

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

Научная статья

УДК 579.252.2

doi: 10.17223/19988591/71/12

Характеристика генома штамма *Stutzerimonas stutzeri*, выделенного из нефтезагрязненной почвы Татарстана

Эдуард Викторович Бабынин¹, Юлия Равилевна Царькова²,
Ирина Александровна Дегтярева³

^{1, 2} Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

^{1, 3} Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр
Российской академии наук», Казань, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0003-2285-8879>, edward.b67@mail.ru

² <https://orcid.org/0009-0008-1658-4553>, ju.gusmanova@yandex.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-1575-8493>, peace-1963@mail.ru

Аннотация. Разливы нефти в результате антропогенной деятельности, такой как добыча, транспортировка или хранение нефтепродуктов, наносят серьезный вред биосфере и потенциально опасны для здоровья человека. Биоремедиация с использованием микроорганизмов является перспективной технологией очистки таких загрязненных участков, поскольку она экономически эффективна и приводит к полной минерализации вредных соединений. Обнаружение новых, способных к эффективной биодеградации нефти местных штаммов микроорганизмов, дает перспективу для создания надежной и экономичной стратегии рекультивации нефтезагрязненных почв. В работе представлены данные по определению и анализу нуклеотидной последовательности полного генома штамма DIA-8, выделенного из нефтезагрязненной почвы на территории Республики Татарстан. В ходе аннотации кодирующих последовательностей полного генома выявлен ряд генов, кодирующих белки, ответственные за катаболизм ароматических соединений. Показана принадлежность штамма к виду *Stutzerimonas stutzeri*. В геноме штамма *S. stutzeri* DIA-8 показано присутствие ключевого гена орто-расщепления катехолов – катехол-1,2-диоксигеназы, а также обнаружены гены, участвующие в синтезе гликолипидных биосурфактантов и устойчивости к тяжелым металлам. Аннотация генома показала, что данный штамм имеет низкий патогенный потенциал, сравнимый с невирулентными представителями рода *Pseudomonas*, что дает возможность использовать его в качестве биотехнологического продукта. Секвенированная нуклеотидная последовательность генома депонирована в международную базу данных GenBank под номером GCA_037081755.1.

Ключевые слова: полногеномное секвенирование, катехол-1,2-диоксигеназа, биоремедиация, *Stutzerimonas stutzeri*

Источник финансирования: работа выполнена в рамках программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030» и в рамках Государственного задания № 1023033000409-3.

Для цитирования: Бабынин Э.В., Царькова Ю.Р., Дегтярева И.А. Характеристика генома штамма *Stutzerimonas stutzeri*, выделенного из нефтезагрязненной почвы Татарстана // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2025. № 71. С. 199–216. doi: 10.17223/19988591/71/12

Original article

doi: 10.17223/19988591/71/12

Genome characterization of a *Stutzerimonas stutzeri* strain isolated from oil-contaminated soil in Tatarstan

Eduard V. Babynin¹, Yulia R. Tsarkova², Irina A. Degtyareva³

^{1,2} Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russian Federation

^{1,3} Federal Research Center "Kazan Scientific Center

of the Russian Academy of Sciences", Kazan, Russian Federation

¹ <https://orcid.org/0000-0003-2285-8879>, eduard.b67@mail.ru

² <https://orcid.org/0009-0008-1658-4553>, ju.gusmanova@yandex.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-1575-8493>, peace-1963@mail.ru

Summary. Oil spills resulting from anthropogenic activities such as extraction, transportation or storage of petroleum products cause serious harm to the biosphere and are potentially hazardous to human health. Bioremediation using microorganisms is a promising technology for cleaning up such contaminated sites, since it is cost-effective and leads to complete mineralization of harmful compounds. The discovery of new local microbial strains capable of effective oil biodegradation provides prospects for the development of a reliable and cost-effective strategy for the reclamation of oil-contaminated soils. This study presents data on the determination and analysis of the complete genome nucleotide sequence of the DIA-8 strain, which was isolated from oil-contaminated soil in the Republic of Tatarstan. Yellow, shiny, convex colonies with irregular edges, ranging from 0.5 to 3 mm in diameter, were observed when the *S. stutzeri* DIA-8 strain was cultured on dense LB nutrient agar (See Fig. 1). *Stutzerimonas stutzeri* is a non-fluorescent, denitrifying bacterium widely distributed in the environment. This bacterial species has attracted significant attention due to its unique metabolic properties, including denitrification, nitrogen fixation, and the degradation of aromatic compounds, and its resistance to metals and potential applications in bioremediation. Analysis of this strain's genome contributes to a better understanding of the genetic basis of oil degradation, the production of secondary metabolites, potential virulence, and other important physiological functions. Furthermore, the findings of this study may serve as the basis for the development of a cost-effective and environmentally friendly method for the remediation of crude oil-contaminated soils.

Genomic DNA was extracted using the ExtractDNA Blood & Cells kit (CJSC Eurogen, Russia). Sequencing was performed on a MiSeq genetic analyzer (Illumina, USA) in paired-end mode (2x300 bp). The MiSeq Reagent Kit v3 was used for sequencing. De novo genome assembly was performed using the Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (BV-BRC) v3.6.2 (<https://www.bv-brc.org>). Digital DNA-DNA hybridization (dDDH) was calculated using the GGDC v3.0 genome distance calculator (<http://ggdc.dsmz.de/distcalc2.php>). Average Nucleotide Identity (ANI) values were calculated using the JSpeciesWS online service. A phylogenetic tree based on whole-genome data was constructed using the TYGS web server (<https://tygs.dsmz.de>). Functional genome annotation was performed using the RAST 2.0 server (<https://rast.nmpdr.org>) with default settings. The PathogenFinder web server (<https://cge.food.dtu.dk/services/PathogenFinder/>) and the Virulence Factor Database (VFDB) were used for the prediction of bacterial pathogenicity. Plasmid DNA was isolated using a LumiSpin® PLASMID kit (Lumiprob RUS LLC, Russia&EAEU).

Plasmid DNA sequencing was performed by the biotechnology company Cloning Facility (Moscow) using Nanopore technology.

The assembled genome of *S. stutzeri* strain DIA-8 consisted of 28 contigs (> 500 bp) with an N50 of 648,363 bp and a total length of 4,496,503 bp. ANI and dDDH results between *S. stutzeri* DIA-8 and other *S. stutzeri* species showed genome similarity values ranging from 97.31% to 97.90% for ANI and from 80.60% to 85.60% for dDDH (See Table 1). These values are above the recommended threshold values of 95% (ANI) and 70% (dDDH) for prokaryotic species delineation, respectively. The TYGS results showed that the DIA-8 strain branch clustered within the *S. stutzeri* species clade. This indicates that the DIA-8 strain belongs to the *S. stutzeri* species (See Fig. 2).

During the mapping of the complete genome nucleotide sequence, we identified several genes encoding proteins responsible for the catabolism of aromatic compounds. According to RAST server annotation, the *S. stutzeri* DIA-8 genome contains 60 genes involved in aromatic compound metabolism (See Fig. 3), with 31 genes involved in peripheral pathways and 27 genes involved in the central pathways of aromatic compound catabolism. Aromatic ring cleavage enzymes identified in DIA-8 included benzoate-1,2-dioxygenase (EC 1.14.12.10), 1,6-dihydroxycyclohexa-2,4-diene-1-carboxylate dehydrogenase (EC 1.3.1.25), catechol-1,2-dioxygenase (EC 1.13.11.1), muconate cycloisomerase (EC 5.5.1.1), muconolactone Δ -isomerase (EC 5.3.3.4), 3-oxoadipate-enol-lactonase (EC 3.1.1.24), 3-oxoadipate-CoA transferase (EC 2.8.3.6), and 3-oxoadipyl-CoA thiolase (EC 2.3.1.174) (See Fig. 4). Bioinformatic analysis of the *S. stutzeri* DIA-8 genome sequence also revealed genes involved in the synthesis of glycolipid biosurfactants and heavy metal resistance. The genome analysis indicated that this strain has a low pathogenic potential, similar to other non-virulent environmental isolates of the genus *Pseudomonas*, which suggests its potential use as a biotechnological product. Sequencing of the isolated plasmid DNA sample revealed that it is a mixture of two plasmids. One plasmid was 15,416 bp in size and contained 20 protein-coding genes and one gene encoding a non-coding RNA molecule (PrrB/RsmZ). The genes on this plasmid, identified through annotation, are responsible for replication and plasmid transfer between bacterial cells. The second plasmid was 2,450 bp in size and contained three genes encoding proteins of unknown function.

Based on our genomic analysis, *Stutzerimonas stutzeri* DIA-8, isolated from oil-contaminated soil in the Republic of Tatarstan, shows promise for the development of bioremediation agents for polluted ecosystems. The strain's genome contains genes that play a crucial role in the degradation of hydrocarbon compounds. The obtained results will contribute to further research of the physiological properties of the strain and its potential for restoring the productivity of disturbed lands. The complete genome nucleotide sequence has been deposited in the international GenBank database under accession number GCA_037081755.1.

The article contains 4 Figures, 1 Table, 36 References.

Keywords: genome-wide sequencing, catechol-1,2-dioxygenase, bioremediation, *Stutzerimonas stutzeri*

Fundings: the study was carried out within the framework of "Priority-2030" Strategic Academic Leadership Program. The work was performed within the framework of the State Assignment No. 1023033000409-3.

For citation: Babynin EV, Tsarkova YuR, Degtyareva IA. Genome characteristics of the *Stutzerimonas stutzeri* strain isolated from oil-contaminated soil of Tatarstan. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2025;71:199-216. doi: 10.17223/19988591/71/12

Введение

Stutzerimonas stutzeri – нефлуоресцирующая денитрифицирующая бактерия, широко распространенная в окружающей среде. Этот вид привлекает к себе большое внимание из-за своих особых метаболических свойств, таких как денитрификация [1], азотфиксация [2], деградация ароматических соединений [3], а также устойчивость к металлам и потенциальное применение в биоремедиации [4, 5]. Данный микроорганизм впервые описан Бурри и Штутцером в 1895 г. и был назван *Bacillus denitrificans* [6]. Леманн и Нейман включили данный организм в свой справочник под названием *Bacterium stutzeri* [7], а в 1952 г. Ван Нил и Аллен, обсудив фенотипические особенности, предложили обозначить его как *Pseudomonas stutzeri* [8]. Обнаружение все большего числа новых штаммов, относящихся к семейству *Pseudomonadaceae*, и накопление данных их секвенирования потребовали пересмотра таксономических единиц этого семейства. В результате в рамках этого семейства был выделен новый род *Stutzerimonas* [9], в который *Pseudomonas stutzeri* вошел уже как *Stutzerimonas stutzeri* [10].

Секвенирование генома стало рутинной практикой в микробиологических исследованиях благодаря достижениям в области технологий высокопроизводительного секвенирования и снижению затрат на его проведение. Все большее число полных геномов штаммов, выделенных из различных экосистем, накапливается в международной базе данных GenBank, что дает исследователям возможность тщательно анализировать генетическое разнообразие, оценивать таксономические связи, открывать новые таксоны и идентифицировать генетические детерминанты, связанные с конкретными видами физиологических свойств. Уже становится понятно, что при формировании микробных консорциумов как основы биопрепаратов для биоремедиации почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, требуется оценка метаболического потенциала всех участников консорциума с использованием данных полногеномного секвенирования.

Для понимания роли и биоремедиационного потенциала каждого из штаммов, входящих в выделенный нами нефтеокисляющий консорциум, ранее уже был секвенирован геном одного из штаммов этого консорциума – *S. warneri* [11]. Штаммы *S. warneri* неоднократно идентифицировали среди почвенной микробиоты, более того, эти штаммы обладали полезными для биоремедиации свойствами [12–14]. На данном этапе мы перешли к анализу генома штамма *S. stutzeri* DIA-8, что будет способствовать лучшему пониманию его генетической основы для деградации нефти, производства вторичных метаболитов, возможной вирулентности и некоторых других его физиологических функций. Помимо этого, настоящее исследование может послужить основой для разработки экономически эффективного и экологически чистого метода восстановления почв, загрязненных сырой нефтью. Целью данной работы является анализ нуклеотидной последовательности генома штамма *S. stutzeri* DIA-8 – деструктора нефти, а также идентификация в геноме этого штамма генов, ответственных за катаболизм ароматических соединений.

Материалы и методы

Из нефтезагрязненной почвы на территории Ромашкинского месторождения Республики Татарстан выделены микроорганизмы-деструкторы, три из которых отобраны по их способности расти на среде с нефтью, а также являлись продуцентами биосурфактантов. Видовая принадлежность штаммов идентифицирована с помощью нуклеотидной последовательности 16S рРНК при депонировании в ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения ФГБНУ ВНИИСХМ (Санкт-Петербург). В состав консорциума вошли бактерии следующих видов: *Achromobacter xylosoxidans*, *Staphylococcus warneri* и *S. stutzeri*.

Штамм *Stutzerimonas stutzeri* DIA-8 выращивали либо в питательном бульоне ГРМ-бульон (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболensk, Россия), либо на питательной агаризованной среде ГРМ-агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболensk, Россия). Геномную ДНК штамма выделяли следующим образом: одиночную бактериальную колонию, выросшую на агаризованной питательной среде LB («Fluka», Швейцария), переносили стерильной петлей в питательный бульон NB («Serva», Германия) и инкубировали в течение суток при температуре 30°C. Клетки из бактериальной культуры, достигшей OD600, собирали при 13000×g в настольной микроцентрифуге в течение 5 мин. Далее экстракцию геномной ДНК осуществляли с помощью набора для выделения суммарной ДНК ExtractDNA Blood & Cells («ЗАО Евrogen», Россия) согласно рекомендациям производителя. Качество и количество ДНК определяли с помощью спектрометра NanoDrop ND-2000 («Thermo Scientific», США), а также визуализацией в 0,8% агарозном геле. Полученную ДНК в концентрации 100 нг/мкл (оптическое поглощение образца A260/280 – 2,08 и A260/230 – 2,46) использовали для секвенирования. Плазмидную ДНК выделяли с помощью набора LumiSpin® PLASMID (ООО «Люми-проб РУС», Россия&ЕАЭС).

Секвенирование генома выполнено в НИЛ «Мультиомиксные технологии живых систем» Казанского федерального университета. Фрагментацию 1 мкг ДНК проводили ультразвуком с помощью прибора Covaris S220 («Covaris Inc.», США) в соответствии с рекомендациями производителя. Диапазон размеров после фрагментирования по данным Bioanalyzer составил от 50 до 700 п.н. с пиком в 400 п.н. Подготовку ДНК-библиотеки проводили с использованием набора NEBNext Ultra II («NEB», США) согласно инструкции производителя. Оценку качества полученной библиотеки фрагментов ДНК осуществляли на приборе 2100 Bioanalyzer («Agilent Technologies», США). Секвенировали на генетическом анализаторе MiSeq («Illumina», США) в режиме парных прочтений (2x300bp). Для секвенирования использовали набор MiSeq Reagent Kit v3. Секвенирование плазмидной ДНК проводили в биотехнологической компании Клонинг Фасилити (Москва) на основе технологий Nanopore.

Сборку генома *de novo* проводили через Ресурсный центр бактериальной и вирусной биоинформатики (BV-BRC) v3.6.2 (<https://www.bv-brc.org>) [15]. Полноту и уровень загрязнения генома оценивали с помощью CheckM v1.2.2 [16], представленного на сервере IPGA (<https://nmdc.cn/ipga/>) [17].

Таксономическую принадлежность генома определяли с помощью инструмента GTDB (Genome Taxonomy Database), который также представлен на сервере IPGA. Mash/MinHash использовали для идентификации ближайших эталонных геномов в BRC v.3.26.4 с настройками по умолчанию [18]. Тип входных данных: нуклеотидные последовательности. Секвенированная нуклеотидная последовательность генома депонирована в международную базу данных GenBank под номером GCA_037081755.1.

Цифровую гибридизацию ДНК-ДНК (dDDH) рассчитывали с помощью калькулятора расстояния между геномами GGDC v3.0 (<http://ggdc.dsmz.de/distcalc2.php>) [19]. Определение значений средней нуклеотидной идентичности (ANI) проводили с помощью онлайн-сервиса JSpeciesWS [20]. Филогенетическое дерево на основе полногеномных данных строили с использованием веб-сервера TYGS (<https://tygs.dsmz.de>) [19]. Далее филогенетические деревья скачивали с сайтов в формате Newick и визуализировали с использованием интерактивного онлайн-инструмента iTOL (<https://itol.embl.de>) [21].

Функциональную аннотацию генома проводили с помощью веб-сервиса RAST 2.0 (<https://rast.nmpdr.org>) с настройками по умолчанию [22]. Для прогнозирования патогенности использовали веб-сервер PathogenFinder (<https://cge.food.dtu.dk/services/PathogenFinder/>) [23], а также базу данных факторов вирулентности (VFDB) [24].

Результаты исследования и обсуждение

При расसेве штамма *S. stutzeri* DIA-8 на плотную питательную среду LB наблюдали желтые блестящие выпуклые колонии с неровными краями, от 0,5 до 3 мм в диаметре (рис. 1).



Рис. 1. Внешний вид колоний *S. stutzeri* DIA-8

[**Fig. 1.** External appearance of *S. stutzeri* DIA-8 colonies]

Полученный геном штамма *S. stutzeri* DIA-8 был собран в 28 контигов (> 500 п.н.) с N50 648 363 п.н. и общей длиной 4 496 503 п.н. Бактерии рода *Stutzerimonas* согласно базе данных NCBI имеют размер генома от 3,8 до 4,7 Мб. Содержание G + C геномной ДНК составило 63,9%. Конечная сборка имела показатели полноты 100% по присутствию маркерных генов и степень контаминации 0,14%, что свидетельствует о высоком качестве данного генома [16].

Геном классифицирован как принадлежащий *Stutzerimonas stutzeri* с помощью инструмента GTDB. Метод классификации бактерий с использованием полногеномных последовательностей стал хорошей альтернативой методу, основанному на сравнении последовательностей генов 16S рРНК, т.к. обеспечивает лучшее разрешение изолятов одного вида, имеющих идентичные последовательности 16S рРНК. В настоящее время такие показатели, как средняя идентичность нуклеотидов (ANI) и цифровая гибридизация ДНК-ДНК (dDDH), рассчитанные при сравнении нуклеотидных последовательностей полных геномов, наиболее широко применяют в качестве «золотого стандарта» для разграничения видов [24].

Результаты определения ANI и dDDH между *S. stutzeri* DIA-8 и другими представителями вида *S. stutzeri* показали, что значения сходства геномов варьировали от 97,31% до 97,90% для ANI и от 80,60% до 85,60% для dDDH (табл. 1), что выше рекомендуемых пороговых значений в 95% (ANI)

Таблица 1 [Table 1]

Значения ANI и dDDH между штаммом *Stutzerimonas stutzeri* DIA-8 и некоторыми штаммами *Stutzerimonas stutzeri*, а также типовыми штаммами других видов рода *Stutzerimonas*

[ANI and dDDH values between *Stutzerimonas stutzeri* strain DIA-8 and some *Stutzerimonas stutzeri* strains, as well as typical strains of other species of the genus *Stutzerimonas*]

| Штамм [Strain] | ANI, % | dDDH, % |
|---|--------|---------|
| <i>Stutzerimonas stutzeri</i> F2a | 97,90 | 85,60 |
| <i>Stutzerimonas stutzeri</i> MJL19 | 97,88 | 85,50 |
| <i>Stutzerimonas stutzeri</i> ZDHY95 | 97,85 | 85,10 |
| <i>Stutzerimonas stutzeri</i> SLG510A3-8 | 97,81 | 84,20 |
| <i>Stutzerimonas stutzeri</i> SDU10 | 97,60 | 82,00 |
| <i>Stutzerimonas stutzeri</i> S116 | 97,31 | 80,60 |
| <i>Stutzerimonas frequens</i> FDAARGOS_877 | 89,63 | 40,10 |
| <i>Stutzerimonas kunmingensis</i> 7850S | 86,31 | 32,00 |
| <i>Stutzerimonas chloritidismutans</i> 6L11 | 86,14 | 31,40 |
| <i>Stutzerimonas decontaminans</i> 19SMN4 | 86,12 | 31,60 |
| <i>Stutzerimonas degradans</i> FDAARGOS_876 | 82,33 | 26,30 |
| <i>Stutzerimonas balearica</i> DSM_6083 | 80,45 | 24,20 |
| <i>Stutzerimonas nitrititolerans</i> GL14 | 80,29 | 24,30 |
| <i>Stutzerimonas azotifigens</i> DSM_17556 | 78,81 | 23,30 |
| <i>Stutzerimonas xanthomarina</i> DSM_18231 | 78,06 | 22,00 |
| <i>Stutzerimonas kirikiae</i> P4C | 77,51 | 23,20 |

и 70% (dDDH) для определения видов прокариот соответственно [25]. Это указывает на то, что штамм DIA-8 принадлежит к виду *S. stutzeri*.

Построение сбалансированного минимального эволюционного дерева проводили с использованием сервера TYGS. Деревья были укоренены посередине и визуализированы с помощью iTOL. Результаты TYGS показали, что ветвь штамма DIA-8 находится внутри кластера видов *S. stutzeri* (рис. 2).

С помощью сервера быстрой аннотации с использованием подсистемной технологии (RAST) в геноме штамма *S. stutzeri* DIA-8 обнаружено 4265 белок-кодирующих последовательностей (CDS), 54 гена тРНК и 3 гена рРНК. Подсистемами с наибольшим присутствием CDS оказались следующие: 1) аминокислоты и их производные (314 CDS); 2) белковый обмен (209 CDS); 3) углеводы (182 CDS); 4) кофакторы, витамины и простетические группы (170 CDS); 5) подвижность и хемотаксис (109 CDS) (рис. 3). Кроме того, идентифицированы подсистемы, связанные с устойчивостью бактерий к стрессу (77 CDS), подходящие для создания сельско-

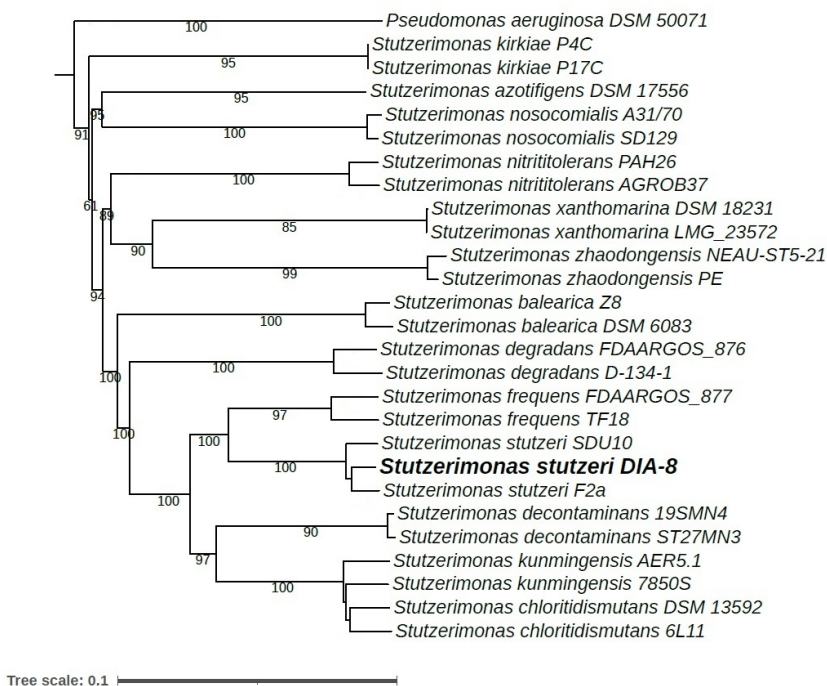


Рис. 2. Филогенетическое дерево, основанное на сравнении нуклеотидной последовательности генома штамма *Stutzerimonas stutzeri* DIA-8 и полных геномов других представителей рода *Stutzerimonas*. Геном *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071 использовался как внешняя группа
[Fig. 2. Phylogenetic tree based on portions of the nucleotide sequence of the genome of *Stutzerimonas stutzeri* DIA-8 and complete genomes of other representatives of the genus *Stutzerimonas*. The genome of *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071 is used as an outgroup]

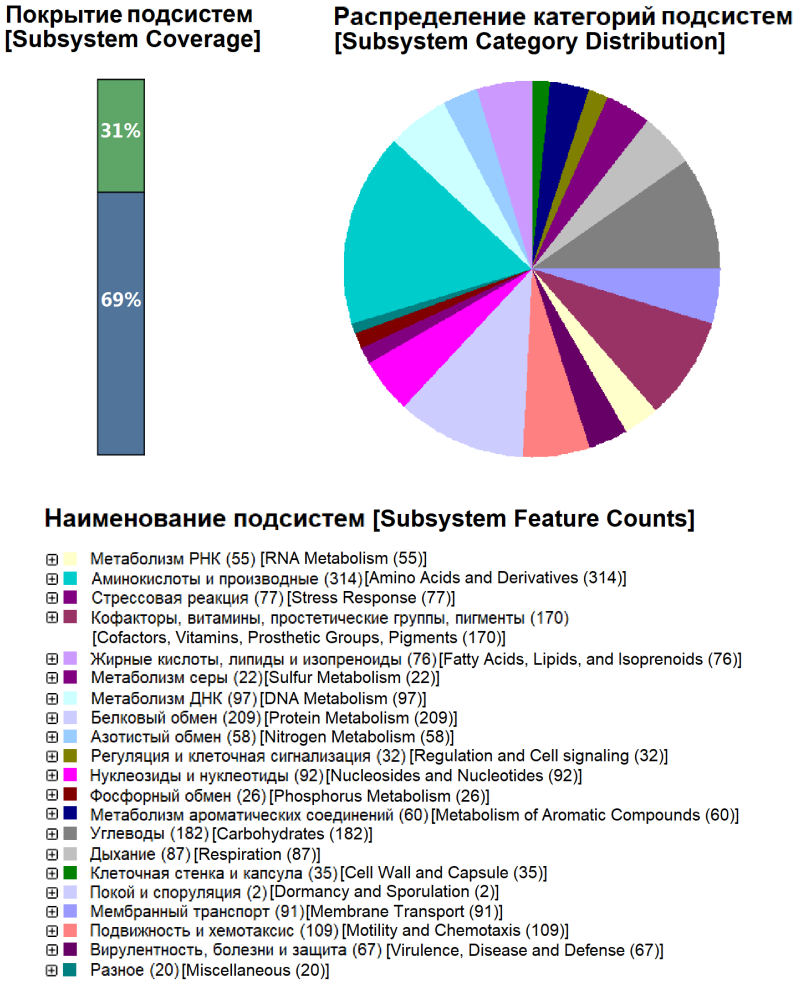


Рис. 3. Распределение категорий подсистем клеточного метаболизма у штамма *Stutzerimonas stutzeri* DIA-8 на основе результатов функциональной аннотации генома с помощью веб-сервиса RAST (<https://rast.nmpdr.org>). Круговая диаграмма представляет процентное содержание белков для каждой категории подсистем. Категории подсистем перечислены в легенде сверху вниз согласно направлению движения по круговой диаграмме по часовой стрелке. Цифры в скобках – число метаболических путей в соответствующей категории подсистемы. Покрытие подсистем – соотношение известных белков, которые могут быть помещены в существующие подсистемы (зеленый цвет), и неизвестных белков, которые не могут быть помещены ни в одну существующую подсистему (синий цвет)

[Fig. 3. Distribution of categories of subsystems of cellular metabolism in *Stutzerimonas stutzeri* strain DIA-8 based on the results of functional genome annotation using the RAST web service (<https://rast.nmpdr.org>). The pie chart represents the percentage of proteins for each category of subsystems. The categories of subsystems are listed in the legend from top to bottom according to the direction of movement on the pie chart clockwise. The numbers in parentheses are the number of metabolic pathways in the corresponding subsystem category. Subsystem coverage is the ratio of known proteins that can be placed in existing subsystems (green) and unknown proteins that cannot be placed in any existing subsystem (blue)]

хозяйственных биопродуктов, включая, среди прочего осмотический стресс (5 CDS), окислительный стресс (39 CDS) и детоксикацию (5 CDS).

Штаммы *Stutzerimonas* хорошо известны своим потенциалом в аэробной биоремедиации ароматических соединений [26]. Пути биodeградации ароматических соединений у различных бактерий сходятся к промежуточным соединениям, таким как катехол и его производные [27]. При аэробном пути деградации катехол и его замещенные производные впоследствии разлагаются катехолдиоксигеназами, которые расщепляют ароматическое кольцо путем введения двух атомов кислорода. По механизму расщепления ароматического кольца катехолдиоксигеназы подразделяются на два типа: индиолдиоксигеназы, к которым относится катехол-1,2-диоксигеназа (*catA*), и экстрадиолдиоксигеназы, ключевым ферментом этой группы является катехол-2,3-диоксигеназа (*xylE*) [28].

Из базы данных *NCBI* отобрано 77 полных геномов штаммов *S. stutzeri*, которые проанализированы на предмет наличия генов катехолдиоксигеназ. В геномах всех отобранных штаммов этого вида бактерий присутствовал ген *catA* (EC 1.13.11.1). Только 17% из обследованных штаммов помимо гена *catA* содержали также ген *xylE*.

Чтобы составить более полную картину потенциала *S. stutzeri* DIA-8 для биоремедиации был проведен поиск генов центральных и периферических путей катаболизма ароматических соединений. Согласно аннотации сервера RAST в геноме *S. stutzeri* DIA-8 обнаружено 60 генов, участвующих в метаболизме ароматических соединений (рис. 3), из которых 31 вовлечен в периферические пути и 27 – в центральные пути катаболизма ароматических соединений. Класс ферментов расщепления ароматического кольца у DIA-8 включал бензоат-1,2-диоксигеназу (EC 1.14.12.10), 1,6-дигидроксициклогекса-2,4-диен-1-карбоксилатдегидрогеназу (EC 1.3.1.25), катехол-1,2-диоксигеназу (EC 1.13.11.1), муконатциклоизомеразу (EC 5.5.1.1), муконолактон Δ-изомеразу (EC 5.3.3.4), 3-оксоадипат-енол-лактоназу (EC 3.1.1.24), 3-оксоадипат-КоА-трансферазу (EC 2.8.3.6), 3-оксоадипил-КоА тиолазу (EC 2.3.1.174) (рис. 4).

Биоинформатический анализ последовательности генома *S. stutzeri* DIA-8 выявил наличие генов, необходимых для биосинтеза гликолипидов. Такие гены, как фосфоманномутаза, глюкозо-1-фосфатгидролизная трансфераза, dTDP-глюкозо-4,6-дегидратаза, dTDP-4-дегидрорамнозо-3,5-эпимераза, dTDP-4-дегидрорамнозоредуктаза и ацилтрансфераза, присутствующие в геноме штамма DIA-8, участвуют в биосинтезе рамнолипидов [29]. Ранее было показано, что *S. stutzeri* способны продуцировать биосурфактанты, а также установлено, что эти биосурфактанты имеют рамнолипидную природу [30].

В геноме штамма *S. stutzeri* DIA-8 также идентифицированы гены, участвующие в выработке уреазы: альфа-субъединица, бета-субъединица и гамма-субъединица уреазы. Именно уреазы играют важную роль в катализе одного из метаболических путей, участвующих в микробно-индуцированном осаждении кальция (МИОК) [31]. МИОК является многообещающим подходом для связывания тяжелых металлов, таких как свинец и кадмий в загрязненных почвах [31].

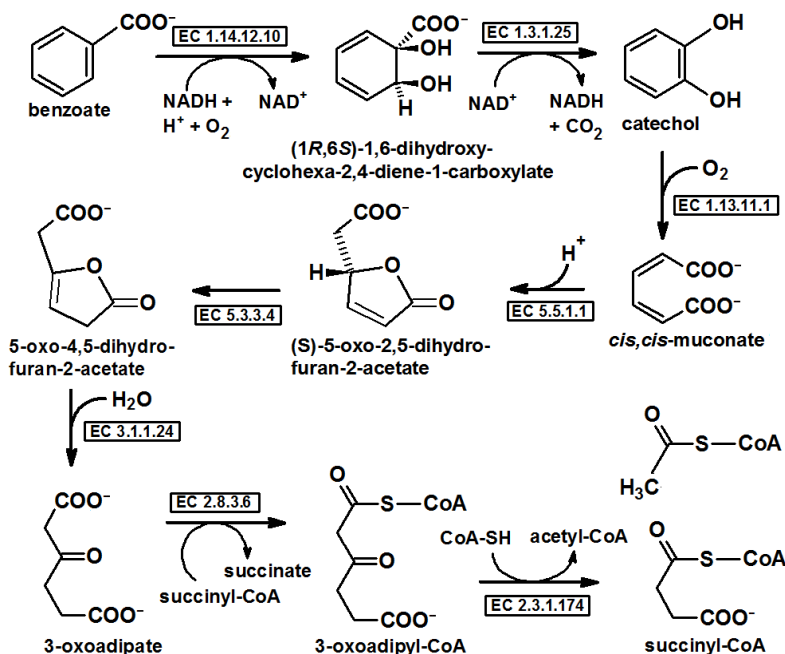


Рис. 4. Путь биodeградации бензола с указанием ферментов, гены которых присутствуют в геноме *S. stutzeri* DIA-8. Коды ферментов: EC 1.14.12.10 – бензоат-1,2-диоксигеназа, EC 1.3.1.25 – 1,6-дигидроксициклоhexa-2,4-диен-1-карбоксилатдегидрогеназа, EC 1.13.11.1 – катехол-1,2-диоксигеназа, EC 5.5.1.1 – муконат-циклоизомераза, EC 5.3.3.4 – муконолактон Δ-изомераза, EC 3.1.1.24 – 3-оксоадипатенол-лактоназа, EC 2.8.3.6 – 3-оксоадипат-КоА-трансфераза, EC 2.3.1.174 – 3-оксоадипил-КоА тиолаза

[Fig. 4. The benzene biodegradation pathway with an indication of the enzymes whose genes are present in the genome of *S. stutzeri* DIA-8. Enzyme codes: EC 1.14.12.10 - benzoate 1,2-dioxygenase, EC 1.3.1.25 - 1,6-dihydroxycyclohexa-2,4-diene-1-carboxylate dehydrogenase, EC 1.13.11.1 - catechol 1,2-dioxygenase, EC 5.5.1.1 - muconate cycloisomerase, EC 5.3.3.4 - muconolactone Δ-isomerase, EC 3.1.1.24 - 3-oxoadipate enol lactonase, EC 2.8.3.6 - 3-oxoadipate CoA-transferase, EC 2.3.1.174 - 3-oxoadipyl-CoA thiolase]

Секвенирование выделенной плазмидной ДНК показало, что образец представляет собой смесь двух плазмид. Одна из плазмид имеет размер 15416 п.н. и несет на себе 20 генов, кодирующих белки, и один ген некодирующей РНК молекулы (PrrB/RsmZ). Среди генов на этой плазмиде нет генов, детерминирующих антибиотикоустойчивость, а также генов, которые обсуждались выше. Те гены на этой плазмиде, функции которых удалось установить путем аннотирования, отвечают за репликацию и перенос данной плазмиды между бактериальными клетками. Вторая плазида имеет размер 2450 п.н. и несет на себе три гена, кодирующих белки с неизвестной функцией. При поиске гомологичной нуклеотидной последовательности в базе данных NCBI для ДНК малой плазмиды из нашего штамма мы нашли плазмиду pRGRH1809 размером 1471 п.н., которая была выделена из некультивируемой прокариоты при метагеномном анализе мик-

робиоты кишечника крысы, выловленной в больничной канализации Копенгагена (Дания). Хотя эти плазмиды отличались размером, они имели очень высокую идентичность (99%) по всей протяженности плазмиды pRGRH1809.

Анализ на веб-сервисе PathogenFinder с использованием контигов в качестве входных файлов показал, что штамм не является патогенным для человека. Вероятность, что штамм DIA-8 может быть патогеном, по результатам анализа составила 0,094, что ниже пороговых значений. Также мы проанализировали геном штамма DIA-8 на наличие генов вирулентности с помощью базы данных VFDB [24]. В качестве сравнения мы использовали геном штамма *Pseudomonas putida* KT2440, который определен как непатогенный [32], а также геномы штаммов, вирулентных для млекопитающих: *P. aeruginosa* PAO1 и *P. aeruginosa* PA7 [33]. *P. putida* KT2440 – первая грамотрицательная бактерия, сертифицированная Консультативным комитетом по рекомбинантной ДНК для разработки биотехнологических приложений [32].

Количество генов различных категорий факторов вирулентности согласно базе VFDB существенно отличалось у штамма *S. stutzeri* DIA-8 (29 генов) и непатогенного *P. putida* KT2440 (27 генов) от вирулентных изолятов *P. aeruginosa* PA7 (182 генов) и *P. aeruginosa* PAO1 (248 генов). Гены ключевых факторов вирулентности *P. aeruginosa*, среди которых можно назвать систему секреции типа 3 и ее эффекторов, фосфолипазы, ферменты эластазы и протеазы IV, ферменты синтеза феназина, экзотоксина-A, а также синтеза сидорофора пиохелина у *S. stutzeri* DIA-8 и *P. putida* KT2440 отсутствуют [33].

Среди выявленных факторов вирулентности как у *S. stutzeri* DIA-8, так и у *P. putida* KT2440 присутствовали гены, участвующие в синтезе жгутиков, и гены синтеза альгината. Альгинаты представляют собой экзополисахариды, которые способствуют образованию биопленок, защищающих бактерии от антибиотиков [34]. Хотя подвижность и образование биопленок также характерны для непатогенных бактерий окружающей среды, их рассматривают как механизмы патогенности, поскольку они необходимы для многих биологических функций, таких как поиск питательных веществ и выживание в неблагоприятных условиях.

Установлено 10-кратное различие в количестве генов биосинтеза пилей IV типа в геномах *S. stutzeri* DIA-8 и *P. putida* KT2440. У штамма DIA-8 их выявлено 20, в то время как в геноме *P. putida* KT2440 обнаружено лишь 2 гена этой системы. Пили IV типа – наиболее распространенный класс пилей, которые позволяют бактериям взаимодействовать с абиотическими поверхностями, клетками других микроорганизмов, а также клетками их хозяев. Помимо адгезии бактерии используют пили IV типа для образования биопленок и обмена молекулами [35]. Однако пили IV типа встречаются как у патогенных, так и у непатогенных видов бактерий и архей [36]. Таким образом, полученные нами данные по анализу генома могут указывать на то, что *S. stutzeri* DIA-8 имеет низкий патогенный потенциал, срав-

нимый с другими невирулентными изолятами рода *Pseudomonas*. После проведения токсикологической экспертизы штамма *S. stutzeri* DIA-8 и подтверждения его безопасности для окружающей среды и человека можно будет использовать его в качестве ценного биотехнологического инструмента.

Заключение

В результате полногеномного секвенирования установлено, что геном штамма *S. stutzeri* DIA-8 представлен хромосомой (размером около 4,5 млн п.н.) и двумя плазмидами (размером 15 416 и 2450 п.н.). Генов антибиотикорезистентности на плазмидах не обнаружено. После аннотирования генома в нем было выявлено 60 генов, ответственных за катаболизм ароматических соединений. Показано, что геном штамма *S. stutzeri* DIA-8 содержит набор генов, участвующих в полном разложении бензола. Анализ профиля генов вирулентности показал, что *S. stutzeri* DIA-8 имеет низкий патогенный потенциал, сравнимый с другими невирулентными изолятами рода *Pseudomonas*. Выделенный нами штамм-деструктор представляет интерес для разработки биотехнологий, направленных на восстановление нефтезагрязненных почв, характеризующихся повышенным содержанием тяжелых металлов.

Список источников

1. Wang J., Gao P., Pan X.L., Fan K.Y., Li Y., Gao Y.F., Gao Y. An aerobic denitrifier *Pseudomonas stutzeri* Y23 from an oil reservoir and its heterotrophic denitrification performance in laboratory-scale sequencing batch reactors // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2022. Vol. 174. 105471. doi: 10.1016/j.ibiod.2022.105471
2. Chen S., Han X., Xie S., Yang Y., Jing X., Luan T. Extracellular electron transfer drives ATP synthesis for nitrogen fixation by *Pseudomonas stutzeri* // *Electrochemistry Communications*. 2023. Vol. 154. 107562. doi: 10.1016/j.elecom.2023.107562
3. Brown L.M., Gunasekera T.S., Ruiz O.N. Draft genome sequence of *Pseudomonas stutzeri* strain 19, an isolate capable of efficient degradation of aromatic hydrocarbons // *Genome Announcements*. 2017. Vol. 5 (49). e01373-17. doi: 10.1128/genomeA.01113-14
4. Chakraborty R., Woo H., Dehal P., Walker R., Zemla M., Auer M. Complete genome sequence of *Pseudomonas stutzeri* strain RCH2 isolated from a hexavalent chromium [Cr(VI)] contaminated site // *Standards in Genomic Sciences*. 2017. Vol. 12. PP. 1–9. doi: 10.1186/s40793-017-0233-7
5. Zheng R., Wu S., Ma N., Sun C. Genetic and physiological adaptations of marine bacterium *Pseudomonas stutzeri* 273 to mercury stress // *Frontiers in Microbiology*. 2018. Vol. 9. 682. doi: 10.3389/fmicb.2018.00682
6. Burri R., Stutzer A. Ueber Nitrat zerstörende Bakterien und den durch dieselben bedingten Stickstoffverlust // *Zentralblatt für Bakteriologie. Abt. II*. 1895. Vol. 1. PP. 257–265.
7. Lehman K.B., Neumann O.R. Atlas und Grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik. München : J.F. Lehman, 1896. 448 p. doi: 10.5962/bhl.title.117384
8. Van Niel C.B., Allen M.B. A note on *Pseudomonas stutzeri* // *Journal of Bacteriology*. 1952. Vol. 64 (3). PP. 413–422. doi: 10.1128/jb.64.3.413-422.1952
9. Lalucat J., Gomila M., Mulet M., Zaruma A., García-Valdés E. Past, present and future of the boundaries of the *Pseudomonas* genus: Proposal of *Stutzerimonas* gen nov. // *Sys-*

- tematic and Applied Microbiology. 2022. Vol. 45. 126289. doi: 10.1016/j.syapm.2021.126289
10. Gomila M., Mulet M., García-Valdés E., Lalucat J. Genome-based taxonomy of the genus *Stutzerimonas* and proposal of *S. frequens* sp. nov. and *S. degradans* sp. nov. and emended descriptions of *S. perfectomarina* and *S. chloritidismutans* // Microorganisms. 2022. Vol. 10. 1363. doi: 10.3390/microorganisms10071363
 11. Дегтярева И.А., Бабынин Э.В., Мотина Т.Ю., Султанов М.И. Полногеномное секвенирование штамма *Staphylococcus warneri*, изолированного из загрязненной нефтью почвы // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10, № 1. С. 48–55. doi: 10.21285/2227-2925-2020-10-1-48-55
 12. Jahangi G.Z., Arshad Q.A., Shah A., Younas A., Naz S., Ali Q. BioFertilizing efficiency of phosphate solubilizing bacteria in natural environment: A trial field study on stress tolerant potato (*Solanum tuberosum* L.) // Applied Ecology and Environmental Research. 2019. Vol. 17. PP. 10845–10859. doi: 10.15666/aecer/1705_1084510859
 13. Meignanalakshmi S., Charulatha M., Vijayarani K. A preliminary study to evaluate *S. warneri* MF612183 isolated from tannery effluent for bioremediation of heavy metals // Indian Journal of Pure & Applied Biosciences. 2018. Vol. 6. PP. 1347–1351. doi: 10.18782/2320-7051.6280
 14. Mohsen L.Y., Jarallah E.M., Al-mamoori A.M.J. Screening and characterization of bio-surfactant-producing bacteria isolated from oil-contaminated soil // Journal of Pharmaceutical Negative Results. 2022. Vol. 13. PP. 1325–1331. doi: 10.47750/pnr.2022.13.S08.164
 15. Olson R.D., Assaf R., Brettin T., Conrad N., Cucinell C., Davis J.J. Introducing the bacterial and viral bioinformatics resource center (BV-BRC): A resource combining PATRIC, IRD and ViPR // Nucleic Acids Research. 2023. Vol. 51. PP. D678–D689. doi: 10.1093/nar/gkac1003
 16. Parks D.H., Imelfort M., Skennerton C.T., Hugenholtz P., Tyson G.W. Check M: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes // Genome Biology. 2015. Vol. 25. PP. 1043–1055. doi: 10.1101/gr.186072.114
 17. Liu D., Zhang Y., Fan G., Sun D., Zhang X., Yu Z., Wang J., Wu L., Shi W., Ma J. IPGA: A handy integrated prokaryotes genome and pan-genome analysis web service // iMeta. 2022. Vol. 1 (4). e55. doi: 10.1002/imt2.55
 18. Ondov B.D., Treangen T.J., Melsted P., Mallonee A.B., Bergman N.H., Koren S., Phillippy A.M. Mash: Fast genome and metagenome distance estimation using MinHash // Genome Biology. 2016. Vol. 17. PP. 132–145. doi: 10.1186/s13059-016-0997-x
 19. Meier-Kolthoff J.P., Sardà Carbasse J., Peinado-Olarte R.L., Göker M. TYGS and LPSN: a database tandem for fast and reliable genome-based classification and nomenclature of prokaryotes // Nucleic Acids Research. 2022. Vol. 50. PP. D801–D807. doi: 10.1093/nar/gkab902
 20. Richter M., Rosselló-Móra R., Glöckner F.O., Peplies J. JSpeciesWS: A web server for prokaryotic species circumscription based on pairwise genome comparison // Bioinformatics. 2016. Vol. 32. PP. 929–931. doi: 10.1093/bioinformatics/btv681
 21. Letunic I., Bork P. Interactive tree of life (iTOL) v4: Recent updates and new developments // Nucleic Acids Research. 2019. Vol. 47. PP. W256–W259. doi: 10.1093/nar/gkz239
 22. Aziz R.K., Bartels D., Best A.A., DeJongh M., Disz T., R Edwards A., Formosa K., Gerdes S., Glass E.M., Kubal M., Meyer F., Olsen G.J., Olson R., Osterman A.L., Overbeek R.A., McNeil L.K., Paarmann D., Paczian T., Parrello B., Pusch G.D., Reich C., Stevens R., Vassieva O., Vonstein V., Wilke A., Zagnitko O. The RAST Server: Rapid annotations using subsystems technology // BMC Genomics. 2008. Vol. 9. PP. 1–15. doi: 10.1186/1471-2164-9-75
 23. Cosentino S., Voldby Larsen M., Møller Aarestrup F., Lund O. PathogenFinder – Distinguishing friend from foe using bacterial whole genome sequence data // PLoS ONE. 2013. Vol. 8. e77302. doi: 10.1371/journal.pone.0077302

24. Liu B., Zheng D., Jin Q., Chen L., Yang J. VFDB 2019: A comparative pathogenomic platform with an interactive web interface // *Nucleic Acids Research*. 2019. Vol. 47 (D1). PP. D687–D692. doi: 10.1093/nar/gky1080
25. Chun J., Oren A., Ventosa A., Christensen H., Arahal D.R., da Costa M.S., Rooney A.P., Yi H., Xu X.W., De Meyer S., Trujillo M.E. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes // *The International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2018. Vol. 68. PP. 461–466. doi: 10.1099/ijsem.0.002516
26. Lalucat J., Bennasar A., Bosch R., García-Valdés E., Palleroni N. J. Biology of *Pseudomonas stutzeri* // *Molecular Biology Reviews*. 2006. Vol. 70. PP. 510–547. doi: 10.1128/MMBR.00047-05
27. Ladino-Orjuela G., Gomes E., da Silva R., Salt C., Parsons J.R. Metabolic pathways for degradation of aromatic hydrocarbons by bacteria // *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 2016. Vol. 237. PP. 105–121. doi: 10.1007/978-3-319-23573-8_5
28. Rodríguez-Salazar J., Almeida-Juarez A.G., Ornelas-Ocampo K., Millán-López S., Raga-Carbajal E., Rodríguez-Mejía J.L., Muriel-Millán L.F., Godoy-Lozano E.E., Rivera-Gómez N., Rudiño-Piñera E., Pardo-López L. Characterization of a novel functional trimeric catechol 1,2-dioxygenase from a *Pseudomonas stutzeri* isolated from the Gulf of Mexico // *Frontiers in Microbiology*. 2020. Vol. 4. 1100. doi: 10.3389/fmicb.2020.01100
29. Pardhi D.S., Panchal R.R., Raval V.H., Joshi R.G., Poccai P., Almalki W.H., Rajput K.N. Microbial surfactants: A journey from fundamentals to recent advances // *Frontiers in Microbiology*. 2022. Vol. 4. 982603. doi: 10.3389/fmicb.2022.982603
30. Singh D.N., Tripathi A.K. Coal induced production of a rhamnolipid biosurfactant by *Pseudomonas stutzeri*, isolated from the formation water of Jharia coalbed // *Bioresource Technology*. 2013. Vol. 128. PP. 215–221. doi: 10.1016/j.biortech.2012.10.127
31. Anbu P., Kang C-H., Shin Y-J., So J-S. Formations of calcium carbonate minerals by bacteria and its multiple applications // *SpringerPlus*. 2016. Vol. 5. 250. doi: 10.1186/s40064-016-1869-2
32. Regenhardt D., Heuer H., Heim S., Fernandez D.U., Strompl C., Moore E.R., Timmis K.N. Pedigree and taxonomic credentials of *Pseudomonas putida* strain KT2440 // *Environmental Microbiology*. 2002. Vol. 4 (12). PP. 912–915. doi: 10.1046/j.1462-2920.2002.00368.x
33. Qin S., Xiao W., Zhou C., Pu Q., Deng X., Lan L., Wu M. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics // *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022. Vol. 7 (1). 199. doi: 10.1038/s41392-022-01056-1
34. Moradali M.F., Ghods S., Rehm B.H.A. *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: A paradigm for adaptation, survival, and persistence // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2017. Vol. 7. 39. doi: 10.3389/fcimb.2017.00039
35. Ligthart K., Belzer C., de Vos W.M., Tytgat H.L.P. Bridging bacteria and the gut: Functional aspects of type IV pili // *Trends in Microbiology*. 2020. Vol. 28 (5). PP. 340–348. doi: 10.1016/j.tim.2020.02.003
36. Singh P.K., Little J., Donnenberg M.S. Landmark discoveries and recent advances in type IV pilus research // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2022. Vol. 86 (3). e0007622. doi: 10.1128/mbr.00076-22

References

1. Wang J, Gao P, Pan XL, Fan KY, Li Y, Gao YF, Gao Y. An aerobic denitrifier *Pseudomonas stutzeri* Y23 from an oil reservoir and its heterotrophic denitrification performance in laboratory-scale sequencing batch reactors. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2022;174:105471. doi: 10.1016/j.ibiod.2022.105471

2. Chen S, Han X, Xie S, Yang Y, Jing X, Luan T. Extracellular electron transfer drives ATP synthesis for nitrogen fixation by *Pseudomonas stutzeri*. *Electrochemistry Communications*. 2023;154:107562. doi: 10.1016/j.elecom.2023.107562
3. Brown LM, Gunasekera TS, Ruiz ON. Draft genome sequence of *Pseudomonas stutzeri* strain 19, an isolate capable of efficient degradation of aromatic hydrocarbons. *Genome Announcements*. 2017;5(49):e01373-17. doi: 10.1128/genomeA.01113-14
4. Chakraborty R, Woo H, Dehal P, Walker R, Zemla M, Auer M. Complete genome sequence of *Pseudomonas stutzeri* strain RCH2 isolated from a hexavalent chromium [Cr(VI)] contaminated site. *Standards in Genomic Sciences*. 2017;12:1-9. doi: 10.1186/s40793-017-0233-7
5. Zheng R, Wu S, Ma N, Sun C. Genetic and physiological adaptations of marine bacterium *Pseudomonas stutzeri* 273 to mercury stress. *Frontiers in Microbiology*. 2018; 9:682. doi: 10.3389/fmicb.2018.00682
6. Burri R, Stutzer A. Ueber Nitrat zerstörende Bakterien und den durch dieselben bedingten Stickstoffverlust. *Zentralblatt für Bakteriologie. Abt. II*. 1895;1:257-265.
7. Lehman KB, Neumann OR. *Atlas und Grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik*. München: J.F. Lehman; 1896. 448 p. doi: 10.5962/bhl.title.117384
8. Van Niel CB, Allen MB. A note on *Pseudomonas stutzeri*. *Journal of Bacteriology*. 1952;64(3):413-422. doi: 10.1128/jb.64.3.413-422.1952
9. Lalucat J, Gomila M, Mulet M, Zaruma A, García-Valdés E. Past, present and future of the boundaries of the *Pseudomonas* genus: proposal of *Stutzerimonas* gen. nov. *Syst. Appl. Microbiol*. 2022;45:126289. doi: 10.1016/j.syapm.2021.126289
10. Gomila M, Mulet M, García-Valdés E, Lalucat J. Genome-based taxonomy of the genus *Stutzerimonas* and proposal of *S. frequens* sp. nov. and *S. degradans* sp. nov. and emended descriptions of *S. perfectomarina* and *S. chloritidismutans*. *Microorganisms*. 2022;10:1363. doi: 10.3390/microorganisms10071363
11. Degtyareva IA, Babynin EV, Motina TYu, Sultanov MI. Full-genome sequencing of the *Staphylococcus warneri* strain isolated from oil-contaminated soil. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2020;10(1):48-55. In Russian, English summary. doi: 10.21285/2227-2925-2020-10-1-48-55
12. Jahangi GZ, Arshad QA, Shah A, Younas A, Naz S, Ali Q. BioFertilizing efficiency of phosphate solubilizing bacteria in natural environment: A trial field study on stress tolerant potato (*Solanum tuberosum* L.). *Applied Ecology and Environmental Research*. 2019;17:10845-10859. doi: 10.15666/aecer/1705_1084510859
13. Meignanalakshmi S, Charulatha M, Vijayarani K. A preliminary study to evaluate *S. warneri* MF612183 isolated from tannery effluent for bioremediation of heavy metals. *Indian Journal of Pure & Applied Biosciences*. 2018;6:1347-1351. doi: 10.18782/2320-7051.6280
14. Mohsen LY, Jarallah EM, Al-mamoori AMJ. Screening and characterization of biosurfactant-producing bacteria isolated from oil-contaminated soil. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*. 2022;13:1325-1331. doi: 10.47750/pnr.2022.13.S08.164
15. Olson RD, Assaf R, Brettin T, Conrad N, Cucinell C, Davis JJ. Introducing the bacterial and viral bioinformatics resource center (BV-BRC): A resource combining PATRIC, IRD and ViPR. *Nucleic Acids Research*. 2023;51:D678-D689. doi: 10.1093/nar/gkac1003
16. Parks DH, Imelfort M, Skennerton CT, Hugenholtz P, Tyson GW. Check M: Assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes. *Genome Research*. 2015;25:1043-1055. doi: 10.1101/gr.186072.114
17. Liu D, Zhang Y, Fan G, Sun D, Zhang X, Yu Z, Wang J, Wu L, Shi W, Ma J. IPGA: A handy integrated prokaryotes genome and pan-genome analysis web service. *iMeta*. 2022;1(4):e55. doi: 10.1002/imt2.55
18. Ondov BD, Treangen TJ, Melsted P, Mallonee AB, Bergman NH, Koren S, Phillippy AM. Mash: Fast genome and metagenome distance estimation using MinHash. *Genome Biology*. 2016;17:132-145. doi: 10.1186/s13059-016-0997-x

19. Meier-Kolthoff JP, Sardà Carbasse J, Peinado-Olarte RL, Göker M. TYGS and LPSN: A database tandem for fast and reliable genome-based classification and nomenclature of prokaryotes. *Nucleic Acids Research*. 2022;50:D801-D807. doi: 10.1093/nar/gkab902
20. Richter M, Rosselló-Móra R, Glöckner FO, Peplies J. JSpeciesWS: A web server for prokaryotic species circumscription based on pairwise genome comparison. *Bioinformatics*. 2016;32:929-931. doi: 10.1093/bioinformatics/btv681
21. Letunic I, Bork P. Interactive tree of life (iTOL) v4: Recent updates and new developments. *Nucleic Acids Research*. 2019;47:W256-W259. doi: 10.1093/nar/gkz239
22. Aziz RK, Bartels D, Best AA, DeJongh M, Disz T, R Edwards A, Formsma K, Gerdes S, Glass EM, Kubal M, Meyer F, Olsen GJ, Olson R, Osterman AL, Overbeek RA, McNeil LK, Paarmann D, Paczian T, Parrello B, Pusch GD, Reich C, Stevens R, Vassieva O, Vonstein V, Wilke A, Zagnitko O. The RAST Server: Rapid annotations using subsystems technology. *BMC Genomics*. 2008;9:1-15. doi: 10.1186/1471-2164-9-75
23. Cosentino S, Voldby Larsen F, Møller Aarestrup F, Lund O. PathogenFinder - distinguishing friend from foe using bacterial whole genome sequence data. *PLoS ONE*. 2013;8:e77302. doi: 10.1371/journal.pone.0077302
24. Liu B, Zheng D, Jin Q, Chen L, Yang J. VFDB 2019: A comparative pathogenomic platform with an interactive web interface. *Nucleic Acids Research*. 2019;47(D1):D687-D692. doi: 10.1093/nar/gky1080
25. Chun J, Oren A, Ventosa A, Christensen H, Arahal DR, da Costa MS, Rooney AP, Yi H, Xu XW, De Meyer S, Trujillo ME. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes. *The International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2018;68:461-466. doi: 10.1099/ijsem.0.002516
26. Lalucat J, Bennisar A, Bosch R, García-Valdés E, Palleroni NJ. Biology of *Pseudomonas stutzeri*. *Molecular Biology Reviews*. 2006;70:510-547. doi: 10.1128/MMBR.00047-05
27. Ladino-Orjuela G, Gomes E, da Silva R, Salt C, Parsons JR. Metabolic pathways for degradation of aromatic hydrocarbons by bacteria. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 2016;237:105-121. doi: 10.1007/978-3-319-23573-8_5
28. Rodríguez-Salazar J, Almeida-Juarez AG, Ornelas-Ocampo K, Millán-López S, Raga-Carbajal E, Rodríguez-Mejía JL, Muriel-Millán LF, Godoy-Lozano EE, Rivera-Gómez N, Rudiño-Piñera E, Pardo-López L. Characterization of a novel functional trimeric catechol 1,2-dioxygenase from a *Pseudomonas stutzeri* isolated from the Gulf of Mexico. *Frontiers in Microbiology*. 2020;4:1100. doi: 10.3389/fmicb.2020.01100
29. Pardhi DS, Panchal RR, Raval VH, Joshi RG, Poczai P, Almalki WH, Rajput KN. Microbial surfactants: A journey from fundamentals to recent advances. *Frontiers in Microbiology*. 2022;4:982603. doi: 10.3389/fmicb.2022.982603
30. Singh DN, Tripathi AK. Coal induced production of a rhamnolipid biosurfactant by *Pseudomonas stutzeri*, isolated from the formation water of Jharia coalbed. *Bioresource Technology*. 2013;128:215-221. doi: 10.1016/j.biortech.2012.10.127
31. Anbu P, Kang C-H, Shin Y-J, So J-S. Formations of calcium carbonate minerals by bacteria and its multiple applications. *SpringerPlus*. 2016;5:250. doi: 10.1186/s40064-016-1869-2
32. Regenhardt D, Heuer H, Heim S, Fernandez DU, Strompl C, Moore ER, Timmis KN. Pedigree and taxonomic credentials of *Pseudomonas putida* strain KT2440. *Environ. Microbiol.* 2002;4(12):912-915. doi: 10.1046/j.1462-2920.2002.00368.x
33. Qin S, Xiao W, Zhou C, Pu Q, Deng X, Lan L, Wu M. *Pseudomonas aeruginosa*: Pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022;7(1):199. doi: 10.1038/s41392-022-01056-1
34. Moradali MF, Ghods S, Rehm BHA. *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: A paradigm for adaptation, survival, and persistence. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2017;7:39. doi: 10.3389/fcimb.2017.00039

35. Ligthart K, Belzer C, de Vos WM, Tytgat HLP. Bridging bacteria and the gut: Functional aspects of type IV pili. *Trends in Microbiology*. 2020;28(5):340-348. doi: 10.1016/j.tim.2020.02.003
36. Singh PK, Little J, Donnenberg MS. Landmark discoveries and recent advances in type IV pilus research. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2022;86(3):e0007622. doi: 10.1128/mmbr.00076-22

Информация об авторах:

Бабынин Эдуард Викторович, канд. биол. наук, доцент кафедры генетики, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет; с.н.с. лаборатории молекулярно-генетических и микробиологических методов, Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» (Казань, Россия).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2285-8879>

E-mail: edward.b67@mail.ru

Царькова Юлия Равилевна, аспирант кафедры генетики, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет (Казань, Россия).

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-1658-4553>

E-mail: ju.gusmanova@yandex.ru

Дегтярева Ирина Александровна, д-р биол. наук, г.н.с. лаборатории молекулярно-генетических и микробиологических методов, Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» (Казань, Россия).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1575-8493>

E-mail: peace-1963@mail.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Eduard V. Babynin, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof. of the Department of Genetics, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University; senior researcher of the Laboratory of Molecular Genetics and Microbiological Methods, Federal Research Center "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences" (Kazan, Russian Federation).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2285-8879>

E-mail: edward.b67@mail.ru

Yulia R. Tsarkova, PhD student at the Department of Genetics, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University (Kazan, Russian Federation).

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-1658-4553>

E-mail: ju.gusmanova@yandex.ru

Irina A. Degtyareva, Dr. Sci. (Biol.), chief scientist of the Laboratory of Molecular Genetics and Microbiological Methods, Federal Research Center "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences" (Kazan, Russian Federation).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1575-8493>

E-mail: peace-1963@mail.ru

The Authors declare no conflict of interest.

*Статья поступила в редакцию 20.10.2024;
одобрена после рецензирования 16.12.2024; принята к публикации 04.09.2025*

*The article was submitted 20.10.2024;
approved after reviewing 16.12.2024; accepted for publication 04.09.2025*