собой значительную часть почвенных бактериальных сообществ, обитающих в местах, загрязненных углеводородами и их производными [Ившина и др., 2021]. Результаты проведенного корреляционного анализа указывают на отсутствие строгой корреляции (коэффициент Пирсо-

на составил 0.14 при p=0.34) между устойчивостью исследованных штаммов к ЭНФ и их приуроченностью к нефтезагрязненным местообитаниям. Тем не менее, в группе высокорезистентных (МИК ≥ 50 г/л) штаммов в основном присутствовали культуры, выделенные из техногенно загрязненных, в том числе нефтезагрязненных, почв (R. erythropolis ИЭГМ 16, R. rhodochrous ИЭГМ $62^{\rm T}$, ИЭГМ 655, R. ruber ИЭГМ 70, ИЭГМ 379, ИЭГМ 615, ИЭГМ 896, ИЭГМ 1263), нефтезагрязненных (R. erythropolis ИЭГМ 24, ИЭГ

В качестве примера на рис. 2 представлена динамика жизнеспособности клеток устойчивых и чувствительных штаммов родококков в присутствии возрастающих концентраций ЭНФ. Клетки $R.\ ruber$ ИЭГМ 71 сохраняли 40–80% дыхательной активности при концентрации ЭНФ в диапазоне 125–250 г/л. Для сравнения, в клетках чувствительного штамма $R.\ erythropolis$ ИЭГМ 711 процессы дыхания снижались на 70–80% при концентрации ЭНФ 0.5–1.0 г/л и практически полностью прекращались в присутствии >2.0 г/л ЭНФ.

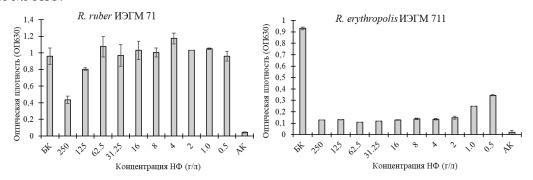


Рис. 2. Динамика жизнеспособности клеток *R. ruber* ИЭГМ 71 и *R. erythropolis* ИЭГМ 711 в присутствии возрастающих концентраций ЭНФ.

Представлены значения ОП₆₃₀ клеточных суспензий, окрашенных ИНТ. АК – абиотический контроль, БК – биотический контроль

[Dynamics of cell viability of *R. ruber* IEGM 71 and *R. erythropolis* IEGM 711 in the presence of increasing concentrations of ENP.

The OD₆₃₀ values of cell suspensions stained with INT are presented. AK – abiotic control, BC – biotic control]

Далее с помощью КЛСМ была изучена сравнительная динамика формирования биопленок клетками *R. ruber* ИЭГМ 71 при воздействии различных концентраций ЭНФ (рис. 3). Формирование биопленок – комплексный динамический процесс, включающий несколько этапов: адгезию клеток на поверхности и перераспределение клеточной массы, активное деление клеток для создания клеточных колоний или кластеров и в конечном итоге образование ЭПМ, который способствует защите клеток от неблагоприятных воздействий [Flemming, Wuertz, 2019]. Адгезивная активность бактерий во многом определяется свойствами клеточной поверхности, прежде всего степенью ее гидрофобности [Hoostal, Bidart-Bouzat, Bouzat, 2008], на которую значительное влияние оказывают условия культивирования. По данным [Wilmaerts et al., 2019; Ившина и др., 2021], клетки родококков лучше коадгезируют при росте на гидрофобных субстратах. В этой связи биопленки родококков выращивали в минеральной среде в присутствии 1.0 об. % *н*-гексадекана в ранее подобранных [Вауаndina et al., 2022] динамических условиях, обеспечивающих равномерную адгезию клеток к покровному стеклу.

Как видно из рис. 3, морфология клеток R. ruber ИЭГМ 71 в биопленках изменялась незначительно при воздействии сравнительно высоких (5–15 г/л) концентраций ЭНФ. При этом уже при минимальной (5 г/л) концентрации ЭНФ наблюдался процесс коагрегации клеток, усиливающийся равномерно при повышении концентрации экотоксиканта. На КЛСМ-сканах биопленок, окрашенных дифференцирующим красителем LIVE/DEAD®, видно (рис. 3В), что при воздействии высоких (10–15 г/л) концентраций ЭНФ живые клетки родококков заключены в экзополимерный матрикс, образованный мертвыми клетками и компонентами ЭПМ. По мере созревания биопленок (24–72 ч.) интенсивность образования ЭПМ увеличивалась в прямой зависимости от воздействующей концентрации ЭНФ.

По нашим данным (рис. 4), жизнеспособность клеток R. ruber ИЭГМ 71 в составе биопленок поддерживалась на высоком (70–80%) уровне при воздействии 5–10 г/л ЭНФ и снижалась на 40–60% в присутствии повышенной (15 г/л) концентрации ЭНФ. Полученные результаты согласуются с данными других

исследователей, отмечающих выраженный ингибиторный эффект высоких концентраций ЭНФ в отношении как микробных биопленок, так и планктонных клеток [Writer, Joseph, Larry, 2011]. При этом жизнеспособность родококков в составе зрелых (48–72 ч.) биопленок была заметно выше и при концентрациях 5 и 10~г/л ЭНФ практически не отличалась от контрольных значений, что подтверждает защитную роль ЭПМ в формирующихся биопленках.

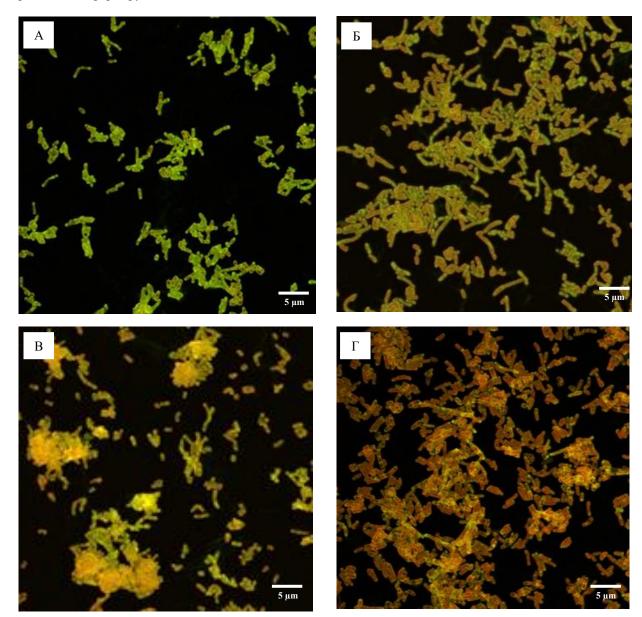


Рис. 3. КЛСМ-изображения биопленок *R. ruber* ИЭГМ 71, выращенных в минеральной среде К с 1.0% *н*-гексадекана в присутствии различных концентраций ЭНФ в течение 48 ч. и окрашенных LIVE/DEAD® для выявления живых (зеленые) и мертвых (красные) клеток.

А – Контроль, Б– Γ – концентрация ЭНФ: 5.0 г/л (Б), 10 г/л (В), 15 г/л (Γ)

[CLSM images of biofilms of *R. ruber* IEGM 71 grown in mineral medium K with 1.0% *n*-hexadecane in the presence of various concentrations of ENP for 48 hours and stained with LIVE/DEAD® to identify living (green) and dead (red) cells.

A – Control, \overline{b} – Γ – ENP concentration: 5.0 g/l (B), 10 g/l (C), 15 g/l (D)]

Важно отметить, что общая численность клеток в формирующихся биопленках была в 2-2.5 раза выше при максимальной (15 г/л) концентрации ЭНФ по сравнению с контрольными значениями на протяжении всего (24-72 ч.) срока наблюдения (рис. 5). Это указывает на увеличение адгезивной (коадгезивной) активности родококков в присутствии высокой концентрации ЭНФ, несмотря на подавление клеточной жизнеспособности. Возможно, данный эффект обусловлен поверхностно-активными свойствами

ЭНФ, благодаря которым стимулировалась адгезивная активность родококков, аналогично действию биогенных сурфактантов, синтезируемых клетками *R. ruber*, которые формируют кондиционирующие пленки на поверхности твердых субстратов, тем самым облегчая адгезию к ним клеток родококков [Ivshina et al., 2013].

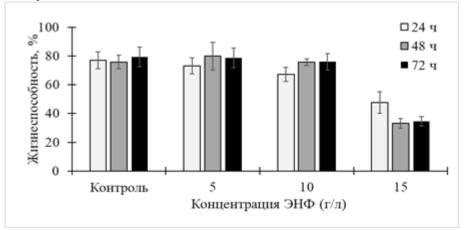


Рис. 4. Влияние ЭНФ на жизнеспособность клеток *R. ruber* ИЭГМ 71 в биопленках, выращенных в минеральной среде К с 1.0% *н*-гексадекана

[Effects of ENP on the viability of *R. ruber* IEGM 71 cells in biofilms grown in mineral medium K with 1.0% *n*-hexadecane]

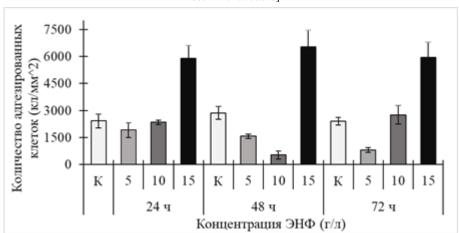


Рис.5. Динамика общей численности *R. ruber* ИЭГМ 71 в биопленках, выращенных в минеральной среде К с 1.0% *н*-гексадекана в присутствии различных концентраций ЭНФ

[Dynamics of *R. ruber* IEGM 71 cell numbers in biofilms grown in mineral medium K with 1.0% *n*-hexadecane in the presence of different ENP concentrations]

Выявленное разнонаправленное воздействие ЭНФ на планктонные культуры и формирующиеся биопленки родококков свидетельствует, с одной стороны, о комплексном характере взаимодействия поверхностно-активных ксеноэстрогенов из группы алкилфенолов с бактериальными клетками [Corvini et al., 2004; Wu, Qiu, 2011; Ruiz et al., 2013; Lu, Gan, 2014; Кузикова и др., 2019; Lara-Moreno et al., 2022], с другой стороны, о сложных, хорошо скоординированных механизмах адаптации актинобактерий рода *Rhodococcus* (включая усиленную агрегацию клеток к твердым поверхностям и коагрегацию, сверхсинтез экзополимеров) к действию токсичных ксенобиотиков [Ившина и др., 2021].

Заключение

Установлено, что актинобактерии рода Rhodococcus характеризуются различной степенью чувствительности к воздействию широко распространенного ксеноэстрогена — этоксилированного нонилфенола. При этом почти половина исследованных культур родококков не сохраняла жизнеспособность при концентрации ЭНФ свыше $0.5-2.0~\rm r/n$, что указывает на высокую токсичность данного соединения. По результатам кластерного анализа выявлены 4 основные группы штаммов родококков, не совпадающие с их видовой принадлежностью, с соответствующими значениями МИК ЭНФ: 0.5-2.0, 2-50, $50-125~\rm m$

>125г/л. Обнаружено, что штаммы *R. erythropolis* в целом характеризовались более высокой чувствительностью к воздействию ЭНФ по сравнению с представителями *R ruber* и *R. rhodochrous*. Отобраны устойчивые к высоким (МИК > 125 г/л) концентрациям ЭНФ штаммы *R. ruber* ИЭГМ 615, 1263, *R. rhodochrous* ИЭГМ 655, выделенные из нефтезагрязненных сред. Показано, что длительное (до 72 ч.) культивирование биопленок *R. ruber* ИЭГМ 71 в присутствии 15 г/л ЭНФ способствовало увеличению адгезивной активности и коагрегации бактериальных клеток (при снижении их жизнеспособности), а также синтезу экзополимерного матрикса, играющего основную роль в защите бактерий от токсичного воздействия ЭНФ. Отобранные устойчивые к ЭНФ штаммы *Rhodococcus* spp. и полученные данные могут использоваться при разработке биотехнологических методов очистки окружающей среды от ксеноэстрогенов группы алкилфенолов.

Список источников

- 1. Ившина И.Б., Каменских Т.Н., Ляпунов Я.Э. Каталог штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. М.: Наука, 1994. 163 с.
- 2. Ившина И.Б., Куюкина М.С., Костина Л.В. Адаптационные механизмы неспецифической устойчивости алканотрофных актинобактерий к ионам тяжелых металлов // Экология. 2013. Вып. 2. С. 115–123.
- 3. Ившина И.Б. и др. Углеводородокисляющие родококки: особенности биологической организации под воздействием экополлютантов. Пермь, 2021. 139 с.
- 4. Кузикова И.Л. и др. Влияние нонилфенолов на численность и таксономическую структуру почвенного микробного сообщества // Почвоведение. 2019. № 6. С. 722–733.
- 5. Куюкина М.С. и др. Влияние липидного состава клеток на формирование неспецифической антибиотикорезистентности у алканотрофных родококков // Микробиология. 2000. Т. 69, № 1. С. 62–69.
- 6. Ademollo N. et al. Bioaccumulation of nonylphenols and bisphenol A in the Greenland shark Somniosus microcephalus from the Greenland seawaters // Microchemical Journal. 2018. Vol. 136. P. 106–112.
- 7. 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.
- 8. Buitrón G., Torres-Bojorges A.X., Cea-Barcia G. Removal of p-nonylphenol isomers using nitrifying sludge in a membrane sequencing batch reactor // Chemical Engineering Journal. 2015. Vol. 281. P. 860–868.
- 9. Cladière M. et al. Modelling the fate of nonylphenolic compounds in the Seine River part 1: Determination of in-situ attenuation rate constants // Science of the Total Environment. 2014. Vol. 468–469. P. 1050–1058.
- 10. Corvini P. et al. Degradation of the Radioactive and Non-labelled Branched 4(3',5'-dimethyl 3'-heptyl)-phenol Nonylphenol Isomer by *Sphingomonas* TTNP3 // Biodegradation. 2004. Vol. 15. P. 9–18.
- 11. Dong R., Hao J. Complex fluids of poly(oxyethylene) monoalkyl ether nonionic surfactants // Chemical Reviews. 2010. Vol. 110. P. 4978–5022.
- 12. Eganhouse R.P. et al. Isomer-specific determination of 4-nonylphenols using comprehensive two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry // Environmental Science & Technology. 2009. Vol. 43 (24). P. 9306–9313.
- 13. Ferguson P.L. et al. Biogeochemistry of nonylphenol ethoxylates in urban estuarine sediments // Environmental Science & Technology. 2003. Vol. 37. P. 3499–3506.
- 14. Ferrer-Polonio E. et al. Effect of 4-nonylphenol on the performance and microbial community of a sequencing batch reactor // Journal of Environmental Chemical Engineering. 2022. Vol. 10, № 2. P. 107249.
- 15. Flemming H.C., Wuertz S. Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms // Nature Reviews Microbiology. 2019. Vol. 17. P. 247–260.
- 16. Fucic A. et al. Environmental exposure to xenoestrogens and oestrogen related cancers: reproductive system, breast, lung, kidney, pancreas, and brain // Environmental Health. 2012. Vol. 11. Article S8.
- 17. Hoostal M.J., Bidart-Bouzat M.G., Bouzat J.L. Local adaptation of microbial communities to heavy metal stress in polluted sediments of Lake Erie // FEMS Microbiology Ecology. 2008. Vol. 65. P. 156–168.
- 18. Ivshina I.B. et al. Biodegradation of drotaverine hydrochloride by free and immobilized cells of *Rhodococcus rhodochrous* IEGM 608 // World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2012. Vol. 2, № 10. P. 2997–3006.
- 19. Ivshina I.B. et al. Biosurfactant-enhanced immobilization of hydrocarbon-oxidizing *Rhodococcus ruber* on sawdust // Applied Microbiology and Biotechnology. 2013. Vol. 97. P. 5315–5327.
- 20. Kim D., Kwak J.I., An Y.-J. Physiological response of crop plants to the endocrine-disrupting chemical nonylphenol in the soil environment // Environmental Pollution. 2019. Vol. 251. P. 573–580.
- 21. Korsman J.C. et al. Modeling bioaccumulation and biomagnification of nonylphenol and its ethoxylates in estuarine–marine food chains // Chemosphere. 2015. Vol. 138. P. 33–39.
- 22. Kovalchuk O. et al. Estrogen-induced rat breast carcinogenesis is characterized by alterations in DNA methylation, histone modifications, and aberrant microRNA expression // Cell Cycle. 2007. Vol. 6, № 16. P. 2010–2018.

- 23. Krivoruchko A.V., Kuyukina M.S., Ivshina I.B. Advanced *Rhodococcus* biocatalysts for environmental biotechnologies // Catalysts. 2019. Vol. 9. P. 1–19.
- 24. Lara-Moreno A. et al. Novel nonylphenol-degrading bacterial strains isolated from sewage sludge: Application in bioremediation of sludge // Science of the Total Environment. 2022. Vol. 847. Article 157647.
- 25. Lu Z., Gan J. Analysis, toxicity, occurrence and biodegradation of nonylphenol isomers // Environment International. 2014. Vol. 73. P. 334–345.
- 26. Materna K. et al. Removal of phenols from aqueous streams by the cloud point extraction technique with oxyethylated methyl dodecanoates as surfactants // Environmental Science & Technology. 2001. Vol 35. P. 2341–2346.
- 27. Nazari M.T. et al. *Rhodococcus*: A promising genus of actinomycetes for the bioremediation of organic and inorganic contaminants // Journal of Environmental Management. 2022. Vol. 323. Article 116220.
- 28. Negin C., Ali S., Xie Q. Most common surfactants employed in chemical enhanced oil recovery // Petroleum. 2017. Vol. 3. P. 197–211.
- 29. Peng C. et al. Dynamics and mechanisms of bioaccumulation and elimination of nonylphenol in zebrafish // Toxicology. 2023. Vol. 483. Article 153375.
- 30. Petrick J.L. et al. Exogenous hormone use, reproductive factors and risk of intrahepatic cholangiocarcinoma among women: results from cohort studies in the Liver Cancer Pooling Project and the UK Biobank // British Journal of Cancer. 2020. Vol. 123. P. 316–324.
- 31. Priac A., et al. Alkylphenol and alkylphenol polyethoxylates in water and wastewater // Arabian Journal of Chemistry. 2017. Vol. 10. P. S3749–S3773.
- 32. Quina F.H., Hinze W.L. Surfactant-mediated cloud point extractions // Industrial & Engineering Chemistry Research. 1999. Vol. 38. P. 4150–4168.
- 33. Różalska S. et al. Biodegradation of nonylphenol by a novel entomopathogenic Metarhizium robertsii strain // Bioresource technology. 2015. Vol. 191. P. 166–172.
- 34. Ruiz Y. et al. Biodegradation of polyethoxylated nonylphenols // ISRN microbiology. 2013. Article 284950.
- 35.Seralini G.E., Jungers G. Endocrine disruptors also function as nervous disruptors and can be renamed endocrine and nervous disruptors // Toxicology reports. 2021. Vol. 8. P. 1538–1557.
- 36. Shen C. et al. Effect of benzo[a]pyrene on detoxification and the activity of antioxidant enzymes of marine microalgae // Journal of Ocean University of China. 2016. Vol. 15. P. 303–310.
- 37. Soares A. et al. Aerobic biodegradation of nonylphenol by cold-adapted bacteria // Biotechnology Letters. 2003. Vol. 25. P. 731–738.
- 38. Tian K. et al. Mechanism of 17β -estradiol degradation by *Rhodococcus equi* via the 4,5-seco pathway and its key genes // Environmental Pollution. 2022. Vol. 312. 120021.
- 39. Villemur R. et al. Biodegradation of endocrine disruptors in solid-liquid two-phase partitioning systems by enrichment cultures // Applied and Environmental Microbiology. 2013. Vol. 79(15). P. 4701–4711.
- 40. Wang Y. Degradation of 17β-estradiol and products by a mixed culture of *Rhodococcus equi* DSSKP-R-001 and *Comamonas testosteroni* QYY20150409 // Biotechnology and Biotechnological Equipment. 2019. Vol. 33, № 1. P. 268–277.
- 41. Watanabe W. et al. Bacterial Degradation and Reduction in the Estrogen activity of 4-nonylphenol // Biocontrol Science. 2012. Vol. 17. P. 143–147.
- 42. White G.F. Bacterial biodegradation of ethoxylated surfactants // Pesticide Science. 1993. Vol. 37. P. 159–166.
- 43. Wilmaerts D. et al. General mechanisms leading to persister formation and awakening // Trends Genet. 2019. Vol. 35. P. 401–411.
- 44. Writer J., Joseph N.R., Larry J.B. Role of biofilms in sorptive removal of steroidal hormones and 4-nonylphenol compounds from streams // Environmental Science & Technology. 2011. Vol. 45. P. 7275–7283.
- 45. Wu F.F., Qiu L.F. Kinetic study on the biodegradation of nonylphenol by *Rhodotorula* sp. // Advanced Materials Research. 2011. Vol. 233–235. P. 575–578.
- 46. Yuan S.Y., Yu C.H., Chang B.V. Biodegradation of nonylphenol in river sediment // Environmental Pollution. 2004. Vol. 127. P. 425–430.

References

- 1. Ivshina I.B., Kamenskih T.N., Lyapunov Ya.E. *Katalog štammov Regional'noj profiirovannoj kollekcii a;anottrofnych mikroorganizmov* [Catalogue of strains of the Regional profiled collection of alkanotrophic microorganisms]. Moscow, Nauka Publ., 1994. 163 p. (In Russ.).
- 2. Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Kostina L.V. [Adaptive mechanisms of nonspecific resistance of alkanotrophic actinobacteria to heavy metal ions]. *Èkologija*. Iss. 2 (2013): pp. 115-123. (In Russ.).

- 3. Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Kamenskih T.N., Krivoruchko A.V., Tyumina E.A., Elkin A.A. *Uglevo-dorodokisljajuščie rodokokki* [Hydrocarbon-oxidizing rhodococci: features of biological organization under the influence of eco-pollutants]. Perm, 2021. 139 p. (In Russ.).
- 4. Kuzikova I.L., Zaytseva T.B., Kichko A.A., Zinoveva S.V., Russu A.D., Mayachkina N.V., Medvedeva N.G. [Effect of nonylphenols on the abundance and taxonomic structure of the soil microbial community]. *Počvovedenie*. No. 6 (2019): pp. 722-733. (In Russ.).
- 5. Kuyukina M.S., Ivshina I.B., Rychkova M.I., Chumakov O.B. [Effect of the cell lipid composition on the formation of nonspecific antibiotic resistance in alkanotrophic rhodococci]. *Mikrobiologija*. V. 69, No. 1 (2000): pp. 62-69. (In Russ.).
- 6. Ademollo N., Patrolecco L., Rauseo J., Nielsen J., Corsolini S., Bioaccumulation of nonylphenols and bisphenol A in the Greenland shark Somniosus microcephalus from the Greenland seawaters. *Microchemical Journal*. V. 136 (2018): pp. 106-112.
- 7. 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*. V. 7(5–1) (2022): pp. 100-109.
- 8. Buitrón G., Torres-Bojorges A.X., Cea-Barcia G. Removal of p-nonylphenol isomers using nitrifying sludge in a membrane sequencing batch reactor. *Chemical Engineering Journal*. V. 281 (2015): pp. 860-868.
- 9. Cladière M., Bonhomme C., Vilmin L., Gasperi J., Flipo N., Tassin B. Modelling the fate of nonylphenolic compounds in the Seine River part 1: Determination of in-situ attenuation rate constants. *Science of the Total Environment*. V. 468-469 (2014): pp. 1050-1058.
- 10. Corvini P., Vinken R., Hommes G, Schmidt D., Dohmann M. Degradation of the Radioactive and Non-labelled Branched 4(3',5'-dimethyl 3'-heptyl)-phenol Nonylphenol Isomer by *Sphingomonas* TTNP3. *Biodegradation*. V. 15 (2004): pp. 9-18.
- 11. Dong R., Hao J. Complex fluids of poly(oxyethylene) monoalkyl ether nonionic surfactants. *Chemical Reviews*. V. 110 (2010): pp. 4978-5022.
- 12. Eganhouse R.P., Pontolillo J., Gaines R.B., Frysinger G.S., Gabriel, F.L.P., Kohler H.-P.E., Giger W., Barber L.B. Isomer-specific determination of 4-nonylphenols using comprehensive two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry. *Environmental Science & Technology*. V. 43 (24) (2009): pp. 9306-9313.
- 13. Ferguson P.L., Bopp R.F., Chillrud S.N., Aller R.C., Brownawell B.J. Biogeochemistry of nonylphenol ethoxylates in urban estuarine sediments. *Environmental Science & Technology*. V. 37 (2003): pp. 3499-3506.
- 14. Ferrer-Polonio E., Fernández-Navarro J., Mendoza-Roca J.A., Bes-Piá A., Alonso-Molina J.L., Effect of 4-nonylphenol on the performance and microbial community of a sequencing batch reactor. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. V. 10, No. 2 (2022): p. 107249.
- 15. Flemming H.C, Wuertz S. Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms. *Nature Reviews Microbiology*. V. 17 (2019): pp. 247-260.
- 16. Fucic A., Gamulin M., Ferencic Z., Katic J., Krayer von Krauss M., Bartonova A., Merlo D.F. Environmental exposure to xenoestrogens and oestrogen related cancers: reproductive system, breast, lung, kidney, pancreas, and brain. *Environmental Health*. V. 11 (2012): Article S8.
- 17. Hoostal M.J., Bidart-Bouzat M.G., Bouzat J.L. Local adaptation of microbial communities to heavy metal stress in polluted sediments of Lake Erie. *FEMS Microbiology Ecology*. V. 65 (2008): pp. 156-168.
- 18. Ivshina I.B., Richkova M.I. Mukhutdinova A.N., Karpenko Ju.N. Biodegradation of drotaverine hydrochloride by free and immobilized cells of *Rhodococcus rhodochrous* IEGM 608. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. V. 28, No. 10 (2012): pp. 2997-3006.
- 19. Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Krivoruchko A.V., Plekhov O.A., Naimark O.B., Podorozhko E.A., Lozinsky V.I. Biosurfactant-enhanced immobilization of hydrocarbon-oxidizing *Rhodococcus ruber* on sawdust. *Applied Microbiology and Biotechnology*. V. 97 (2013): pp. 5315-5327.
- 20. Kim D., Kwak J.I., An Y.-J. Physiological response of crop plants to the endocrine-disrupting chemical nonylphenol in the soil environment. *Environmental Pollution*. V. 251 (2019): pp. 573-580.
- 21. Korsman J.C., Schipper A.M., de Vos M.G, van den Heuvel-Greve M.J., Vethaak A.D., de Voogt P., Hendriks A.J. Modeling bioaccumulation and biomagnification of nonylphenol and its ethoxylates in estuarine—marine food chains. *Chemosphere*. V. 138 (2015): pp. 33-39.
- 22. Kovalchuk O., Tryndyak V.P., Montgomery B., Boyko A., Kutanzi K., Zemp F., Warbritton A.R., Latendresse J.R, Kovalchuk I., Beland F.A., Pogribny I.P. Estrogen-induced rat breast carcinogenesis is characterized by alterations in DNA methylation, histone modifications, and aberrant microRNA expression. *Cell Cycle*. V. 6, No. 16 (2007): pp. 2010-2018.
- 23. Krivoruchko A.V., Kuyukina M.S., Ivshina I.B. Advanced *Rhodococcus* biocatalysts for environmental biotechnologies. *Catalysts*. V. 9 (2019): pp. 1-19.

- 24. Lara-Moreno A., Aguilar-Romero I., Rubio-Bellido M., Madrid F., Villaverde J., Santos J.L., Alonso E., Morillo E. Novel nonylphenol-degrading bacterial strains isolated from sewage sludge: Application in bioremediation of sludge. *Science of the Total Environment*. V. 847 (2022): Article 157647.
- 25. Lu Z., Gan J. Analysis, toxicity, occurrence and biodegradation of nonylphenol isomers. *Environment International*. V. 73 (2014): pp. 334-345.
- 26. Materna K., Milosz I., Miesiac I., Cote G., Szymanowski J. Removal of phenols from aqueous streams by the cloud point extraction technique with oxyethylated methyl dodecanoates as surfactants. *Environmental Science & Technology*. V 35 (2001): pp. 2341-2346.
- 27. Nazari M.T., Simon V., Strieder Machado B., Crestani L., Marchezi G., Concolato G., Ferrari V., Colla L.M., Piccin J.S. *Rhodococcus*: A promising genus of actinomycetes for the bioremediation of organic and inorganic contaminants. *Journal of Environmental Management*. V. 323 (2022): Article 116220.
- 28. Negin C., Ali S., Xie Q. Most common surfactants employed in chemical enhanced oil recovery. *Petrole-um.* V. 3 (2017): pp. 197-211.
- 29. Peng C., Zhou S., Zhang Y., Zhang H., Zhang W., Ling S., Hu S. Dynamics and mechanisms of bioaccumulation and elimination of nonylphenol in zebrafish. *Toxicology*. V. 483 (2023): Article 153375.
- 30. Petrick J.L., McMenamin U.C., Zhang X., Zeleniuch-Jacquotte A., Wactawski-Wende J., Simon T.G., Sinha R., Sesso H.D., Schairer C., Rosenberg L., Rohan T.E., Robien K., Purdue M.P., Poynter J.N, Palmer J R, Lu Y., Linet M.S., Liao L.M., Lee I-M., Koshiol J., Kitahara C.M., Kirsh V.A., Hofmann J.N., Graubard B.I., Giovannucci E., Gaziano J.M., Gapstur S.M., Freedman N.D., Florio A.A., Chong D.Q., Chen Y., Chan A.T., Buring J.E., Beane Freeman L.E., Bea J.W, Cardwell C.R., Campbell P.T., McGlynn K.A. Exogenous hormone use, reproductive factors and risk of intrahepatic cholangiocarcinoma among women: results from cohort studies in the Liver Cancer Pooling Project and the UK Biobank. *British Journal of Cancer*. V. 123 (2020): pp. 316-324.
- 31. Priac A., Morin-Crini N., Druart C., Gavoille S., Bradu C., Lagarrigue C., Torri G., Winterton P., Crini G. Alkylphenol and alkylphenol polyethoxylates in water and wastewater. *Arabian Journal of Chemistry*. V. 10 (2017): pp. S3749–S3773.
- 32. Quina F.H., Hinze W.L. Surfactant-mediated cloud point extractions. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. V. 38 (1999): pp. 4150-4168.
- 33. Różalska S., Soboń A., Pawłowska J., Wrzosek M., Długoński J. Biodegradation of nonylphenol by a novel entomopathogenic Metarhizium robertsii strain. *Bioresource technology*. V. 191 (2015): pp. 166-172.
- 34. Ruiz Y., Medina L., Borusiak M., Ramos N., Pinto G., & Valbuena O. Biodegradation of polyethoxylated nonylphenols. *ISRN microbiology*. (2013): Article 284950.
- 35. Seralini G. E., Jungers G. Endocrine disruptors also function as nervous disruptors and can be renamed endocrine and nervous disruptors. *Toxicology reports*. V. 8 (2021): pp. 1538-1557.
- 36. Shen C., Miao J., Li Y., Pan L. Effect of benzo[a]pyrene on detoxification and the activity of antioxidant enzymes of marine microalgae. *Journal of Ocean University of China*. V. 15 (2016): pp. 303-310.
- 37. Soares A., Guieysse B., Delgado O., Mattiasson B. Aerobic biodegradation of nonylphenol by cold-adapted bacteria. *Biotechnology Letters*. V. 25 (2003): pp. 731-738.
- 38. Tian K., Meng Q., Li S., Chang M., Meng F., Yu Y., Li H., Qiu Q., Shao J., Huo H., Mechanism of 17β-estradiol degradation by *Rhodococcus equi* via the 4,5-seco pathway and its key genes. *Environmental Pollution*. V. 312 (2022): 120021.
- 39. Villemur R., Dos Santos S.C., Ouellette J., Juteau P., Lépine F., Déziel, E. Biodegradation of endocrine disruptors in solid-liquid two-phase partitioning systems by enrichment cultures. *Applied and Environmental Microbiology*. V. 79(15) (2013): pp. 4701-4711.
- 40. Wang Y. Degradation of 17β-estradiol and products by a mixed culture of *Rhodococcus equi* DSSKP-R-001 and *Comamonas testosteroni* QYY20150409. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. V. 33, No. 1 (2019): pp. 268-277.
- 41. Watanabe W., Hori Y., Nishimura S., Takagi A., Kikuchi M., Sawai J. Bacterial Degradation and Reduction in the Estrogen activity of 4-nonylphenol. *Biocontrol Science*. V. 17 (2012): pp. 143-147.
 - 42. White G. F. Bacterial biodegradation of ethoxylated surfactants. *Pesticide Science*. V. 37 (1993): pp. 159-166.
- 43. Wilmaerts D., Windels E.M., Verstraeten N., Michiels J. General mechanisms leading to persister formation and awakening. *Trends Genet*. V. 35 (2019): pp. 401-411.
- 44. Writer J., Joseph N.R., Larry J.B. Role of biofilms in sorptive removal of steroidal hormones and 4-nonylphenol compounds from streams. *Environmental Science & Technology*. V. 45 (2011): pp. 7275-7283.
- 45. Wu F.F., Qiu L.F. Kinetic study on the biodegradation of nonylphenol by *Rhodotorula* sp. *Advanced Materials Research*. V. 233-235 (2011): pp. 575-578.
- 46. Yuan S.Y., Yu C.H., Chang B.V. Biodegradation of nonylphenol in river sediment. *Environmental Pollution*. V. 127 (2004): pp. 425-430.

Статья поступила в редакцию 19.10.2023; одобрена после рецензирования 30.10.2023; принята к публикации 20.11.2023.

The article was submitted 19.10.2023; approved after reviewing 30.10.2023; accepted for publication 20.11.2023.

Информация об авторах

- Е. А. Баяндина студент биологического факультета;
- А. В. Поздеева студент биологического факультета;
- М. С. Куюкина д-р биол. наук, профессор кафедры микробиологии и иммунологии; ведущий научный сотрудник лаборатории алканотрофных микроорганизмов;
- И. Б. Ившина д-р биол. наук, профессор, академик РАН, профессор кафедры микробиологии и иммунологии; заведующая лабораторией алканотрофных микроорганизмов.

Information about the authors

- E. A. Bayandina Student at the Department of Microbiology and Immunology, Perm State University;
- A. V. Pozdeeva Student at the Department of Microbiology and Immunology, Perm State University;
- M. S. Kuyukina Dr. Sc. (Biol.), Professor at the Department of Microbiology and Immunology; Leading Research Officer;
- I. B. Ivshina Dr. Sc. (Biol.), Professor, Academician of RAS, Professor at the Department of Microbiology and Immunology; Head of the Laboratory.

Вклад авторов:

Баяндина Е. А. – написание исходного текста; статистическая обработка материала; выводы.

Поздеева А. В. – методология; доработка текста.

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; statistical processing of the material; conclusions.

Pozdeeva A. V. – methodology; followon revision of the text.

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.