

АКТИНОМИЦЕТЫ *RHODOCOCCUS RUBER* – КЛЮЧЕВЫЕ И УНИВЕРСАЛЬНЫЕ БИООКИСЛИТЕЛИ ГАЗООБРАЗНЫХ АЛКАНОВ C₂–C₄¹

© 2025 г. И. Б. Ившина^{a, b, *}, М. С. Куюкина^{a, b}, А. В. Криворучко^{a, b}, Е. А. Тюмина^{a, b}

^aИнститут экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН –

филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, Пермь, 614081, Россия

^bПермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, 614990, Россия

*e-mail: ivshina@iegm.ru

Поступила в редакцию 16.07.2024 г.

После исправления 20.08.2024 г.

Принята к опубликованию 08.09.2024 г.

В последние годы наблюдается возрастание интереса исследователей к микроорганизмам, способным окислять высшие газообразные гомологи метана (этан, пропан, *n*-бутан). Среди пропан- и бутано-окисляющих бактерий особое внимание привлекают представители *Rhodococcus ruber*, они могут легко адаптироваться к экстремальным условиям среды и обладают значительным потенциалом для биотехнологии. В обзоре подчеркивается значимость *R. ruber* как биоиндикатора нефтегазовых месторождений и компонента микробных консорциумов для деградации углеводородов и других ксенобиотиков. Представлены данные о природных субстратах и экологических нишах газоокисляющих *Rhodococcus*, описаны их морфологические и физиологические особенности. Обсуждается их роль в биогеохимических циклах и потенциал промышленного использования. В результате анализа функциональных генов и ферментных систем катаболизма газообразных углеводородов (C₂–C₄) выявлены ключевые этапы окисления пропана у родококков и раскрыта роль пропанотрофии в биоремедиационном потенциале *R. ruber*. Обоснована необходимость дальнейших исследований для понимания механизмов адаптации этих микроорганизмов к антропогенному воздействию.

Ключевые слова: *Rhodococcus ruber*, газообразные *n*-алканы, окисление пропана и *n*-бутана, растворимые ди-железосодержащие монооксигеназы

DOI: 10.31857/S0026365625010019

ВВЕДЕНИЕ

В последнее десятилетие заметно возвращение фундаментального интереса к микроорганизмам, окисляющим высшие газообразные гомологи метана – этан, пропан, *n*-бутан. Если еще до недавнего времени считался общепризнанным факт, что этой способностью обладает лишь ограниченное число микроорганизмов, то сегодня использование широкого спектра газообразных (C₁–C₄), жидких (C₅–C₁₇) и твердых (C₁₈ и более) углеводородов – не случайное явление в микробном мире. Переключение внимания на изучение бактерий, использующих *n*-алканы C₂–C₄ и другие органические соединения, но не метан, связано с их экологическими особенностями, метаболической гибкостью

(универсальностью), способностью к адаптации в экстремальных условиях среды, а также их практической ценностью и реальностью использования в различных областях микробной биотехнологии – от биосинтеза кормового белка на природном газе и биокатализа в тонком органическом синтезе до биоиндикации нефтегазоносных залежей, определения мест неуправляемой эмиссии горючих газов из подземных резервуаров и газопроводов, интенсификации процессов деградации нефтезагрязнений и дезактивации летучих углеводородов, обнаруживаемых в промышленных стоках и водоносных горизонтах (Ившина и соавт., 1981; Reddy et al., 2012; Farhan Ul Hague et al., 2022).

На настоящий момент накоплен значительный материал по биохимическому окислению

¹Дополнительные материалы размещены в электронном виде по DOI статьи: <https://doi.org/10.31857/S0026365625010019>

газообразных углеводородов, в том числе пропана и *n*-бутана (типичных компонентов природного газа) и промежуточных продуктов их асимиляции бактериями с пониманием путей их метаболизма (van Beilen, Funhoff, 2007; Coleman et al., 2012; Aliakbari et al., 2014; Cappelletti et al., 2018; Picone et al., 2020; Awala et al., 2021; Farhan Ul Hague et al., 2022; Vogt et al., 2023). Однако оценка значимости газоокисляющих бактерий для практики требует постоянного обобщения научной информации с целью определения оптимальных шагов в фундаментальных и прикладных исследованиях этой перспективной группы микроорганизмов.

Несмотря на растущее число исследований пропан- и бутанокисляющих бактерий, сведения о них пока еще неполные, остается много фундаментальных вопросов, требующих углубленного изучения особенностей их химической активности в отношении высших газообразных гомологов метана, ферментной природы осуществляемых ими физиологических процессов, механизмов регуляции обмена веществ, адаптивных реакций в ответ на усиливающееся антропогенное влияние, анализа функциональных генов, имеющих значение в биотехнологических процессах, их дифференцированной активности в условиях воздействия газообразных и жидких углеводородов и других ксенобиотиков. Эти работы только начинают разворачиваться благодаря доступности растущих коллекционных фондов референтных (“ключевых”) штаммов-деструкторов и полностью секвенированных микробных геномов, современных методов “прикладной” биоинформатики (van Beilen, Funhoff, 2007; Ji et al., 2013; Deng Y. et al., 2018; Tupa, Masuda, 2018a, 2018b; Chen et al., 2023; Eshghdoostkhatami, Cupples, 2024; Ferrari et al., 2024).

Учитывая скорость появления и объемы новых данных по обнаружению и филогенетическому анализу генов, подтверждающих катаболическую многосторонность газоокисляющих микроорганизмов (Hamamura et al., 2001; Sayavedra-Soto et al., 2011; Cappelletti et al., 2015; Táncsics et al., 2015; Lai et al., 2021; Bell et al., 2022; Farhan Ul Hague et al., 2022; Chen et al., 2023; Liu et al., 2023; Ferrari et al., 2024), настоящий обзор сфокусирован на собственных многолетних исследованиях авторов и публикациях последних лет, в том числе касающихся новых аспектов нефтегазопоисковой информативности, проблемы очистки и ремедиации природных объектов, на примере одних из ключевых представителей пропан- и бутанокисляющих бактерий, принадлежащих к актиномицетам *Rhodococcus ruber*, разлагающих, помимо газообразных алканов, жидкие углеводороды, хлорированные углеводороды и другие соединения. В обзоре основное внимание уделяется роли в природных процессах и распространению в окружающей среде

R. ruber и возможности их потенциального применения в экологических биотехнологиях.

Бесспорно, все вопросы, связанные с прикладными аспектами изучения этой экологически значимой группы микроорганизмов, требуют (1) создания программы высокопродуктивного скрининга *R. ruber*, выделяемых из разнообразных природных сред, (2) адекватных методов количественного определения их в смешанных микробных популяциях, (3) изучения адаптационных механизмов данной группы микроорганизмов, реализуемых в неблагоприятных экологических ситуациях, а также (4) четкого определения таксономической принадлежности практически ценных культур.

Цель настоящего обзора – привлечь внимание к этой биотехнологически значимой группе *Rhodococcus* как надежным биокатализаторам, отвечающим требованиям промышленной эксплуатации. Решение вопросов, связанных с пониманием молекулярных механизмов, задействованных в катаболизме антропогенных поллютантов экстремотолерантными родококками, а также оценкой возможности их длительной биотехнологической эксплуатации, имеет важное значение.

ИСТОЧНИКИ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВЫСШИХ ГАЗООБРАЗНЫХ ГОМОЛОГОВ МЕТАНА (C₂–C₄) В ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЕ. НЕФТЕГАЗОПОИСКОВАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ ГАЗООКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Газообразные алканы – этан, пропан и *n*-бутан, подобно метану, принадлежат к классу предельных (насыщенных водородом) углеводородов, содержащих прочные одинарные связи C–C и C–H. В силу своего строения алканы характеризуются малой химической активностью. Газообразные углеводороды локализованы на Земле в основном в верхних горизонтах литосферы в виде газовых и нефтяных месторождений, приуроченных главным образом к осадочным породам и залегающих на глубине от 0.5 до 5.0 км. Обширными источниками, содержащими и генерирующими метан (CH₄) и другие газообразные алканы (C₂–C₄), являются также угольные шахты, субтропические и тропические зоны Земли с повышенной влажностью, Мировой океан и др. Антропогенные источники поступления газообразных углеводородов в атмосферу: нефтегазоразведка–добыча–транспортировка–подземное хранение. Как правило, в составе газов газовых месторождений, в газовых шапках и попутных газах преобладает метан. Максимальные концентрации пропана и бутана отмечаются в составе газов, растворенных в нефти, их содержание достигает 40 и 12% соответственно (Etiope et al., 2009). Закономерно увеличение доли

тяжелых газообразных гомологов метана с глубиной залегания нефтегазоносных залежей. Высокая концентрация пропана и бутана в водорасстворенных газах пластовых вод нефтегазоносных и артезианских бассейнов. Общие запасы углеводородных газов в подземной гидросфере намного превышают их скопления в месторождениях.

В атмосферу газообразные углеводороды различного происхождения – геохимического (термогенного, неорганического, абиогенного, иско-паемого) и биогенного (органического) попадают разными путями. С одной стороны, с восходящим непрерывным потоком мигрирующих газов из недр Земли. Расчетная среднесуточная интенсивность газового потока из нефтегазоносных залежей составляет от 2.8 до 37.0 см³ с 1 м². Только за счет диффузии с 1 км² площади за год теряется не менее 100 кг углеводородных газов. Впечатляющие непрерывные выбросы природного газа наблюдаются из горячего кратера “Дверь в преисподнюю” (“Врата ада”, диаметр кратера ~ 60 м, глубина ~ 20 м) вблизи селения Дарваза (Туркменистан), который образовался в результате провала при бурении нефтегазоразведочной скважины (<http://www.advantour.com/rus/turkmenistan/darvaza-gas-crater.htm>), или беспрецедентный разлив нефти Deepwater Horizon (DWH) в Мексиканском заливе, который привел к выбросу 4.1 млн баррелей нефти, при этом общее количество попавших в толщу воды газообразных и летучих алканов (C₁–C₅) составило 1.7 × 10¹¹ г (Reddy et al., 2012; Dubinsky et al., 2013).

С другой стороны, это загрязнение атмосферы, гидросферы и почвы углеводородами, главным образом биогенным метаном, большая (80%) часть которого образуется за счет деятельности метаногенных архей в бескислородных условиях из CO₂ и H₂. Вопрос о возможности образования тяжелых газообразных углеводородов C₂–C₄ при анаэробном биоразложении органических веществ долго оставался дискуссионным, пока исследователи не документировали незначительное содержание высших газообразных гомологов метана в современных отложениях. Было высказано предположение о микробиологическом генезисе этих газов, которые могут являться продуктами деятельности подповерхностного микробного сообщества и вносить существенный вклад в выбросы парниковых газов посредством пропано- или бутаногенеза. Остается неясным, как фитопланктон влияет на образование и выбросы неметановых газообразных углеводородов морского происхождения, которые воздействуют на окислительный баланс атмосферы. Он может играть важную роль в смягчении последствий антропогенного изменения климата (Taylor et al., 2000; Hinrichs et al., 2006; Cavicchioli et al., 2019; Li et al., 2021). Показано, что при анаэробном разложении различных органических

субстратов (илов, торфов, нефти, водорослей, живых и жирных кислот) выделяется практически чистый метан, а тяжелые газообразные гомологи метана не концентрируются в скоплениях, и их содержание не превышает 10⁻³–10⁻⁵ % (Gerrich et al., 1983). Согласно подсчетам, 200 г почвы по массе содержат менее 1 ppm (лат. “*pro pro mille*”, миллионная доля или млн. ⁻¹) насыщенных углеводородов (C₂, C₃); для нефтегазоносных областей эта величина составляет 25 ppm и выше (Horvitz, 1972; Mutnuri et al., 2012). Для мигрирующих из нефтяных залежей углеводородных газов характерно повышенное содержание тяжелых гомологов метана, достигающее 10–17%, в том числе 0.45 Тг/год этана, 0.09 Тг/год пропана (Etiope, Ciccioli, 2009) и 10 Тг/год бутана (Jackel et al., 2014).

Источник C₂–C₄ – высшие растения, которые в составе газообразных выделений экскретируют в атмосферу и данные низшие алканы. Выделение растениями газообразных углеводородов широко распространено в природе. Недавно из морских отложений в районе Ла-Манша была выделена и идентифицирована бактерия *Photobacterium* sp. FC4.9, продуцирующая пропан (Currie et al., 2022). При этом естественное загрязнение околосземного пространства углеводородными газами незначительно по сравнению с тем, которое создает современное промышленное производство, сжигание топлив, транспорт. На разных стадиях деятельности нефтегазового комплекса суммарные потери природного газа, основными компонентами которого являются метан и другие углеводородные газы, составляют около 700 млн. т в год (без учета аварийных ситуаций), в том числе 45 млн. т в год геологических выбросов “снизу вверх” в результате микрофильтрации и диффузных потоков (Etiope, Klusman, 2002; Saunois et al., 2020; Mazzini et al., 2021).

Газообразные углеводороды, являясь неотъемлемой частью биосфера, широко распространены в литосфере, гидросфере и атмосфере Земли. Однако концентрация их в земной атмосфере не достигает значительных величин. Данный феномен объясняется деятельностью микроорганизмов, способных использовать газообразные углеводороды в качестве единственного источника углерода и энергии. Микробиологическая трансформация этих соединений предотвращает их аккумуляцию в почвенных горизонтах, подземных водах и атмосферном воздухе. Одной бактериальной клеткой за 1 сутки поглощается от 1.1 × 10⁻⁹ до 3.1 × 10⁻⁹ см³ метана, а одна клетка пропанотрофных бактерий потребляет за 1 час 2.8 × 10⁻¹² см³ пропана. Газоокисляющие микроорганизмы способны расти в присутствии низкой концентрации углеводородных газов, что обусловлено физическими особенностями таких ростовых субстратов. Растворимость газообразных *n*-алканов с длиной

углеродной цепи от C_2 до C_4 в воде мала и составляет около 60 ppm при температуре $25 \pm 1.5^\circ\text{C}$ и давлении 1 атм. (McAuliffe, 1963). Низкая растворимость газа приводит к быстрому формированию газовой фазы, находящейся в равновесии с растворенным газом, что поддерживает постоянно низкую концентрацию питательного субстрата для организмов. Поэтому микроорганизмы, окисляющие газообразные алканы, являются олигокарбофилами, они способны использовать эти углеводороды в крайне низких (от 10^{-6} об. %) концентрациях (Wagner et al., 2002). Например, минимальная концентрация пропана, необходимая для развития популяции пропанотрофов (при этом их численность приближается к 10^6 кл./мл/г), оценивается в 0.001%.

Развитие пропан- и бутанокисляющих микроорганизмов в природных биоценозах возможно в основном за счет термогенных углеводородных газов, постоянно диффундирующих и вертикально мигрирующих от нефтегазоносных залежей под действием пластового давления к дневной поверхности. В зоне газовых, нефтяных и угольных месторождений, искусственных газовых подземных залежей, в местах длительной локальной микрофильтрации эндогенных газов специализированные газоокисляющие микроорганизмы формируют мощный “бактериальный окислительный фильтр” и таким образом экранируют природные экосистемы лито- и гидросфера Земли от углеводородного загрязнения, а также способствуют уменьшению эмиссии “антропогенной продукции” (в том числе хлорированных соединений) парниковых газов.

Согласно идеи российского ученого-геолога Могилевского Г.А., сформулированной им еще в 1953 году при проведении разведки залежей нефти и газа методом поверхностной газовой съемки, в подпочвенных отложениях может существовать своеобразный биологический “фильтр” из бактерий, потребляющих углеводородные газы C_1 – C_4 и летучие C_5 – C_8 алканы миграционного потока из недр (Могилевский, 1953).

Для подтверждения данного явления и его использования в нефтегазопоисковых целях в 70–90-х годах прошлого столетия в России были детально изучены биогеохимические процессы в районах формирования геохимических и геофизических полей над нефтяными и газовыми месторождениями. Были выявлены постоянные, доминирующие и наиболее информативные компоненты естественных микробиоценозов в подземных водах и подпочвенных отложениях разведочных и нефтегазоносных площадей. Определены качественный состав и динамика численности газоассимилирующих бактерий в зависимости от сезонов года и экологических факторов, проанализировано содержание тяжелых газообразных n -алканов в водных и почвенных образцах,

отобранных в разные сезоны года в контуре нефтяных месторождений и за его пределами, а также в районах разбуренных непродуктивных структур. Сопоставление многочисленных разнородных факторов (геологических, микробиологических, математических, физико-химических), полученных в результате многолетних полевых и лабораторных исследований, выявленная при этом корреляция между количеством и составом мигрирующих газов и частотой обнаружения, численностью и интенсивностью развития бактерий, использующих тяжелые газообразные углеводороды в качестве единственного источника углеродного питания, подтвердили реальность существования окислительного “бактериального фильтра” в зоне газовых и нефтяных месторождений (Ившина и соавт., 1987; Оборин, Стадник, 1996).

Параллельно с исследованиями в России аналогичные работы в области нефтегазопоисковой биогеохимии проводились в Германии и США. В относительно короткий период времени проведенный анализ газовых компонентов и микробиоты подпочвенных отложений, а также подземных вод позволил установить приуроченность отдельных видов пропан- и бутанокисляющих бактерий к контурам нефтеносных структур. К ним относятся, в первую очередь, грамположительные бактерии – преимущественно представители родов *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Rhodococcus* (группа CMNR) и родственные им организмы (Ившина и соавт., 1981; Vestal, Perry, 1969; Hou et al., 1983a,b; Patel et al., 1983; van Ginkel et al., 1987a, 1987b; Ashraf, Murrell, 1992), а также грамотрицательные *Pseudomonas* или *Thauera* (Takahashi et al., 1980; Hou et al., 1983a, 1983b; Arg, 1999; Pandey et al., 2002).

Активность бактериального фильтра (эффект Могилевского), основным носителем которого является почва, может быть настолько велика, что полностью перехватывает поток просачивающихся газов. Зона максимальной интенсивности бактериальных процессов окисления газообразных углеводородов расположена на глубинах 0.5–3.0 м (Wagner et al., 2002; Rasheed et al., 2008; Yuan et al., 2009; Zhang et al., 2010; Zhou et al., 2020). Ниже до уровня грунтовых вод располагается зона относительно низкой, но постоянной активности бактериального фильтра. Газообразные и летучие алканы, входящие в состав ореола рассеивания месторождений углеводородов, демонстрируют высокую миграционную способность и могут свободно перемещаться в почвенном профиле до уровня грунтовых вод. Зона максимальной интенсивности функционирования бактериального фильтра, где происходит окисление до 90% углеводородных газов, отличается относительной обедненностью почвы органическим веществом, характеризуется динамичностью во времени и подвержена воздействию комплекса факторов окружающей среды, включая

температуру, влажность, инсоляцию, показатели pH и Eh, концентрацию питательных веществ в почве, а также агрегатный состав почвенного покрова. Окисление мигрирующих газов коренными составляющими микробиоценоза “бактериального фильтра” определяет нефтегазопоисковую информативность микроорганизмов, использующих в качестве единственного источника углерода и энергии прежде всего пропан и *n*-бутан (Ившина и соавт., 1981; Tucker, Hitzman, 1994; Wagner et al., 2002; Rasheed et al., 2011, 2015; Deng C. et al., 2016; Deng Y. et al., 2018; Zhou et al., 2020). Поисковое значение метанотрофов ограничено тем, что метан в верхних горизонтах Земли может накапливаться в результате процессов его микробной генерации. Это подчеркивает необходимость осторожности при интерпретации данных, полученных с использованием метанокисляющих бактерий в качестве биомаркеров углеводородных скоплений.

Интенсивность биогенного образования тяжелых гомологов метана мала и зачастую не может обеспечить развитие биоиндикаторных микроорганизмов в измеримых количествах. Вместе с тем высокое содержание (от 10³ до 10⁴ кл./мл в водных и от 10⁵ до 10⁶ кл./г в почвенных образцах) сверхчувствительных пропан- и бутанокисляющих бактерий приурочено к газонефтеносным районам, характеризующимся значительной концентрацией тяжелых газообразных углеводородов (Ившина и соавт., 1981, 1987, 1995; Lakshmi et al., 2012; Rasheed et al., 2013; Zhang et al., 2013).

Степень эффективности прогнозов, полученных с использованием геомикробиологического метода разведки нефтяных и газовых залежей и подтвержденных структурным бурением, составила от 95 до 100% для отрицательных и от 60 до 90% для положительных оценок (Ившина и соавт., 1987; Wagner et al., 2002; Yuan et al., 2009; Lakshmi et al., 2012; Rasheed et al., 2013, 2015). Как показывает практика, геомикробиологические исследования на разведочных площадях (в сочетании с геологическими, геофизическими, геохимическими и дистанционными методами) должны стать неотъемлемой составляющей поисковых работ на нефть и газ. Вместе с тем в теории и практике геомикробиологической разведки остается еще немало спорных и нерешенных вопросов, много открытых проблем для будущих исследований, в том числе повышения экономической эффективности поисково-разведочных работ на нефть и газ.

Для вывода дальнейших исследований в этой области на качественно новый уровень могут быть использованы достижения функциональной метагеномики и доступные биомолекулярные методы с высоким разрешением и большой пропускной способностью для разработки способов ускоренного выявления и количественной оценки индикаторных микроорганизмов (в том числе

некультивируемых на традиционных питательных средах) и специализированных биодатчиков для поиска горючих ископаемых (Heiss-Blanquet et al., 2005; Zhang et al., 2010; Miqueletto et al., 2011; Wu et al., 2014; Deng C. et al., 2016; Zhang C.-Y. et al., 2016; Zhang Y. et al., 2016; Sánchez, 2017; Deng Y. et al., 2018; Luk et al., 2018).

РАЗНООБРАЗИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ, ОКИСЛЯЮЩИХ *n*-АЛКАНЫ C₂–C₄

Исходя из природы используемых углеводородных газов в качестве источников углерода и энергии, можно выделить три группы экологически значимых микроорганизмов. (1) Истинные метанотрофы – организмы, усваивающие чрезвычайно устойчивый и химически инертный метан и другие одноуглеродные (C₁)-соединения. (2) Недавно обнаруженные (Dedysh et al., 2005; Crombie, Murrell, 2014; Farhan Ul Haque et al., 2019; Crombie, 2022) факультативные метанотрофы (виды *Methylocella*), ассимилирующие как одноуглеродные (C₁)-соединения (в том числе метан), так и многоуглеродные органические соединения (в том числе этан и пропан). (3) Газоокисляющие микроорганизмы – организмы, использующие газообразные *n*-алканы C₂–C₄ и другие углеродсодержащие соединения, но не метан. Представители первых двух экологотрофических групп микроорганизмов являются биокатализитическими системами, вовлекающими метан в биотический круговорот. Газообразные алканы (C₁–C₄) в открытых экосистемах подвергаются аэробному и анаэробному окислению. В настоящем обзоре мы сконцентрируемся на аэробном окислении этана, пропана и *n*-бутана.

Микроорганизмы, обеспечивающие свой энергетический и конструктивный метаболизм за счет тяжелых газообразных углеводородов (C₂–C₄), относятся к ограниченному количеству таксономических групп (дополнительные материалы; табл. S1). Впервые бактерии *Bacterium hidium*, потребляющие этан в качестве единственного источника углерода, выделены Губиным (Gubin, 1923). Изучение этанокисляющих бактерий продолжено Боковой (Бокова, 1954), что позволило определить их как *Mycobacterium perrugosum* var. *ethanicum*. Позднее этаноиспользующие организмы описали Davis et al. (1956), а также Dworkin и Foster (1958), не установив таксономической принадлежности выделенных ими культур. Hou et al. (Hou et al., 1983a, 1983b; Patel et al., 1983) изолировали из образцов почв и озерной воды этанокисляющие *Arthrobacter* sp., *Brevibacterium* sp. и *Mycobacterium* sp. Данных о биологии и геохимической деятельности этой группы газоокисляющих микроорганизмов пока немного, что, возможно, связано с трудностью получения этана высокой чистоты.

Окисление пропана и *н*-бутана микроорганизмами впервые отметили Tausz и Donath (1930). Исследование пропанокисляющих бактерий выполнены Боковой (1954), Смирновой (1962), Богдановой (1966), Perry et al. (Dunlap, Perry, 1967; Vestal, Perry, 1971; Blevins, Perry, 1972; Cerniglia, Perry, 1975; Perry, 1980). В 70-х годах прошлого столетия среди этой группы доминируют организмы, описанные как *Mycobacterium rubrum* var. *propanicum*. Телегиной (1966) отмечено, что желто-пигментированные формы бактерий, отнесенных к *M. flavum* и *M. luteum*, интенсивно развиваются за счет *н*-бутана. Описаны термофильные варианты бактерий, окисляющих *н*-бутан, — *M. luteum* var. *termophilum*, растущие в диапазоне температур от 32 до 52°C (Славнина и соавт., 1962). Как следует из табл. S1, для микроорганизмов, использующих газообразные алканы (C_2 — C_4), границы предпочтительного расселения в открытых экосистемах определены в основном биотопами районов нефтяных загрязнений и нефтегазопромыслов.

По данным отдельных исследователей, способность метаболизировать тяжелые газообразные углеводороды обнаружена у грамотрицательных представителей *Thauera butanivorans* (ранее “*Pseudomonas butanovora*”) (Dubbels et al., 2009), выделенных из активного ила нефтеперерабатывающего завода (Takahashi, 1980) и растущих на *н*-алканах C_2 — C_9 , а также *Pseudomonas* spp. (табл. S1). Способность разлагать низкомолекулярные алканы (C_2 — C_3) при температуре 4°C выявлена у морских психрофильных γ -протеобактерий рода *Colwellia*, выделенных из образцов глубоководного углеводородного шлейфа, образовавшегося в Мексиканском заливе во время аварийного разлива нефти Deepwater Horizon в 2010 г. (Hazen et al., 2010; Valentine et al., 2010; Redmond, Valentine, 2012).

Показано, что наряду с микроорганизмами, усваивающими высшие газообразные гомологии метана (C_2 — C_4), выделены и такие, которые окисляют всю гамму газообразных *н*-алканов от метана до бутана, а также декан и гексадекан (Crombie, Murrell, 2014; Farhan Ul Haque et al., 2019), и, наконец, такие, которые проявляют строгую специфичность к одному из газообразных гомологов парафинового ряда, развиваясь только за счет пропана (Смирнова, Таптыкова, 1967; Woods, Murrell, 1989; Kotani et al., 2003), этана (Raymond, Davis, 1960) или бутана (Телегина, 1966; Sluis et al., 2002).

Следует отметить, что газоокисляющие бактерии относятся к традиционно “трудной” физиологической группе микроорганизмов, получение которых в чистой культуре сопряжено с определенными сложностями. Нами при выделении пропан- и бутанокисляющих бактерий *R. rhodochrous*, *R. ruber* из многих тысяч образцов почв разных типов, поверхностных и грунтовых вод, кернов

из геохимических скважин, снежного покрова из контрастных природно-климатических зон, в том числе нефтегазоносных районов России, в чистую культуру из трудноразделимых микробных сообществ были выделены и изучены сопутствующие гетеротрофные микроорганизмы—“спутники”, относящиеся главным образом к псевдомонадам. Среди изолированных *Pseudomonas* spp. не оказалось ни одного, способного ассимилировать в чистых культурах этан, пропан и/или *н*-бутан (Ившина и соавт., 1981, 1987). Позднее в 1988 г. Woods подтвердил, что ему тоже не удалось выделить ни одного грамотрицательного микроорганизма, растущего на этане, пропане и/или *н*-бутане (Woods, 1988). Получение неубедительных, порой противоречивых результатов по способности природных изолятов ассимилировать газообразные углеводороды может быть обусловлено использованием в экспериментах газов неопределенной степени химической чистоты в качестве углеродного субстрата. Хотя при этом нельзя исключать штаммовые и видовые различия в способности использовать те или иные газообразные углеводороды (Amouric et al., 2006).

Среди окислителей пропана и *н*-бутана обнаруживаются грибы (плесени, дрожжи), выделенные из различных почв. В нефтеносных почвах при использовании газовой смеси пропан + *н*-бутан в соотношении с воздухом 1: 5 были обнаружены представители *Penicillium graecum* и *Aspergillus niger* (Perry, 1980), а также *Scedosporium* sp. (Onodera, Ogasawara, 1990). Выделены *Penicillium nigrans*, *Allescheria boydii* и *Graphium criteferum*, способные расти на *н*-бутане как единственном источнике углерода (McLee et al., 1972), а также *Cunninghamella elegans*, *Penicillium zonatum*, утилизирующие пропан (Cerniglia, Perry, 1973), *Graphium* sp., *Phialophora jenselmei* (Davies, Wellman, 1973; Volesky, Zajic, 1970), растущие на этане, пропане и *н*-бутане, но не на метане. Сообщалось, что дрожжи *Candida utilis* (Kormandy, Wayman, 1974) и *C. rigida* (Патент США 3635796) способны использовать пропан и *н*-бутан в качестве субстратов роста.

Итак, по данным исследований, проводимых в 60–80-х годах прошлого столетия, углеводородные газы (C_2 — C_4) усваивают чаще всего грамположительные бактерии — представители актиномицетной линии эволюции прокариотов. Многие из микроорганизмов, выявленных в этих исследованиях (см. табл. S1), представляют собой нокардиоподобные актиномицеты рода *Rhodococcus* Zopf 1891 (Approved Lists 1980; домен *Bacteria*, филум *Actinomycetota* (“*Actinobacteria*”), класс *Actinomycetes*, порядок *Mycobacteriales*, семейство *Nocardiaceae*; <https://lpsn.dsmz.de/genus/rhodococcus>, по состоянию на 25 июня 2024 г.). По нашим данным (Ившина и соавт., 1981, 1987), представители отдельных видов

(*R. rhodochrous*, *R. ruber*) – постоянные и доминирующие компоненты естественного микробиоценоза “бактериального фильтра” в зоне газового ореола рассеивания над газонефтяными месторождениями.

Обращает на себя внимание тот факт, что во многих ранее проведенных исследованиях использованы штаммы газоокислителей, не идентифицированные на видовом уровне и нуждающиеся в уточнении систематической принадлежности. Между тем в биопроизводстве и (эко)биотехнологии ключевыми требованиями являются биологическая и экологическая безопасность микробных культур. Например, использование в биоремедиации штаммов, не идентифицированных до вида (*Acinetobacter* sp., *Mycobacterium* sp., *Nocardia* sp., *Rhodococcus* sp.), сопряжено с риском попадания в окружающую среду патогенных для человека или фитопатогенных штаммов. Возможность использования окислителей углеводородов в целях биоремедиации зависит от правильного выбора не только конкретных штаммов-деградаторов, но и адекватного способа их хранения. Чтобы минимизировать все эти риски, целесообразно использовать штаммы из специализированных центров микробных ресурсов (“микробных биобанков”), гарантирующих безопасность и высокое качество сохраняемых биологических объектов (незагрязненных, с неизмененными генотипическими и фенотипическими характеристиками) и обеспечивающих контроль над их распространением (Smith, 2012; Prakash et al., 2013; Overmann, 2015; Ivshina, Kuyukina, 2013, 2018). Коллекции микробных культур, зарегистрированные во Всемирной федерации коллекций культур (WFCC, <http://wfcc.info>, по состоянию на 25 июня 2024 г.) и Всемирном центре данных по микроорганизмам (WDCM, <http://www.wdcm.org>, по состоянию на 25 июня 2024 г.), являются надежными источниками и провайдерами высококачественного биологического материала (Desmeth, Bosschaerts, 2008; Declerck et al., 2015; Microbial Resource, 2018). Одной из таких коллекций является Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ, УНУ/ЦКП 73559/480868, #285 WFCC, #768 WDCM, <http://www.iegmcol.ru>), в которой поддерживается более 3000 чистых, идентифицированных, детально охарактеризованных штаммов экстремотолерантных углеводородокисляющих актиномицетов, в том числе 713 штаммов *Rhodococcus* spp., выделенных в результате многолетних экспедиционных работ из резко контрастных эколого-географических регионов (таблица). В коллекции ИЭГМ широко представлены штаммы *R. ruber* (214 штаммов), окисляющие газообразные (C_2 – C_4) углеводороды. Коллекция непатогенных штаммов родококков с высокой активностью оксигеназ является ценным ресурсом для поиска новых продуцентов

полезных веществ и микроорганизмов, способных разлагать и трансформировать сложные органические соединения (Ившина, 2012; Ivshina, Kuyukina, 2013, 2018; Catalogue of Strains, 2024).

БИОЛОГИЧЕСКАЯ СПЕЦИФИКА ПРОПАНО- И БУТАНОТРОФОВ *R. RUBER*

Важнейшие физиологическая специфичность и фенотипический признак представителей экологически значимого вида актиномицетов *R. ruber* – способность избирательно осуществлять фиксацию газообразных углеводородов (этан, пропан, *n*-бутан) и ассимилировать их в качестве единственных источников углерода и энергии. В некотором роде эта характерная особенность *R. ruber* может быть использована как отличительный признак, определяющий экологическую нишу вида. Способность к окислительной деструкции газообразных *n*-алканов позволяет им успешно конкурировать за источники питания в естественных местах обитания и метаболизировать в условиях экологической дестабилизации природной среды. Вовлекая высшие газообразные гомологи метана (C_2 – C_4) в биотический круговорот, газоокисляющие родококки вносят свой вклад в цикл углерода биосфера (de Carvalho et al., 2014; Ivshina et al., 2017; Cappelletti et al., 2019a). Как правило, они достаточно быстро развиваются над месторождениями нефти и газа, а также в местах утечек горючих газов из подземных резервуаров-хранилищ, в породах и водах, расположенных на загазованных территориях (Ившина и соавт., 1981, 1987, 1995).

Для выявления специфических мест обитания этих организмов нами в течение многих лет исследовались различные природные субстраты (подпочвенные отложения и подземные воды нефтеносных и ненефтеносных районов, придонные осадки и пресные водоемы, керны структурных скважин, снежный покров и приземный воздух и др.) сопредельных и контрастных эколого-географически удаленных регионов. Выделенные штаммы микроорганизмов характеризовались высокой степенью сходства и демонстрировали схожие фенотипические признаки, в том числе морфологию колоний и микробных клеток (Ившина и соавт., 1981, 1995). Пропан- и бутанокисляющие *R. ruber* практически не обнаруживались в субстратах, где наличие газообразных углеводородов обусловлено разложением органического вещества, а именно в образцах ила, торфа, огородной, лесной и садовой почв. Основным экологическим фактором, лимитирующим их активную жизнедеятельность в составе микробиоценоза, является наличие молекулярного кислорода. Наиболее благоприятными для жизнедеятельности этой группы организмов являются подпочвенные аэрируемые горизонты до уровня

Таблица. Число штаммов *Rhodococcus* spp. в микробных коллекциях

Акроним	Коллекция	Общее число штаммов <i>Rhodococcus</i> spp.	Общее число штаммов <i>R. ruber</i>	Ссылка на электронный каталог
БРЦ ВКПМ	Национальный биоресурсный центр – Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов	57	2	https://vkpm.genetika.ru/katalog-mikroorganizmov/ [по состоянию на 25 июня 2024 г.]
ВКМ	Всероссийская коллекция микроорганизмов	39	2	https://www.vkm.ru/rus/Ordering.htm [по состоянию на 25 июня 2024 г.]
ИЭГМ	Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов	916	214	http://www.iegmcu.ru/strains/index.html [по состоянию на 25 июня 2024 г.]
ATCC	Американская коллекция типовых культур	122	2	https://www.atcc.org/search#sort=relevancy&numberOfResults=24 [по состоянию на 25 июня 2024 г.]
BCCM/LMG	Бельгийские скоординированные коллекции микроорганизмов	56	1	https://bccm.belspo.be/catalogues/lmg-catalogue-search [по состоянию на 25 июня 2024 г.]
CCUG	Коллекция культур, Гетеборгский университет	75	5	https://www.ccug.se/collections/search?t=Rhodococcus+ruber+&collection=entire [по состоянию на 25 июня 2024 г.]
DSMZ	Немецкая коллекция микроорганизмов и клеточных культур	304	38	https://www.dsmz.de/search/bacteria?tx_kesearch_pi1%5Bswor d%5D=ruber&cHash=d58bad76e3515ee712b2960ff485e6fa [по состоянию на 25 июня 2024 г.]
JCM	Японская коллекция микроорганизмов	112	1	https://www.jcm.riken.jp/JCM/list/actino.php [по состоянию на 25 июня 2024 г.]
KCTC	Корейская коллекция типовых культур	25	2	https://kctc.krrib.re.kr/en/collection/ [по состоянию на 25 июня 2024 г.]
NBRC	Японский биологический ресурсный центр	87	2	https://www.nite.go.jp/nbrc/catalogue/?lang=en [по состоянию 25 июня 2024 г.]
NCCB	Коллекция культур бактерий, Нидерланды	26	3	https://wi.knaw.nl/nccb_strains_table [по состоянию на 25 июня 2024 г.]
NCIMB	Национальная коллекция промышленных и морских бактерий, Шотландия	115	2	https://store.ncimb.com/page/Strains_table1 [по состоянию на 25 июня 2024 г.]

грунтовых вод, а также зоны неотектонической трещиноватости.

Родококки данного вида представляют собой палочковидные клетки, шириной 0,5–0,6 мкм и длиной от 2–5 до 7–12, иногда 15–18 мкм, с тенденцией к истинному ветвлению. Распад мицелия на кокковидные фрагменты происходит, как правило, через 40 ч культивирования

на мясопептонном агаре. Клетки располагаются единично, v-образно или палисадовидно.

Представители *R. ruber* характеризуются способностью утилизировать широкий спектр гидрофобных органических соединений, включая тяжелые газообразные *n*-алканы. Отличительной чертой *R. ruber* является более сложный жизненный цикл по сравнению с родококками других видов, включающий

мицелиальную стадию развития клеток. В морфоцикле *R. ruber* обнаруживаются четыре основные формы клеток: прорастающие (инициирующие бациллярные клетки), ветвистые (нитевидные ветвящиеся клетки), палочковидные и переживающие (короткие и очень короткие клетки) (рис. 1а–1г). Предполагается, что фрагментация мицелия способствует увеличению отношения клеточной поверхности к объему, что повышает способность родококков к поглощению трудноусвояемых газообразных субстратов (Neumann et al., 2005).

Культивирование родококков в атмосфере пропана или *n*-бутана оказывает существенное влияние на продолжительность жизненного цикла

культур. В мазках из колоний *R. ruber* ИЭГМ 333, выросших в пропано-воздушной атмосфере, через 16 ч заметно преобладание кокковидных клеток (рис. 1а). В возрасте 24 ч культуры представлены изогнутыми активно делящимися длинными нитевидными клетками до 20 мкм (рис. 1б), среди которых преобладают ветвящиеся формы с латерально расположеннымми отростками (рис. 1в). И только на 4–5 сут мицелий распадается на одиночные и агрегированные короткие овально-сферические цистоподобные формы (рис. 1г). Для представителей *R. ruber* характерен раскалывающийся способ обособления делящихся клеток (рис. 2б). Полный цикл развития на минеральной среде в атмосфере пропана или *n*-бутана в качестве единственного источника углерода и энергии осуществляется в течение 107–120 ч.

С использованием сканирующей электронной микроскопии на поверхности клеток, выращенных в атмосфере пропана или *n*-бутана, обнаруживаются множественные структуры – шишковидные выросты диаметром 40–150 нм, своим основанием прикрепленные к клеточной оболочке, имеющие округлую или продолговатую форму и расположенные нерегулярно на наружной поверхности клетки (рис. 2а). Можно предположить, что они служат для увеличения относительной площади клеточной поверхности с целью обеспечения лучшего контакта клеток с газообразным ростовым субстратом, обеспечивают контактное взаимодействие между клетками, удерживание их в микроколониях, биопленках и прикрепление к (а)биотическим субстратам, возможно, защиту от хищников, а также передачу информации (“эффекты кворума”). Шишковидные выросты, по-видимому, не только играют роль в формировании многоклеточных и многослойных агрегатов, но могут быть связаны с транспортом молекул ДНК при латеральном переносе генов между клетками.

Очевидно, что образование морфофункциональных межклеточных контактов в колониях родококков способствует эффективной коммуникации и позволяет формировать “кооперативную клеточную систему”, которая помогает им адаптироваться к различным экологическим ситуациям. В естественных условиях закрепление родококков на субстрате может происходить двумя способами: за счет адгезии клеток на его поверхности либо (подобно колонизации истинных мицелиальных актиномицетов) за счет врастания клеток в субстрат, образования в нем ветвистых особей и формирования мицелиоподобных структур (рис. 1в). Штаммы *R. ruber* формируют на минеральной среде в атмосфере пропана или *n*-бутана через 5–6 сут ярко розовые или красно-оранжевые плотно слитые с поверхностью агаризованной среды колонии. Эти колонии имеют резко очерченные края с древовидными отростками или видимым

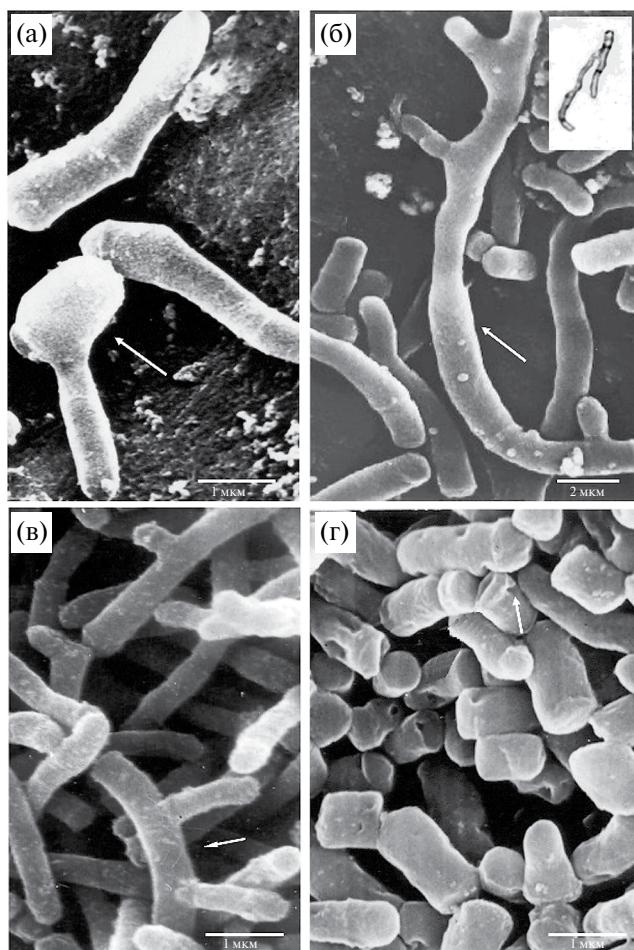


Рис. 1. Сканирующая электронная микроскопия клеток *R. ruber* ИЭГМ 333 и ИЭГМ 565, выращенных на минеральной среде в атмосфере пропана (Ившина и соавт., 2021): а – штамм ИЭГМ 333, стрелкой показано прорастание родоначальной коккобациллярной клетки; б – штамм 333, стрелкой указана нитевидная ветвящаяся клетка; в – штамм 333, клетки с латерально расположеннымми ростовыми отростками; г – штамм ИЭГМ 565, стрелкой указано слущивание фрагмента “старого” пептидогликана с поверхности клетки.

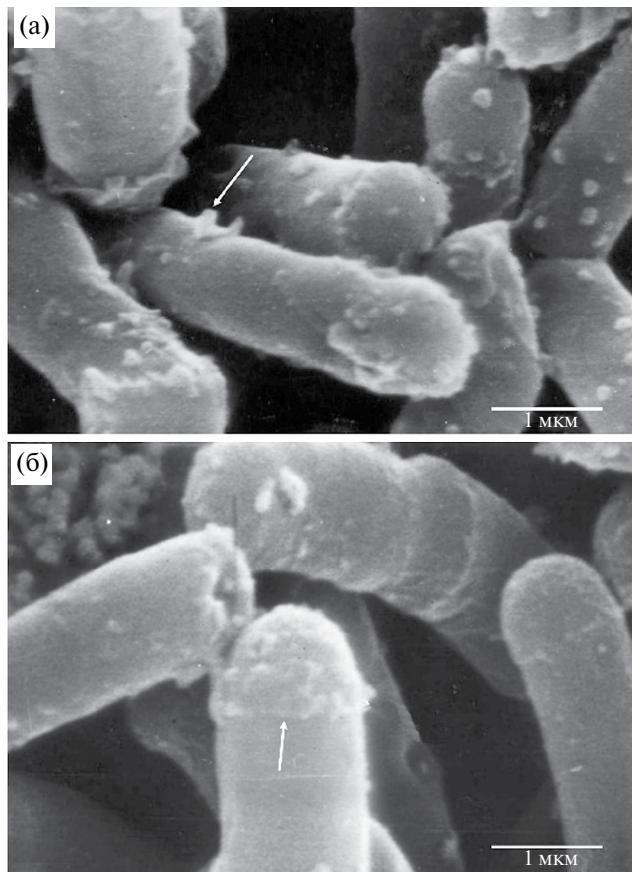


Рис. 2. Сканирующая электронная микроскопия клеток *R. ruber* ИЭГМ 333, выращенных на минеральной среде в атмосфере пропана (Ившина и соавт., 1982, 2021; Ivshina et al., 2021, 2024a): а – шишковидные выросты показаны стрелкой; б – обособляющиеся раскалывающимся способом клетки. Стрелкой обозначены кольцевидные выступы, разделяющие клетку на две зоны: старую материнскую с мощной клеточной стенкой и новую дочернюю меньшего диаметра с тонким эластичным слоем.

мицелиальным ободком, что обусловлено образованием вегетативного (субстратного) мицелия.

Штаммы вида *R. ruber* обладают рядом фенотипических характеристик, сходных с типовым штаммом *R. rhodochrous* ATCC 13808. Оба вида способны утилизировать моно- и олигосахариды, а также спирты. Однако ключевыми отличиями между *R. ruber* и *R. rhodochrous* являются их реакции на γ -аминомасляную кислоту и α -кетоглутаровую кислоту, а также наличие или отсутствие ацетамидазы и никотинамидазы. Представители *R. ruber* способны усваивать натриевые соли γ -аминомасляной кислоты и *m*-оксибензойной кислоты, но не α -кетоглутаровой кислоты. Они образуют ацетамидазу и никотинамидазу (на 21-й день роста), как правило, производят кислоту из саха-розы, часто из мальтозы, инозита, галактозы, но не

из глицерина. Кроме того, они способны расти в среде сmonoэтаноламином в качестве источника углерода и азота. Для них характерны отсутствие уреазной активности и способность к разложению тирозина (Ившина и соавт., 1995).

Исследованные природные штаммы устойчивы к действию факторов внешней среды: способны расти в присутствии 7–12% NaCl; при исходном pH 5.7 и 8.0; температуре от 4–10 до 42°C; выдерживают осмотическое давление 31.4 атм., нагревание при 60°C в течение 30 мин и при 72°C в течение 15 мин; растут на безазотистых минеральных средах и толерантны к антимикробным агентам: сохраняют высокую активность на средах, содержащих 0.003% основного фуксина, 0.0001% кристаллического фиолетового или 5% пропиленгликоля.

По нашим данным, наряду со способностью метаболизировать высшие газообразные гомологи метана (C_2 – C_4) *R. ruber* окисляют жидкие *n*-алканы (C_5 – C_{24}). Наиболее доступными и легко усвояемыми ростовыми субстратами являются углеводороды с длиной цепи от C_{11} до C_{16} . При росте на C_2 – C_{16} родококки накапливают биомассу от 2.15 до 5.67 г/л (в пересчете на абсолютно сухой вес, ACB) (Philp et al., 2002). В отношении потребления *n*-алканов C_5 – C_{10} в большей степени проявляются индивидуальные особенности отдельных штаммов. Например, пропанокисляющий штамм *R. ruber* ИЭГМ 231, выделенный из родниковой воды на территории нефтедобывающего предприятия (<http://www.iegmc.ru/strains/>), довольно интенсивно растет на *n*-пентане, но обладает повышенной чувствительностью к токсическому воздействию *n*-гексана (C_6) и *n*-октана (C_8). При использовании *n*-гептана (C_7), *n*-нонана (C_9) или *n*-декана (C_{10}) рост весьма незначителен и сопровождается относительно невысоким (от 0.34 до 1.24 г/л) выходом сухой биомассы (Philp et al., 2002). Твердые индивидуальные парафины от C_{19} до C_{24} используют лишь единичные штаммы. Пропанметаболизирующие *R. ruber* способны окислять короткоцепочечные алкены (пропилен) до соответствующих 1,2-эпоксидов. В противоположность исследованным изолятам типовой штамм *R. ruber* ИЭГМ 70^T (ATCC 27863, DSM 43338), выделенный из почвы, ассимилирует C_{14} и C_{16} , накапливая биомассу 1.5 и 2.6 г ACB/л соответственно (Philp et al., 2002). Как правило, среди микроорганизмов, выделенных на богатых питательных средах или средах с жидкими углеводородами, не удается выявить штаммы, использующие высшие газообразные гомологи метана. Последние, по-видимому, являются селективным фактором, обуславливающим выделение пропан- и бутанокисляющих микроорганизмов.

Изолированные из природных образцов штаммы *R. ruber* поддерживаются в коллекции ИЭГМ уже более сорока лет не только на углеводородсодержащих средах, но и на обычных питательных

средах с помощью различных методов хранения (субкультивирование, на “голодном” агаре, в дистиллированной воде и 0.5%-м растворе хлорида натрия, бумажных фильтрах, лиофилизация, низкотемпературное и сверхнизкое замораживание) (Ivshina et al., 2024b). Способность к утилизации газообразных и жидкых алканов в процессе многолетнего культивирования на средах с углеводами не утрачивается.

Адаптивные клеточные модификации *R. ruber* под влиянием газообразных *n*-алканов C_3 – C_4

Культивирование родококков на средах, содержащих пропан или *n*-бутан в качестве единственного источника углерода, приводит к изменениям в фенотипе клеток. Эти изменения наблюдаются в различных клеточных структурах, таких как клеточная стенка, цитоплазма и цитоплазматическая мембрана.

В присутствии газообразных углеводородов в популяции родококков одновременно содержатся клетки, имеющие микрокапсулы (рис. 3б) и без них (рис. 3а, 3е).

Образование этих поверхностных структур в присутствии пропана в виде обволакивающего клетки полисахаридного матрикса, обнаруживающего родство к рутениевому красному (рис. 3б), или в присутствии *n*-бутана в виде круглых микровезикулоподобных образований на отдельных участках цитоплазматической мембраны (рис. 3г) носит адаптивный характер. Очевидно, секретируемые клетками поверхностно-ассоциированные образования создают микроокружение, способствующее адгезии, пролиферации, многослойной агрегации клеток, стойкой колонизации субстрата и формированию биопленки. Кроме адгезивной, они выполняют функцию защиты клеток от токсических эффектов углеводородов и других неблагоприятных воздействий, а также могут участвовать в межклеточном сигналинге и транзите генетического материала (Iwabuchi et al., 2009; Laczi et al., 2015; Pen et al., 2015).

При росте родококков на газообразных *n*-алканах в клетках обнаруживается увеличение числа крупных (200–500 нм) вакуолеподобных образований, расположенных во всей цитоплазме и обладающих ультраструктурными характеристиками, свойственными гранулам поли- β -оксибутират (рис. 3а), а также осмиофильтных включений, соответствующих по цитохимическим реакциям гранулам полифосфатов, – до 5 и больше, а также их размеров (до 100 нм) (рис. 3а, 3в).

В клетках алканотрофных родококков, выращенных на пропане или *n*-бутане, отмечается фрагментация цитоплазмы (рис. 3б), что может быть обусловлено интенсивными метаболическими процессами. Кроме того, наблюдается

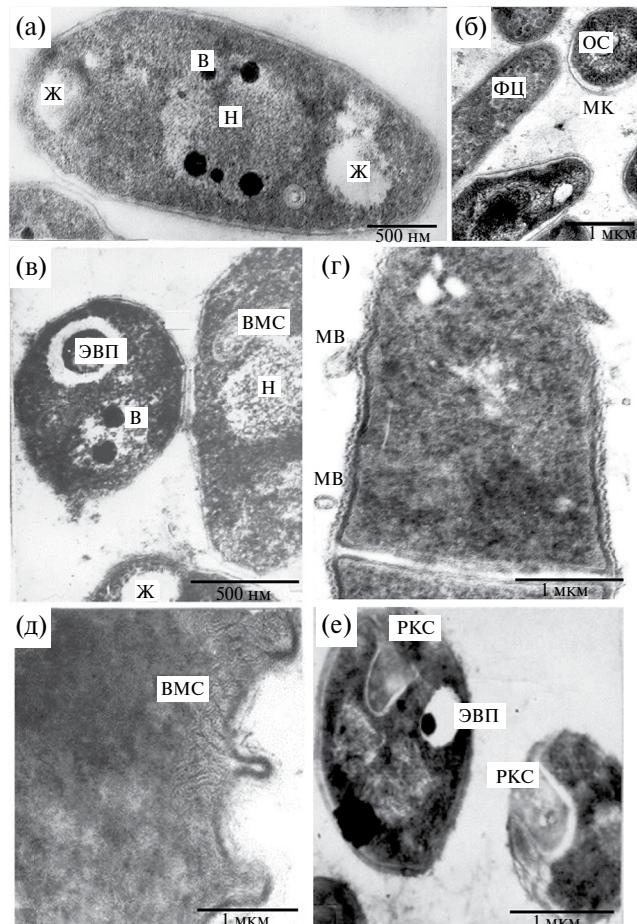


Рис. 3. Ультратонкие срезы клеток *R. ruber*, выращенных на минеральной среде в атмосфере пропана (а–в, д, е) и *n*-бутана (г) (Ившина и соавт., 1982, 2021; Ivshina et al., 2024a): а – штамм ИЭГМ 73; б – штамм ИЭГМ 565; в – штамм ИЭГМ 333; г – штамм ИЭГМ 333; д – штамм ИЭГМ 342; е – штамм ИЭГМ 342. Н – нуклеоид; ВМС – внутрицитоплазматическая мембранный система; В – гранулы полифосфатов; Ж – жировые включения; ЭВП – электронно-плотные включения; ФЦ – фрагментация цитоплазмы; ОС – округлые структуры; МК – микрокапсула; РКС – разрастание клеточной стенки; МВ – микровезикулы.

накопление жировых включений (рис. 3а), которые могут служить запасом энергии и углерода для клетки. Важной адаптацией является формирование специализированных внутриклеточных структур, напоминающих окисисомы (рис. 3б, 3в, 3е). Они представляют собой участки локализации ферментов, необходимых для окисления углеводородов. Таким образом окисисомоподобные структуры обеспечивают эффективную трансформацию субстрата и получение энергии и углерода для клеточного метаболизма. Другой характерной чертой является развитие внутриклеточной мембранный системы, расположенной

по периферии цитоплазмы в различных конфигурациях (рис. 3д). Предполагается, что периферическая локализация этих структур увеличивает относительную площадь поверхности цитоплазматической мембраны, что может способствовать более эффективному транспорту веществ и энергии. Кроме того, мембранные структуры могут участвовать в детоксикации токсичных продуктов окисления углеводородов с помощью деградационных ферментов.

Особый интерес вызывает высокая лабильность клеточной стенки у родококков, культивируемых в присутствии пропана или *n*-бутана (рис. 3д, 3е). В клетках, растущих на пропане, наблюдается активный синтез новых участков клеточной стенки. Этот процесс усиливается еще больше, когда родококки растут на *n*-бутане (рис. 3е). Разрастание клеточной стенки вглубь цитоплазмы, отделенное от протопласта цитоплазматической мембраной, начинается с нарушения целостности клеточной стенки. В ней появляются небольшие ячеистые утолщения, которые постепенно увеличиваются до крупных размеров (рис. 3е). Эти разрастания часто имеют округлую форму и располагаются одиночно или группами. Связь их с клеточной стенкой прослеживается не всегда, в этих случаях они выглядят как самостоятельные структуры в цитоплазме. Формирование новообразований может идти в любой части клетки: на полюсах, в середине или на поперечной перегородке делящейся клетки. Около разрастаний клеточной стенки часто обнаруживаются мезосомоподобные структуры, контактирующие с пограничной цитоплазматической мембраной, и электронно-плотные включения (оксисомы), соответствующие местам локализации окислительных ферментов, участвующих в разложении углеводородов (рис. 3в, 3е). Поскольку клеточная стенка является основным местом накопления углеводородов, можно предположить, что ее избыточный рост связан с созданием динамического депо для полного насыщения клетки углеводородом, что обеспечивает фиксацию поступающего газообразного ростового субстрата и последующее его окисление.

Выявленные ультраструктурные модификации носили обратимый характер – по мере многократных пассажей культуры на стандартных органических питательных средах наблюдаемые изменения клеточной ультраструктуры нивелировались. Установленные факты демонстрируют высокую адаптивную способность *R. ruber* к использованию газообразных углеводородов в качестве источника питания, что является важным фактором, определяющим их экологическую успешность в сложных природных нишах.

Таким образом, относительная простота устройства (лат. “*ne quid nimis*”, ничего лишнего и бесполезного) биологической организации *R. ruber*

сочетаются со способностью к формированию особых защитных механизмов от неблагоприятных факторов. Это дает возможность рассматривать *R. ruber* в качестве наиболее активно приспособленных природных агентов, которые прочно закреплены в своей экологической нише.

Алканотрофный тип питания обуславливает устойчивость родококков *R. ruber* к большой группе антибиотических веществ, продуцируемых в природе актиномицетами (Куюкина и соавт., 2000). Особый интерес представляет экологический аспект этой проблемы. Очевидно, устойчивость к антибиотикам в условиях переключения родококков на углеводородное питание является свидетельством эволюционно выработанного преимущества, обеспечивающего их высокую конкурентоспособность в занимаемых экологических нишах. В условиях индуцированного алканотрофного метаболизма *R. ruber* обнаружено изменение качественного и количественного состава синтезируемых родококками внеклеточных аминокислот (Ившина и соавт., 2007). Способность *R. ruber* при росте на минеральной среде в атмосфере пропана накапливать внеклеточные аминокислоты (аргинин, валин, гистидин, глутаминовую кислоту, изолейцин, лизин, тирозин), помимо практической значимости, имеет значение и с экологической точки зрения. Поскольку в обмене веществ между организмами биоценозов важную роль играют свободные аминокислоты, не исключено предположение, что экстрацеллюлярные аминокислоты, синтезируемые пропан- и бутанокисляющими родококками в естественных субстратах с минимальным содержанием органических веществ (например, грунтовые воды), могут быть использованы другими группами гетеротрофных микроорганизмов ценоза. Вопрос относительно физиологической роли процесса сверхсинтеза экстрацеллюлярных аминокислот родококками, адаптированными к использованию низких концентраций источников энергии и более конкурентоспособными в аэробных олиготрофных условиях, типичных для природных экосистем, остается открытым. Очевидно, данный процесс следует рассматривать как футильный сброс избытка восстановленных эквивалентов (избыточной энергии), позволяющий родококкам выживать в неблагоприятных условиях.

ПУТИ, ГЕНЫ И ФЕРМЕНТЫ ОКИСЛЕНИЯ ПРОПАНА У РОДОКОККОВ

Процесс окисления пропана обычно начинается с его активации и последующего преобразования в более реакционноспособные промежуточные соединения, которые затем метаболизируются для выработки энергии или образования биомассы. Окисление пропана может идти по терминальному

пути, который включает последовательное образование пропан-1-ола, пропионового альдегида, пропионата и пропионил-КоА, прежде чем эти соединения поступают в центральные метаболические пути (рис. S1). При субтерминальном окислении пропан преобразуется в пропан-2-ол, который далее превращается в ацетон, а затем может быть окислен до ацетола или метилуксусной кислоты. Также возможен одновременный механизм, при котором образуются и пропан-1-ол, и пропан-2-ол. В дополнение к этому включение в процесс диоксигеназ может приводить к окислению как терминального, так и субтерминального атомов углерода пропана с образованием пропан-1,2-диола (Ashraf et al., 1994).

Среди первых родококков, способных окислять пропан, были описаны *R. ruber* (ранее *Mycobacterium rhodochrous*) ATCC 29672, *Rhodococcus* sp. ATCC 29671 (ранее *M. convolutum*), *R. rhodochrous* (ранее *M. rhodochrous*) ATCC 29670, *R. rhodochrous* (ранее *M. rhodochrous*) ATCC 29675, *Rhodococcus* sp. (ранее *M. convolutum*) ATCC 29674, *R. rhodochrous* (ранее *M. rhodochrous*) ATCC 19067 (Perry, 1980). Значительно позднее механизмы окисления пропана были изучены более подробно у *R. rhodochrous* PNKb1 и *R. ruber* ENV425. Примечательно, что эти виды принадлежат к одной филогенетической ветви группы В, выявленной в результате масштабного филогеномного анализа (Sangal et al., 2019).

Начальный этап окисления пропана включает активацию молекулы алкана, которая может катализироваться различными ферментами. Среди них: (1) растворимые ди-железосодержащие монооксигеназы (SDIMO), (2) медьсодержащие мембранные монооксигеназы (CuMMO), (3) алкангидроксилазы, (4) цитохромы P450 (Moreno, Rojo, 2019). Здесь мы более подробно сосредоточились на ферментах, ответственных за первичную атаку на молекулу пропана, поскольку именно они играют ключевую роль в метаболизме данного *n*-алкана.

SDIMO – это многокомпонентные ферменты, катализирующие первую стадию окисления углеводородов (Coleman et al., 2006). К ним относятся растворимые метанмонооксигеназы (sMMO), пропанмонооксигеназы (PrMO), растворимые бутанмонооксигеназы (sBMO) (Zou et al., 2021). У *Rhodococcus* и подобных бактерий SDIMO являются ключевыми ферментами в усвоении пропана. Надсемейство CuMMO включает аммиакмонооксигеназы (AMO), мембранные метанмонооксигеназы (pMMO) и углеводородмонооксигеназы (HMO) (Zou et al., 2021).

SDIMO и CuMMO участвуют в окислении метана, короткоцепочечных алканов, алkenов, а также циклических, ароматических и хлорированных углеводородов (Coleman et al., 2006; Zou et al., 2021; Ferrari et al., 2024). Экспрессия специфических

монооксигеназ зависит от содержания меди в среде и называется медным переключателем (copper switch). Это явление особенно изучено у метанотрофов, которые в условиях дефицита меди переключаются с мембранный метанмонооксигеназы (pMMO) из CuMMO на растворимую метанмонооксигеназу (sMMO) из SDIMO (Murrell et al., 2000; Chidambarampadmavathy et al., 2015).

Самое раннее исследование ферментов у пропанокисляющих *Rhodococcus* было проведено Babu и Brown (1984). Они обнаружили у *R. rhodochrous* ATCC 21198 новый тип оксигеназы, участвующей в метаболизме пропана и изобутана, и классифицировали ее как интермолекулярную диоксигеназу. В отличие от обычных моно- или диоксигеназ, у которых на каждый участок связывания кислорода приходится один участок связывания углеводорода, эта новая оксигеназа имеет два участка связывания углеводорода на каждый участок связывания кислорода. Она катализирует реакцию, в которой две молекулы углеводорода (например, пропана или изобутана) реагируют с одной молекулой кислорода, образуя две молекулы спирта. Газохроматографический анализ показал, что основным метаболитом пропана является пропан-1-ол, при этом были обнаружены также следовые количества пропан-2-ола и ацетона. Таким образом, окисление пропана у штамма ATCC 21198 осуществлялось в основном по терминальному пути.

Позднее Woods и Murrell (1989) выделили штамм *R. rhodochrous* PNKb1, использующий пропан в качестве единственного источника углерода, и экспериментально обосновали способность данного штамма окислять пропан как терминальным, так и субтерминальным путями. Авторы в результате изучения начальной активности пропан-специфической оксигеназы и профиля ингибирования фермента пришли к выводу о том, что данный тип оксигеназ раннее не был задокументирован. Это исследование послужило основой для понимания окисления пропана у *Rhodococcus* spp.

Ключевым SDIMO в окислении пропана у родококков является пропанмонооксигеназа, биядерная железосодержащая многокомпонентная монооксигеназа, кодируемая кластером *prtABCD* (Kotani et al., 2003; Deng D. et al., 2018). Кластер генов *prtABCD* был впервые клонирован и секвенирован у штамма *Gordonia* sp. TY-5, способного окислять пропан субтерминальным путем (Kotani et al., 2003). Этот кластер полицистронно транскрибируется в ответ на присутствие пропана.

Активность пропанмонооксигеназы у родококков впервые была описана Куликовой и Безбородовым (2001). Они обнаружили, что *R. erythropolis* 3/89 способен окислять пропан, а также осуществлять эпоксидирование газообразных (этилен и пропилен) и жидких (тетрадецен) алkenов. Биохимический анализ подтвердил наличие пропанмонооксигеназы и алкогольдегидрогеназы,

которые окисляют пропан и его продукты субтерминальным путем (через пропан-2-ол).

Последующие работы с использованием пропанокисляющих родококков изучали их с точки зрения кометаболизма ксенобиотиков. Многочисленные исследования выявили индуцированную способность пропанокисляющих бактерий разлагать ксенобиотики после предварительного роста на пропане. Так, пропанотроф *R. ruber* ENV425 способен метаболизировать метил-*трем*-бутиловый эфир, этил-*трем*-бутиловый эфир и *трем*-амилметиловый эфир (Steffan et al., 1997). Необходимо отметить, что штамм ENV425 на сегодняшний день является одним из наиболее изученных пропанокисляющих родококков и получил широкое признание за свои способности к биоразложению труднодоступных соединений. Однако его полный геном и поиск ферментов, окисляющих пропан, были проведены только через 20 лет после его выделения (Тира, Masuda, 2018b). Интересно, что Steffan et al. (1997) изначально связывали пропановый трофизм у ENV425 с активностью P450, поскольку в то время пропанмонооксигеназы еще не были описаны.

Аналогичным образом *Rhodococcus* sp. BU3, выделенный из активного ила, может кометаболически разлагать метил-*трем*-бутиловый эфир и *трем*-бутиловый спирт после выращивания на пропане и пропан-1-оле (Haase et al., 2006). Показано, что начальные этапы деградации данных субстратов катализировались различными монооксигеназами, поскольку метимазол (ингибитор флавинсодержащих монооксигеназ) ингибировал процесс биодеградации *трем*-бутилового спирта, но не метил-*трем*-бутилового эфира.

Штаммы *Rhodococcus* sp. Sm-1 (ATCC 51239) и Wrink (ATCC 51240), выделенные из речных отложений, загрязненных трихлорэтиленом, и *R. rhodochrous* ATCC 21197 способны минерализовать трихлорэтилен и винилхлорид при росте на пропане (Malachowsky et al., 1994). Выращенный в присутствии пропана *Rhodococcus* sp. PB1 кометаболически разлагал хлорированные алифатические углеводороды, включая винилхлорид, *цис*-1,2-дихлорэтилен, 1,1,2-трихлорэтан и хлороформ (Frascati et al., 2008).

Процесс разложения *бис*(1-хлор-2-пропил) эфира клетками *Rhodococcus* sp. DTB следовал по метаболическому пути, сходному с субтерминальным метаболизмом пропана, что приводило к образованию 1-хлор-2-пропанола и хлорацетона (Moreno Horn et al., 2003). Интересно, что ни CuSO_4 (ингибитор sMMO), ни метирапон (специфический ингибитор цитохрома P450) существенно не влияли на деградацию данного эфира. Это позволило предположить, что дижелезосодержащие монооксигеназы или P450 не участвуют в окислении *бис*(1-хлор-2-пропил) эфира. Однако наблюдаемое ингибирование

процесса расщепления эфира метимазолом указывает на участие флавинзависимого фермента в катализе первого этапа процесса разложения. Позднее Cappelletti et al. (2018) показали, что в присутствии пропана индуцировался процесс синтеза монооксигеназы *R. aetherivorans* TPA, ответственной за трансформацию 1,1,2,2-тетрахлорэтана и других хлорированных углеводородов.

Важной вехой в изучении пропанотрофии родококков стало секвенирование генома *R. jostii* RHA1 (McLeod et al., 2006). *R. jostii* RHA1 – хорошо изученный модельный штамм, отличающийся способностью разлагать широкий спектр органических загрязнителей, включая полихлорированные бифенилы, стероиды, лигнин и фталаты (Masai et al., 1995; Hara et al., 2010; Haußmann et al., 2013; Kulig et al., 2015). Индуциальная пропанмонооксигеназа и кластер генов, кодирующий этот фермент, были идентифицированы как ответственные за окисление пропана, так и за деградацию опасного ксенобиотика N-нитрозодиметиламина (NDMA) (Sharp et al., 2007). Предварительное выращивание штамма RHA1 на минеральной среде с пропаном увеличивало эффективность биодеградации NDMA в 500 раз. Делеционный мутагенез гена *prmA*, кодирующего гидроксилазный компонент PrMO, останавливал как рост на пропане, так и процесс деградации NDMA, подтверждая ключевую роль PrMO в этих процессах. Кроме того, авторы обнаружили, что алканмонооксигеназа из *R. jostii* RHA1 не участвовала в окислении пропана и деградации ксенобиотика, поскольку делеция гена *alkB*, кодирующего основную каталитическую субъединицу фермента, существенно не влияла на усвоение пропана или деградацию NDMA (Sharp et al., 2007). Тира и Masuda (2018b) пришли к аналогичному выводу в сравнительных протеомных исследованиях с использованием пропанотрофа *R. ruber* ENV425. Позднее (Sharp et al., 2010) представили данные о биодеградации NDMA еще двумя актиномицетами, *Rhodococcus* sp. RR1 и *Mycobacterium vaccae* (*austroafricanum*) JOB-5. Показано, что PrMO из *Rhodococcus* sp. RR1 является основным ферментом деградации NDMA, и его активность также значительно усиливалась при индукции пропаном.

Следующее значительное достижение было сделано Cappelletti et al. (2015), которые изучали способность *R. aetherivorans* BCP1 окислять газообразные и короткоцепочечные *n*-алканы. Это исследование подтвердило способность штамма окислять пропан как по терминальному, так и по субтерминальному пути, в то время как *n*-бутан разлагался до бутан-1-ола по терминальному пути. Среди важных результатов было открытие двух кластеров *prmABCD* и *smtABCD*, кодирующих SDIMO (Cappelletti et al., 2015). Кластер *prmABCD* занимает участок хромосомной ДНК длиной 4255 п.н. и состоит из *prmA* (большая субъединица оксигеназы), *prmB* (редуктаза),

prmC (малая субъединица оксигеназы) и *prmD* (связывающий белок). Кластер *smoABCD* (3987 п.н.) находится на плазмиде и кодирует α -субъединицу монооксигеназы (*smoA*), β -субъединицу монооксигеназы (*smoB*), связывающий белок (*smoC*) и редуктазу (*smoD*).

Недавно было доказано, что SDIMO *smoABCD* группы 6 имеет решающее значение для метаболизма короткоцепочечных алканов у *R. aetherivorans* BCP1 (Ferrari et al., 2024). Мутантный штамм с вставкой транспозона в ген, кодирующий SmoA, проявлял сниженный рост на пропане, утрачивал способность расти на *n*-бутане, *n*-пентане и *n*-гексане, а также показал снижение эффективности процесса разложения хлороформа и 1,1,2-трихлорэтана. Введение генов *smoABCD* восстановило его способность метаболизировать *n*-алканы и хлорированные алканы. Кроме того, введение *smoABCD* в неалканотрофный штамм *R. erytropolis* MTF придало ему способность расти на *n*-пентане и *n*-гексане. Филогенетический анализ выявил принадлежность SmoABCD к редкой группе SDIMO 6, которая встречается у *Mycobacterium* и некоторых *Rhodococcus*. Ген, вероятно, изначально возник у *Mycobacterium* и приобретен родококками посредством горизонтального переноса.

Горизонтальный перенос генов – относительно недавняя тема в изучении трофики пропана у *Rhodococcus* spp. Исследование Zou et al. (2021) продемонстрировало, что клетки *Rhodococcus* sp. ZPP использовали этан и пропан в качестве единственных источников углерода и энергии благодаря горизонтальному переносу генов CuMMO и SDIMO. Гены, кодирующие HMO (*hmoCAB*) и SDIMO (*smoXYB-ICIZ*), были обнаружены на плазмиде pRZP1, а их функции в окислении этана и пропана подтверждены с помощью сравнительного геномного анализа и экспериментов по коньюгации. Показано, что плазмода pRZP1 может коньюгативно передаваться реципиенту *R. erythropolis* ATCC 25544, что наделяло его способностью окислять этан и пропан. Эксперименты по устойчивости плазмиды показали, что pRZP1 стабильна в штамме ZPP, но менее стабильна в трансконьюганте без селективного давления.

Вопрос горизонтального переноса генов также обсуждался Goff и Hug (2022) как важный механизм деградации диоксана в микробной популяции. Авторами установлено, что на возможность латерального переноса генов указывало наличие мобильных элементов, таких как транспозоны, интегроны и повторы, в окружении генов деградации диоксана, таких как диоксанмонооксигеназа (*dxmA*) и пропанмонооксигеназа (*prmA*). Эти кластеры генов обычно обнаруживались на плазмidaх, что подтверждает значительную роль горизонтального переноса генов в распространении свойства деградации диоксана.

Второй этап метаболизма пропана включает окисление спиртов, полученных на первом этапе, а именно пропан-1-ола и пропан-2-ола, до пропаналя и ацетона соответственно (см. рис. S1). Этот этап, как правило, катализируется ферментами алкогольдегидрогеназами. Пропан-1-олдегидрогеназа катализирует окисление пропан-1-ола до пропаналя, а пропан-2-олдегидрогеназа – пропан-2-ола до ацетона.

Родококки способны окислять пропан как через терминальный, так и через субтерминальный пути. Однако конкретные ферменты, участвующие в этих процессах, еще не полностью изучены. Показано (Ashraf, Murrell, 1990), что вторичная алкогольдегидрогеназа из *R. rhodochrous* PNKb1 обладает широкой субстратной специфичностью и способна окислять короткоцепочечные первичные и вторичные (C_2 – C_8), а также циклические и ароматические спирты. Позже в клетках *R. rhodochrous* PNKb1 была обнаружена активность специфических NAD^+ -зависимых алкогольдегидрогеназ для окисления пропан-1-ола и пропан-2-ола (Ashraf, Murrell, 1992). На основании этих двух исследований описана NAD^+ -зависимая пропан-2-олдегидрогеназа, тогда как наличие пропан-1-олдегидрогеназы было предположено только на основании экспериментов с мутантами, не способными расти на пропан-1-оле.

У родококков не подтверждено одновременное окисление пропана по терминальному и субтерминальному путям с образованием пропан-1,2-диола. Однако у них обнаружена способность к асимметричному окислению 1,3-пропандиолов, что приводит к образованию оптически активных гидроксиалкановых кислот. Эти кислоты служат важными строительными блоками для химического синтеза (Kikukawa et al., 2019). Кроме того, полученные Tupa и Masuda (2018a) транскриптомные данные свидетельствуют о том, что гены, кодирующие бензоат-1,2-диоксигеназу, активируются в присутствии пропана.

Затем альдегиды окисляются до соответствующих карбоновых кислот – пропионовой кислоты из пропаналя и ацетоуксусной кислоты из ацетона (см. рис. S1). Этому этапу обычно способствуют альдегиддегидрогеназы, хотя конкретные ферменты, участвующие в этих этапах у *Rhodococcus* spp., еще предстоит детально охарактеризовать.

Полученные карбоновые кислоты могут подвергаться дальнейшему метаболизму различными путями. Пропионил-КоА-синтетаза конвертирует пропионовую кислоту в пропионил-КоА, а метилмалонил-КоА-мутаза – метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА. Оба продукта затем могут войти в цикл Кребса. Например, пропионовая кислота может метаболизироваться по пути метилмалонил-КоА, тогда как уксусная кислота входит в цикл лимонной кислоты. Было показано, что клетки *R. rhodochrous* ATCC 21198 включают углекислый

газ в метаболизм пропионовой кислоты, что указывает на сложное взаимодействие с циклом лимонной кислоты и путями фиксации углерода (MacMichael, Brown, 1987). Углекислый газ играл решающую роль в качестве кометаболита в катаболизме пропана *R. rhodochrous* ATCC 21198. При этом штамму требовался CO₂ для роста на пропане и пропан-1-оле, но не на пропан-2-оле. Эксперименты с использованием радиоактивных изотопов углерода подтвердили фиксацию углекислого газа при метаболизме пропана, которая была более выраженной при использовании в качестве субстрата пропана по сравнению с *n*-бутаном или изобутаном, что подчеркивает специфичность метаболизма пропана.

Посредством этих метаболических путей энергия, запасенная в пропане, преобразуется в АТФ и восстанавливающие эквиваленты (НАДН, ФАДН₂), которые используются клеткой для роста. Образующиеся промежуточные продукты также могут служить “строительными блоками” биомассы.

Попытки предсказать полный путь метаболизма пропана у родококков были предприняты на основе секвенированного генома пропанотрофа *R. ruber* ENV425. Это позволило идентифицировать предполагаемые гены, кодирующие ферменты начальных этапов окисления пропана. К ним относятся предполагаемые растворимая метанмонооксигеназа (sMMO) и пропанмонооксигеназа (PrMO), а также две алкангидроксилазы (AlkB) (Tupa, Masuda, 2018b). Затем авторы провели сравнительное протеомное исследование *R. ruber* ENV425 при выращивании на пропане и сукцинате, определив ключевые белки, участвующие в метаболизме пропана (Tupa, Masuda, 2018a). При этом были экспрессированы два кластера генов, кодирующих SDIMO, способных катализировать первую стадию окисления пропана. По данным филогенетического анализа, они являются гомологами оксигеназ, метаболизирующих пропан, и оксигеназ, окисляющих циклические эфиры. Примечательно, что индукции других потенциальных пропаноксигеназ, в частности, P450 и рММО, не происходило. Кроме того, обнаружено, что пропаниндуцируемая алкогольдегидрогеназа, альдегиддегидрогеназа и пропионат-КоА-лигаза кодируются тем же локусом, что и один из SDIMO. Это позволяет предположить, что окисление пропана протекает по терминальному пути. Впоследствии был предсказан метаболический путь пропаноил-КоА, приводящий к его превращению в (*S*)-2-метилмалонил-КоА, (*R*)-2-метилмалонил-КоА, а затем сукцинил-КоА с участием метилмалонат-полуальдегиддегидрогеназы и метилмалонил-КоА-мутазы. Кроме того, были идентифицированы ферменты, потенциально участвующие в субтерминальном пути окисления пропана. Гены метаболического пути ацетона (гомологи ацетонкарбоксилазы, ацетоацетил-КоА-синтетазы,

ацетил-КоА-С-ацетилтрансферазы) активировались в присутствии пропана.

Следует отметить, что представленные сведения о генах и ферментах пропанокисляющих родококков, а также путях метаболизма пропана, получены в отношении единичных штаммов разных видов, включая *R. aetherivorans*, *R. jostii*, *R. rhodochrous*, *R. ruber* и *Rhodococcus* sp. Нами проведен сравнительный анализ генов, кодирующих растворимые метан/пропанмонооксигеназы SDIMO у 11 штаммов ключевого вида пропанотрофов *R. ruber* из коллекции ИЭГМ с доступными полногеномными последовательностями (рис. S2). Как видно из распределения генов по категориям, штаммы *R. ruber* мало отличаются друг от друга по набору генов, что свидетельствует о стабильности их геномов и возможности достоверно предсказывать их функциональные свойства с помощью биоинформационического анализа. Метан/пропанмонооксигеназы *R. ruber* не входят в подсистемы базовых процессов жизнеобеспечения и, как показано ниже, характеризуются высокой консервативностью и значительным уровнем гомологии.

У исследованных штаммов *R. ruber* обнаружены две растворимые ди-железосодержащие монооксигеназы (обозначены на рис. 4 как МО-І и МО-ІІ). Обе монооксигеназы представляют собой мультикомпонентные комплексы, кодируемые 4-мя генами – α -субъединицы белка А, β -субъединицы белка А, белка С и короткого регуляторного белка В. В одном локусе с генами, кодирующими компоненты монооксигеназ, располагаются гены, кодирующие алкогольдегидрогеназу, альдегиддегидрогеназу и шаперон GroEL. Такое устройство локусов с монооксигеназами SDIMO соответствует данным литературы (Ferrari et al., 2024).

Обнаруженные МО-І и МО-ІІ существенно отличаются друг от друга, хотя имеют общие консервативные домены, вероятно, важные для катализируемых реакций и/или формирования третичной и четвертичной структур белков. Так, у генов α -субъединиц А МО-І и МО-ІІ обнаружены 3 общих небольших участка длиной 71, 78 и 143 п.н. со степенью идентичности 73–76% (сходство аминокислотных последовательностей 38%). Аналогично, гены связывающих белков С МО-І и МО-ІІ имеют один общий короткий участок длиной 117 п.н. со степенью сходства 71% (сходство аминокислотных последовательностей 39%). У генов, кодирующих β -субъединицы белка А МО-І и МО-ІІ, гомологичные участки отсутствуют, аминокислотные последовательности имеют 28% сходства. Между нуклеотидными и аминокислотными последовательностями регуляторных белков В МО-І и МО-ІІ не обнаружено сходства (рис. 4). Следовательно, даже если МО-І и МО-ІІ из *R. ruber* имеют общее происхождение, то их расхождение произошло давно.

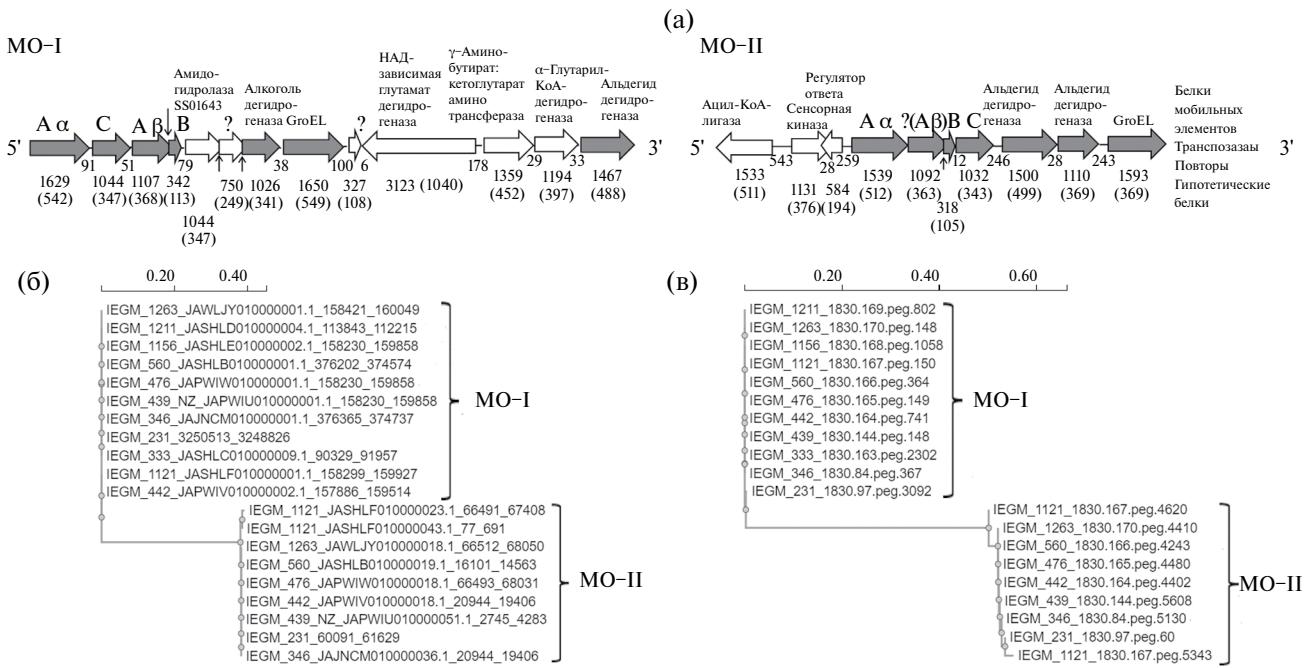


Рис. 4. Растворимые ди-железосодержащие монооксигеназы штаммов *R. ruber* из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним коллекции ИЭГМ, <http://www.iegmcoll.ru/>): а – организация локусов с генами, кодирующими монооксигеназы МО-І и МО-ІІ (цифры показывают длину генов и спейсеров между генами в нуклеотидах; в скобках указаны длины пептидных цепей в аминокислотных остатках; стрелки показывают на перекрытия между генами длиной 3 нуклеотида; ? – гипотетические белки; закрашенные сектора – гены метаболизма пропана; незакрашенные сектора – гены, не связанные непосредственно с метаболизмом пропана); б – филограмма, построенная на основе нуклеотидных последовательностей α -субъединицы белка А монооксигеназ МО-І и МО-ІІ; в – филограмма, построенная на основе аминокислотных последовательностей α -субъединицы белка А монооксигеназ МО-І и МО-ІІ. Филограммы получены с помощью программы Clustal Omega (Madeira et al., 2024). Шкалы на филограммах показывают эволюционные расстояния между последовательностями. Названия ветвей включают номер штамма и информацию о расположении гена в геноме данного штамма. Для анализа использованы геномы штаммов, перечисленных в подписи к рис. S2.

Обнаруженные монооксигеназы МО-І и МО-ІІ исследованных штаммов демонстрировали 100% сходство всех компонентов, включая алкоголь-, альдегиддегидрогеназы и шаперон GroEL. Однако у трех из одиннадцати штаммов, а именно *R. ruber* ИЭГМ 333, ИЭГМ 1156 и ИЭГМ 1211, отсутствовала МО-ІІ, что могло произойти в результате рекомбинации или горизонтального переноса генов. Так, у *R. ruber* ИЭГМ 1121 найдены 3 растворимые ди-железосодержащие монооксигеназы, одна из которых полноценная МО-І, две другие – это части МО-ІІ, которая была разорвана по гену α -субъединицы. По-видимому, произошло перемещение первой половины гена, кодирующего α -субъединицу, вместе с сопутствующими генами ацил-КоA-лигазы и двухкомпонентной системы, а также генами некоторых гипотетических белков в другую часть генома, тогда как остальная часть комплекса МО-ІІ осталась на месте. Рядом с предполагаемым перенесенным участком обнаружены гены транспозаз, мобильных элементов и белков интеграции фагов.

Гомологи растворимых ди-железосодержащих монооксигеназ *R. ruber* найдены в геномах *R. aetherivorans* BCP1 (Ferrari et al., 2024) и *Rhodococcus* sp. ZPP (Zou et al., 2021), при этом гомологи МО-І располагаются в хромосомах данных штаммов, гомологи МО-ІІ – в плазмidaх pBMC2 у *R. aetherivorans* BCP1 и pRFP3 у *Rhodococcus* sp. ZPP, и именно гомолог МО-ІІ детально описан как SmoABCD в статье Ferrari et al. (2024). Описанные Zou et al. (2021) SDIMO SmoXYB1C1Z и мембранные медь-содержащие монооксигеназы HmoCAB, располагающиеся в плазмиде pRFP1 штамма *Rhodococcus* sp. ZPP и ответственные за усвоение этана и пропана, не обнаружены в геномах штаммов *R. ruber* из коллекции ИЭГМ. Следует отметить, что все использованные в анализе штаммы *R. ruber*, а также *R. aetherivorans* BCP1 и *Rhodococcus* sp. ZPP способны расти в присутствии пропана, несмотря на разное количество у них метан/пропанмонооксигеназ. Это является подтверждением того, что ферментативные механизмы окисления пропана родохокками достаточно сложны, не ограничиваются

участием одного ключевого фермента, и необходимо дальнейшее изучение их субстратной специфичности, каталитических свойств и процессов регуляции.

Последние достижения в понимании метаболизма пропана и других газообразных алканов у родококков обусловлены прикладными исследованиями. Например, пропанотроф *R. ruber* ENV425 признан основным агентом биоремедиации грунтовых вод, загрязненных 1,4-диоксаном (Lippinkott et al., 2015; Miao et al., 2021). Использование впервые *in situ* полномасштабной комбинированной системы биобарботирования пропана, биостимулирования и биоаугментации штаммом ENV425 привело к значительному снижению концентрации 1,4-диоксана в грунтовой воде (Bell et al., 2022).

Недавнее исследование (Wu et al., 2023) показало возможность биовосстановления нитратов в условиях ограничения кислорода с использованием пропана или бутана в качестве доноров электронов. Анализ микробного сообщества лабораторного мембранных биореактора выявил доминирование представителей рода *Rhodococcus* в биопленках, обработанных *n*-бутаном, и их отсутствие в биопленках, обработанных пропаном.

Наиболее эффективно разложение бензола, толуола, этилбензола, ксиолов и метил-*трет*-бутиловый эфира осуществлялось клетками *R. rhodochrous* ATCC 21198, предварительно выращенными на изобутане (Huizenga, Semprini, 2023). У данного штамма при росте на пропане, изобутане, бутан-1-оле и бутан-2-оле отмечался высокий уровень экспрессии короткоцепочечной алканмонооксигеназы (SCAM), способной окислять хлорированные алифатические углеводороды, ароматические соединения, простые эфиры и 1,4-диоксан (Rasmussen et al., 2020; Huizenga, Semprini, 2023).

С использованием газоокисляющих родококков перспективен поиск биомаркеров биодеградации ксенобиотиков в частности, хлорированных углеводородов и 1,4-диоксана, в природных образцах (Ramalingam, Cupples, 2020). На основе метагеномного анализа проведено исследование по выявлению генов, кодирующих ключевые монооксигеназы, и связанных с ними филотипов в различных микробных сообществах, что дает представление о потенциальной способности этих сообществ к биоремедиации загрязненных территорий. Установлены высокие значения для пропанмонооксигеназы и низкие – для растворимой метанмонооксигеназы, выявлены общие филотипы, связанные с пропанмонооксигеназой, включая *Mycobacterium*, *Rhodococcus* и *Pseudonocardia*.

С использованием кПЦР было идентифицировано количественно оценено наличие генов

пропанмонооксигеназы (*prmA*) из *R. jostii* RHA1 и *Rhodococcus* sp. RR1 в трех смешанных микробных сообществах (донные отложения, сельскохозяйственная почва и загрязненный грунт). Значительное увеличение копий *prmA* наблюдалось в микрокосмах, инокулированных осадками загрязненного 1,4-диоксаном участка, что подчеркивает информативность генов *prmA* из родококков как биомаркеров процесса биодеградации (Eshghdoostkhatai, Cupples, 2024).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Возросший в настоящее время интерес к пропан- и бутанокисляющим *Rhodococcus* объясняется реальной перспективой их практического использования в качестве (1) биоиндикаторов новых залежей нефти и газа, (2) эффективных биопродуцентов кормового белка на относительно дешевом и максимально перерабатываемом сырье – пропане и *n*-бутане, (3) биодеструкторов экополлютантов для использования в биоремедиации. Специфика оксидоредуктаз, участвующих в окислении не только газообразных алканов, но и сложных гидрофобных контаминаントов, повышенная лабильность и мультифункциональность метаболической системы *R. ruber* открывает новые сферы промышленной эксплуатации этой биотехнологически значимой группы актиномицетов.

В обзоре обобщены знания о биологических особенностях представителей *R. ruber* – одних из ключевых биоокислителей высших газообразных гомологов метана (C_2 – C_4) и адаптивных механизмах устойчивого существования их в условиях жесткой микробной конкуренции за субстрат, благодаря которым пропан- и бутанокисляющие родококки “комфортно” существуют в природных средах, а также техногенно загрязненных биотопах, играя существенную роль в обезвреживании веществ антропогенного происхождения.

Все представители *Rhodococcus* spp. обладают генами, участвующими в разложении алифатических и ароматических соединений, в то время как разложение газообразных (C_2 – C_4) алканов ограничено определенным количеством групп со сравнительно низким видовым разнообразием. Метаболизм алканов является штаммоспецифическим, а не общей особенностью вида: типовой штамм *R. ruber* растет только на C_8 – C_{21} , но не C_2 – C_4 алканах. В своих исследованиях мы использовали в качестве референсных (эталонных) штаммы *R. ruber* ИЭГМ 231, ИЭГМ 333, ИЭГМ 342, ИЭГМ 565.

Родококки демонстрируют способность метаболизировать пропан как по терминальному, так и субтерминальному пути, при этом

относительная важность терминального или субтерминального окисления во время роста бактериальных клеток остается неизвестной. Интеграция геномных, транскриптомных, протеомных и метаболомных данных позволит определить, какие из них являются доминирующими и при каких условиях. Ключевыми ферментами, участвующими в окислении пропана, являются растворимые ди-железосодержащие монооксигеназы (SDIMO), среди которых выделяются пропанмонооксигеназы (PrMO). Эти ферменты обеспечивают кометаболизм токсичных загрязнителей, таких как оксигенаты, хлорированные алканы и диоксан, что делает *R. ruber* перспективными для биоремедиации. В то же время гены кластера *prmA*BCD, кодирующие компоненты пропанмонооксигеназы, могут служить биомаркерами для оценки биодеградационного потенциала микробных сообществ загрязненных территорий. Особый интерес представляет также исследование распространения генов окисления пропана в микробных сообществах посредством горизонтального переноса генов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственных заданий 124020500028-4 и FSNF-2025-0013.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо результатов исследований с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Богданова В.М. Физиологические свойства микроорганизмов, выделенных в атмосфере метана и пропана // Микробиология. 1966. Т. 35. № 2. С. 980–983.

Бокова Е.Н. Окисление этана и пропана некоторыми видами микробактерий // Микробиология. 1954. Т. 23. № 1. С. 15–21.

Глазачева Л.Е., Ившина И.Б., Оборин А.А. Клеточные приспособления *Rhodococcus rhodochrous* и *Rhodococcus ruber*, усваивающие пропан и *n*-бутан // Микробиология. 1990. Т. 59. № 2. С. 301–306.

Губин В.М. Об усваивающих углеводороды бактериях Тамбуканской и Петровской грязи в связи с вопросом газообразования // Курортное дело. 1923. № 5. С. 58.

Ившина И.Б. Состояние и проблемы развития специализированных центров микробиологических ресурсов в России. Обзор // Микробиология. 2012. Т. 81. С. 551–560.

Ivshina I.B. Current situation and challenges of Specialized Microbial Resource Centers in Russia // Microbiology (Moscow). 2012. V. 81. P. 509–516. <https://doi.org/10.1134/S0026261712050098>

Ившина И.Б., Оборин А.А., Нестеренко О.А., Касумова С.А. Бактерии рода *Rhodococcus* грунтовых вод района нефтяных месторождений // Микробиология. 1981. Т. 50. С. 709–716.

Ившина И.Б., Нестеренко О.А., Глазачева Л.Е., Шеховцов В.П. Электронно-микроскопическое изучение факультативных газоиспользующих *Rhodococcus rhodochrous* // Микробиология. 1982. Т. 51. С. 477–481.

Ившина И.Б., Пшеничнов Р.А., Оборин А.А. Пропанокисляющие родококки. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1987. 125 с.

Ившина И.Б., Бердичевская М.В., Зверева Л.В., Рыбалька Л.В., Еловикова Е.А. Фенотипическая характеристика алканотрофных родококков из различных экосистем // Микробиология. 1995. Т. 64. Вып. 4. С. 507–513.

Ившина И.Б., Куюкина М.С. Селективное выделение пропанокисляющих родококков с использованием антибиотических веществ // Микробиология. 1997. Т. 66. С. 494–500.

Ivshina I.B., Kuyukina M.S. Isolation of propane-oxidizing rhodococci on selective media with antibiotics // Microbiology (Moscow). 1997. V. 66. P. 413–418.

Ившина И.Б., Пешкур Т.А., Коробов В.П. Эффективное извлечение цезия клетками бактерий рода *Rhodococcus* // Микробиология. 2002. Т. 71. Р. 418–423.

Ivshina I.B., Peshkur T.A., Korobov V.P. Efficient uptake of cesium ions by *Rhodococcus* cells // Microbiology (Moscow). 2002. V. 71. P. 357–361. <https://doi.org/10.1023/a:1015875216095>

Ившина И.Б., Гришко В.В., Ноговицна Е.М., Кукина Т.П., Толстиков А.Г. Биотрансформация β -ситостерола и сложных эфиров β -ситостерола актинобактериями рода *Rhodococcus* // Прикл. биохим. микробиол. 2005. Т. 41. С. 626–633.

Ivshina I.B., Grishko V.V., Nogovitsina E.M., Kukina T.P., Tolstikov A.G. Bioconversion of β -sitosterol and its esters by actinobacteria of the genus *Rhodococcus* // Appl. Biochem. Microbiol. 2005. V. 41. P. 551–557. <https://doi.org/10.1007/s10438-005-0100-y>

Ившина И.Б., Каменских Т.Н., Анохин Б.А. Адаптационные механизмы выживания алканотрофных родококков, реализованные в неблагоприятных условиях среды // Вестник Пермского

- университета. Серия Биология. 2007. Вып. 5. № 10. С. 107–112.
- Ившина И.Б., Куюкина М.С., Каменских Т.Н., Криворучко А.В., Тюмина Е.А., Елькин А.А.* Углеводородокисляющие родококки: особенности биологической организации под воздействием экополлютантов. Атлас-монография // Под ред. И.Б. Ившиной. УрО РАН, 2021. 140 с.
<https://elibrary.ru/item.asp?id=46512049>
- Коронелли Т.В.* Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводородов окружающей среды (обзор) // Прикл. биохим. микробиол. 1996. Т. 32. С. 579–585.
- Koronelli T.V.* Principles and methods for raising the efficiency of biological degradation of hydrocarbons in the environment: review // Appl. Biochem. Microbiol. 1996. V. 32. P. 519–525.
- Коршунова И.О., Писцова О.Н., Куюкина М.С., Ившина И.Б.* Влияние органических растворителей на жизнеспособность и морфофункциональные свойства родококков // Прикл. биохим. микробиол. 2016. Т. 52. Р. 53–61.
- Korshunova I.O., Pistsova O.N., Kuukina M.S., Ivshina I.B.* The effect of organic solvents on the viability and morphofunctional properties of *Rhodococcus* // Appl. Biochem. Microbiol. 2016. V. 52. P. 43–50.
<https://doi.org/10.1134/S0003683816010075>
- Куликова А.К., Безбородов А.М.* Усвоение пропана и свойства пропанмонооксигеназы из *Rhodococcus erythropolis* 3/89 // Прикл. биохим. микробиол. 2001. Т. 37. Р. 186–189.
- Kulikova A.K., Bezbordov A.M.* Assimilation of propane and characterization of propane monooxygenase from *Rhodococcus erythropolis* 3/89 // Appl. Biochem. Microbiol. 2001. V. 37. P. 164–167.
<https://doi.org/10.1023/A:1002827831098>
- Куюкина М.С., Ившина И.Б., Рычкова М.И., Чумаков О.Б.* Влияние состава клеточных липидов на формирование неспецифической антибиотикорезистентности алканотрофных родококков // Микробиология. 2000. Т. 69. С. 62–69.
- Kuukina M.S., Ivshina I.B., Ritchkova M.I., Chumakov O.B.* Effect of cell lipid composition on the formation of nonspecific antibiotic resistance in alkano-trophic rhodococci // Microbiology (Moscow). 2000. V. 69. P. 51–57.
<https://doi.org/10.1007/BF02757257>
- Могилевский Г.А.* Микробиологические исследования в связи с газовой съемкой // Разведка недр. 1938. № 8–9. С. 59–66.
- Mogilevsky G.A.* Microbiological investigations in connecting with gas surveying // Razvedka Nedr. 1938. V. 8. P. 59–68.
- Могилевский Г.А.* Микробиологический метод поисков газовых и нефтяных залежей. М.–Л.: Гостоптехиздат, 1953. 56 с.
- Оборин А.А., Стадник Е.В.* Нефтегазопоисковая геомикробиология. Екатеринбург: УрО РАН, 1996. 408 с.
- Патент РФ. 2002. № 2180276.
Патент РФ. 2002. № 2193464.
Патент РФ. 2013. № 2475542.
Патент РФ. 2019. № 2707536.
Патент РФ. 2023. № 2798871.
Патент РФ. 2024. № 2818318.
Патент США. 1972. № 3635796.
- Славнина Г.П.* Термофильный вариант *Mycobacterium luteum* // Микробиология. 1962. Т. 31. № 5. С. 819.
- Смирнова З.С.* Отношение метан- и пропанокисляющих бактерий к различным источникам азота // Микробиология. 1962. Т. 31. С. 980–983.
- Смирнова З.С., Татыкова С.Д.* Использование пропана и его производных некоторыми видами проптиномицетов // Микробиология. 1967. Т. 36. С. 381–385.
- Телегина З.П.* Видовой состав микроорганизмов, использующих бутан // Микробиология. 1966. Т. 35. С. 1059–1063.
- Телегина З.П.* Использование углеводородов микроорганизмами, выделенными на средах с алифатическими спиртами // Микробиология. 1968. Т. 37. Р. 885–889.
- Aliakbari E., Tebyanian H., Hassanshahian M., Karinminik A.* Degradation of alkanes in contaminated sites // Int. J. Adv. Biol. Biomed. Res. 2014. V. 2. P. 1620–1637.
- Amouric A., Verhe F., Auria R., Casalot L.* Study of a hexane-degrading consortium in a biofilter and in liquid culture: biodiversity, kinetics and characterization of degrading strains // FEMS Microbiol. Ecol. 2006. V. 55. P. 239–247.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2005.00017.x>
- Amouric A., Quéméneur M., Grossi V., Liebgott P.-P., Auria R., Casalot L.* Identification of different alkane hydroxylase systems in *Rhodococcus ruber* strain SP2B, an hexane-degrading actinomycete // J. Appl. Microbiol. 2010. V. 108. P. 1903–1916.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04592.x>
- Arp D.J.* Butane metabolism by butane-grown “*Pseudomonas butanovora*” // Microbiology (Reading). 1999. V. 145. P. 1173–1180.
<https://doi.org/10.1099/13500872-145-5-1173>
- Ashraf W., Murrell J.C.* Purification and characterization of a NAD⁺-dependent secondary alcohol dehydrogenase from propane-grown *Rhodococcus rhodochrous* PNKb1 // Arch. Microbiol. 1990. V. 153. P. 163–168.
<https://doi.org/10.1007/BF00247815>
- Ashraf W., Murrell J.C.* Genetic, biochemical and immunological evidence for the involvement of two alcohol dehydrogenases in the metabolism of propane by *Rhodococcus rhodochrous* PNKb1 // Arch. Microbiol. 1992. V. 157. P. 488–492.
<https://doi.org/10.1007/BF00276767>
- Ashraf W., Mihdhir A., Murrell J.C.* Bacterial oxidation of propane // FEMS Microbiol. Lett. 1994. V. 122. P. 1–6.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1994.tb07134.x>

- Awala S.I., Gwak J.-H., Kim Y.-M., Kim S.-J., Straz-zulli A., Dunfield P., Yoon H., Kim G.-J., Rhee S.-K.* Verrucomicrobial methanotrophs grow on diverse C3 compounds and use a homolog of particulate methane monooxygenase to oxidize acetone // *ISME J.* 2021. V. 15. P. 3636–3647.
<https://doi.org/10.1038/s41396-021-01037-2>
- Aziz R.K., Bartels D., Best A.A., DeJongh M., Disz T., Ed-wards R.A., Formsma K., Gerdes S., Glass E.M., Kub-al 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 technol-ogy // *BMC Genomics.* 2008. V. 9. Art. 75.
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75>
- Babu J.P., Brown L.R.* New type of oxygenase involved in the metabolism of propane and isobutene // *Appl. Environ. Microbiol.* 1984. V. 48. P. 260–264.
<https://doi.org/10.1128/aem.48.2.260-264.1984>
- Baptist J.N., Gholson R.K., Coon M.J.* Hydrocarbon oxida-tion by a bacterial enzyme system: I. Products of octane oxidation // *Biochim. Biophys. Acta.* 1963. V. 69. P. 40–47.
[https://doi.org/10.1016/0006-3002\(63\)91223-x](https://doi.org/10.1016/0006-3002(63)91223-x)
- Bell C.H., Wong J., Parsons K., Semel W., Mc-Donough J., Gerber K.* First full-scale *in situ* propane biosparging for co-metabolic bioremediation of 1,4-dioxane // *Ground Water Monit. Remed.* 2022. V. 42. P. 54–66.
<https://doi.org/10.1111/gwmr.12511>
- Bell K.S., Kuyukina M.S., Heidbrink S., Philp J.C., Aw D.W.J., Ivshina I.B., Christofi N.* Identification and environmental detection of *Rhodococcus* species by 16S rDNA-targeted PCR // *J. Appl. Microbiol.* 1999. V. 87. P. 472–480.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00824.x>
- Blevins W.T., Perry J.J.* Metabolism of propane, *n*-propyl-amine, and propionate hydrocarbon-utilizing bacte-ria // *J. Bacteriol.* 1972. V. 112. P. 513–518.
<https://doi.org/10.1128/jb.112.1.513-518.1972>
- Brettin T., Davis J.J., Disz T., Edwards R.A., Gerdes S., Olsen G.J., Olson R., Overbeek R., Parrello B., Pusch G.D., Shukla M., Thomason J.A., Stevens R., Vonstein V., Wattam A.R., Xia F.* RASTtk: A modular and extensible implementation of the RAST algorithm for building custom annotation pipelines and annotating batches of genomes // *Sci. Rep.* 2015. V. 5. Art. 8635.
<https://doi.org/10.1038/srep08365>
- Cappelletti M., Di Gennaro P., D'Ursi P., Orro A., Mezz-elan A., Landini M., Fedi S., Frascari D., Presentato A., Zannoni D., Milanesi L.* Genome sequence of *Rhodo-coccus* sp. strain BCP1, a biodegrader of alkanes and chlorinated compounds // *Genome Announc.* 2013. V. 1. Art. e00657-13.
<https://doi.org/10.1128/genomeA.00657-13>
- Cappelletti M., Presentato A., Milazzo G., Turn-er R.J., Fedi S., Frascari D., Zannoni D.* Growth of *Rhodococcus* sp. strain BCP1 on gaseous *n*-alkanes: new metabolic insights and transcriptional analysis of two soluble di-iron monooxygenase genes // *Front. Microbiol.* 2015. V. 6. Art. 393.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00393>
- Cappelletti M., Pinelli D., Fedia S., Zannoni D., Fras-carib D.* Aerobic co-metabolism of 1,1,2,2-tetrachloroethane by *Rhodococcus aetherivorans* TPA grown on propane: kinetic study and bioreactor configuration analysis // *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 2018. V. 93. P. 155–165.
<https://doi.org/10.1002/jctb.5335>
- Cappelletti M., Fedi S., Zannoni D.* Degradation of alkanes in *Rhodococcus* // *Biology of Rhodococcus* / Ed. Alvarez H.M. Springer Nature, Switzerland, AG, 2019a. V. 16. P. 137–171.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-11461-9_6
- Catalogue of Strains of Regional Specialized Collection of Alkanotrophic Microorganisms [<http://www.iegmc-col/strains/index.html>] [25.06.2024].
- Cavicchioli R., Ripple W.J., Timmis K.N., Azam F., Bak-ken L.R., Baylis M., Behrenfeld M.J., Boetius A., Boyd P.W., Classen A.T., Crowther T.W., Danovar R., Foreman C.M., Huisman J., Hutchins D.A., Jans-son J.K., Karl D.M., Koskella B., Welch D.B.M., Mar-tiny J.B.H., Moran M.A., Orphan V.J., Reay D.S., Re-mais J.V., Rich V.I., Singh B.K., Stein L.Y., Stewart F.J., Sullivan M.B., van Oppen M.J.H., Weaver S.C., Webb E.A., Webster N.S.* Scientists' warning to hu-manity: microorganisms and climate change // *Nat. Rev. Microbiol.* 2019. V. 17. P. 569–586.
<https://doi.org/10.1038/s41579-019-0222-5>
- Cerniglia C.E., Perry J.J.* Crude oil degradation by micro-organisms isolated from the marine environment // *Z. Allg. Mikrobiol.* 1973. V. 13. P. 299–306.
<https://doi.org/10.1002/jobm.3630130403>
- Cerniglia C.E., Perry J.J.* Metabolism of *n*-propylamine, isopropylamine, and 1,3-propane diamine by *Mycobacterium convolutum* // *J. Bacteriol.* 1975. V. 124. P. 285–289.
<https://doi.org/10.1128/jb.124.1.285-289.1975>
- Chen Y., Ren H., Kong X., Wu H., Lu Z.* A multicompo-nent propane monooxygenase catalyzes the initial degrad-ation of methyl *tert*-butyl ether in *Mycobacterium vaccae* JOB5 // *Appl. Environ. Microbiol.* 2023. V. 89. Art. e01187-23.
<https://doi.org/10.1128/aem.01187-23>
- Chidambarampadmavathy K., Obulisanmy K., Heimann K.* Role of copper and iron in methane oxidation and bacterial biopolymer accumulation // *Engineer. Life Sci.* 2015. V. 15. P. 387–399.
<https://doi.org/10.1002/elsc.201400127>
- Coleman J.P., Perry J.J.* Purification and characteriza-tion of the secondary alcohol dehydrogenase from propane-utilizing *Mycobacterium vaccae* strain JOB-5 // *J. Gen. Microbiol.* 1985. V. 131. P. 2901–2907.
- Coleman N.V., Bui N.B., Holmes A.J.* Soluble di-iron monooxygenase gene diversity in soils, sediments and

- ethene enrichments // *Environ. Microbiol.* 2006. V. 8. P. 1228–1239.
<https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01015.x>
- Coleman N.V., Le N.B., Ly M.A., Ogawa H.E., McCarl V., Wilson N.L., Holmes A.L.* Verrucomicrobial methanotrophs grow on diverse C3 compounds and use a homolog of particulate methane monooxygenase to oxidize acetone // *ISME J.* 2012. V. 6. P. 171–182.
<https://doi.org/10.1038/ismej.2011.98>
- Crombie A.T.* The effect on lanthanum on growth and gene expression in a facultative methanotroph // *Environ. Microbiol.* 2022. V. 24. P. 596–613.
<https://doi.org/10.1111/1462-2920.15685>
- Crombie A.T., Murrell J.C.* Trace-gas metabolic versatility of the facultative methanotroph *Methylocella silvestris* // *Nature.* 2014. V. 510. P. 148–151.
<https://doi.org/10.1038/nature13192>
- Currie F., Twigg M.S., Hudlesson N., Simons K.E., Marchaut R., Banat I.M.* Biogenic propane production by a marine *Photobacterium* strain isolated from the Western English Channel // *Front. Microbiol.* 2022. V. 13. Art. 1000247.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1000247>
- Davis J.B.* Cellular lipids of a *Nocardia* grown on propane and n-butane // *Appl. Microbiol.* 1964. V. 12. P. 301–304.
<https://doi.org/10.1128/am.12.4.301-304.1964>
- Davis J.B., Chase H.H., Raymond R.L.* *Mycobacterium paraffinicum* n. sp. a bacterium isolated from soil // *Appl. Microbiol.* 1956. V. 4. P. 310–315.
<https://doi.org/10.1128/am.4.6.310-315.1956>
- Davis J.B., Raymond R.L.* Oxidation of alkyl-substituted cyclic hydrocarbons by a nocardia during growth on n-alkanes // *Appl. Microbiol.* 1961. V. 9. P. 383–388.
<https://doi.org/10.1128/am.9.5.383-388.1961>
- Davies J.S., Wellman A.M., Zajic J.E.* *Hyphomycetes* utilizing natural gas // *Can. J. Microbiol.* 1973. V. 19. P. 81–85.
<https://doi.org/10.1139/m73-012>
- de Carvalho C.C.C.R.* Adaptation of *Rhodococcus erythropolis* cells for growth and bioremediation under extreme conditions // *Res. Microbiol.* 2012. V. 163. P. 125–136.
<https://doi.org/10.1016/j.resmic.2011.11.003>
- de Carvalho C.C.C.R., Costa S.S., Fernandes P., Couto I., Viveiros M.* Membrane transport systems and the biodegradation potential and pathogenicity of genus *Rhodococcus* // *Front. Physiol.* 2014. V. 5. Art. 133.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00133>
- Declerck S.W.A., van der Heijden M.G.A., Varese G.C., Turkovskaya O.V., Evtushenko L.I., Ivshina I.B., Desmeth P.* PERN: An EU-Russia initiative for rhizosphere microbial resources // *Trends Biotechnol.* 2015. V. 33. P. 377–380.
<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.03.005>
- Dedysh S.N., Knief C., Dunfield P.F.* *Methylocella* species are facultatively methanotrophic // *J. Bacteriol.* 2005. V. 187. P. 4665–4670.
<https://doi.org/10.1128/JB.187.13.4665-4670.2005>
- Deng C., Yu X., Yang J., Li B., Sun W., Yuan H.J.* Universal indicators for oil and gas prospecting based on bacterial communities shaped by light-hydrocarbon microseepage in China // *Microbiol. Biotechnol.* 2016. V. 26. P. 1320–1332.
<https://doi.org/10.4014/jmb.1602.02045>
- Deng D., Li F., Li M.* A novel propane monooxygenase initiating degradation of 1,4-dioxane by *Mycobacterium dioxanotrophicus* PH-06 // *Environ. Sci. Technol. Lett.* 2018. V. 5. P. 86–91.
<https://doi.org/10.1021/acs.estlett.7b00504>
- Deng Y., Deng C., Yang J., Li B., Wang E., Yuan H.* Novel butane-oxidizing bacteria and diversity of *bmoX* genes in Puguang gas field // *Front. Microbiol.* 2018. V. 9. Art. 1576.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01576>
- Desmeth P., Bosschaerts M.* The necessary adaptation of culture collections to the new socioeconomic environment at global level // *Microbial diversity: current situation, conservation strategy and biotechnological potential / Proc. 3rd int. conf. "Microbial Diversity: Current Situation, Conservation Strategy and Biotechnological Potential".* Eds. Ivshina I.B., Kuyukin, M.S., Kamenskikh T.N., Alsimova L.A. Perm, 2008. P. 144–146.
- Dubbels B.L., Sayavedra-Soto L.A., Bottom J.P., Arp D.J.* *Thauera butanivorans* sp. nov., a C₂–C₉ alkane-oxidizing bacterium previously referred to as "Pseudomonas butanovora" // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2009. V. 59. P. 1576–1578.
<https://doi.org/10.1099/ijss.0.000638-0>
- Dubinsky E.A., Conrad M.E., Chakraborty R., Bill M., Borghol S.E., Hollibaugh J.T., Mason O.U., Piceno Y.M., Reid F.C., Stringfellow W.T., Tom L.M., Hazen T.C., Andersen G.L.* Succession of hydrocarbon-degrading bacteria in the aftermath of the deepwater horizon oil spill in the gulf of Mexico // *Environ. Sci. Technol.* 2013. V. 47. P. 10860–10867.
<https://doi.org/10.1021/es401676y>
- Dunlap K.R., Perry J.J.* Effect of substrate on the fatty acid composition of hydrocarbon-utilizing microorganisms // *J. Bacteriol.* 1967. V. 94. P. 1919–1924.
<https://doi.org/10.1128/jb.94.6.1919-1923.1967>
- Dworkin M., Foster J.W.* Experiments with some microorganisms with utilize ethane and hydrogen // *J. Bacteriol.* 1958. V. 75. P. 502–603.
<https://doi.org/10.1128/jb.75.5.592-603.1958>
- Eshghdoostkhatai Z., Cupples A.M.* Occurrence of *Rhodococcus* sp. RR1 *prmA* and *Rhodococcus jostii* RHA1 *prmA* across microbial communities and their enumeration during 1,4-dioxane biodegradation // *J. Microbiol. Methods.* 2024. V. 219. Art. 106908.
<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2024.106908>
- Etiope G., Klusman R.W.* Geologic emissions of methane to the atmosphere // *Chemosphere.* 2002. V. 49. P. 777–789.
[https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(02\)00380-6](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(02)00380-6)
- Etiope G., Ciccioli P.* Earth's degassing: a missing ethane and propane source // *Science.* 2009. V. 323. Art. 478.
<https://doi.org/10.1126/science.1165904>

- Etiope G., Feyzullayev A., Baciu C.L.* Terrestrial methane seeps and mud volcanoes: a global perspective of gas origin // *Mar. Pet. Geol.* 2009. V. 36. P. 333–344.
<https://doi.org/10.1016/j.marpgeo.2008.03.001>
- Farhan Ul Haque M., Crombie A.T., Murrell J.C.* Novel facultative *Methyloccella* strains are active methane consumers at terrestrial natural gas seeps // *Microbiome*. 2019. V. 7. Art. 134.
<https://doi.org/10.1186/s40168-019-0741-3>
- Farhan Ul Haque M., Hernández M., Crombie A.T., Murrell J.C.* Identification of active gaseous-alkane degraders at natural gas seeps // *ISME J.* 2022. V. 16. P. 1705–1716.
<https://doi.org/10.1038/s41396-022-01211-0>
- Ferrari E., di Benedetto G., Firrincieli A., Presentato A., Frascari D., Cappelletti M.* Unravelling the role of the group 6 soluble di-iron monooxygenase (SDIMO) SmoABCD in alkane metabolism and chlorinated alkane degradation // *Microbial. Biotechnol.* 2024. V. 17. Art. e14453.
<https://doi.org/10.1111/1751-7915.14453>
- Frascari D., Pinelli D., Nocentini M., Fedi S., Pii Y., Zannoni D.* Chloroform degradation by butane-grown cells of *Rhodococcus aetherivorans* BCP1 // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2006. V. 73. P. 421–428.
<https://doi.org/10.1007/s00253-006-0433-3>
- Frascari D., Pinelli D., Nocentini M., Baleani E., Cappelletti M., Fedi S.* A kinetic study of chlorinated solvent cometabolic biodegradation by propane-grown *Rhodococcus* sp. PB1 // *Biochem. Engineer. J.* 2008. V. 42. P. 139–147.
<https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.06.011>
- Gerrick H., Lascarro J.F., Sengupta S., Daly E., Nemerow N., Wong K.* Characterization of gas produced by the anaerobic digestion of municipal solid waste – Alternative energy sources, 3. Proc. 3. Washington. 1983. V. 7. P. 291–299.
- Goff K.L., Hug L.A.* Environmental potential for microbial 1,4-dioxane degradation is sparse despite mobile elements playing a role in trait distribution // *Appl. Environ. Microbiol.* 2022. V. 88. Article e02091–e02021.
<https://doi.org/10.1128/aem.02091-21>
- Haase K., Wendlandt K.-D., Gräber A., Stottmeister U.* Co-metabolic degradation of MTBE using methane-propane- and butane-utilizing enrichment cultures and *Rhodococcus* sp. BU3 // *Engineer. Life Sci.* 2006. V. 6. P. 508–513.
<https://doi.org/10.1002/elsc.200520144>
- Hamamura N., Page C., Long T., Semprini L., Arp D.J.* Chloroform cometabolism by butane-grown CF8, *Pseudomonas butanovora*, and *Mycobacterium vaccae* JOB5 and methane grown *Methylosinus trichosporium* OB3b // *Appl. Environ. Microbiol.* 1997. V. 63. P. 3607–3613.
<https://doi.org/10.1128/aem.63.9.3607-3613.1997>
- Hamamura N., Storfa R.T., Semprini L., Arp D.J.* Diversity in butane monooxygenases among butane-grown bacteria // *Appl. Environ. Microbiol.* 1999. V. 65. P. 4586–4593.
<https://doi.org/10.1128/AEM.65.10.4586-4593.1999>
- Hamamura N., Chris M. Yeager C.M., Arp D.J.* Two distinct monooxygenases for alkane oxidation in *Nocardoides* sp. strain CF8 // *Appl. Environ. Microbiol.* 2001. V. 67. P. 4992–4998.
<https://doi.org/10.1128/AEM.67.11.4992-4998.2001>
- Hara H., Stewart G.R., Mohn W.W.* Involvement of a novel ABC transporter and monoalkyl phthalate ester hydrolase in phthalate ester catabolism by *Rhodococcus jostii* RHA1 // *Appl. Environ. Microbiol.* 2010. V. 76. P. 1516–1523.
<https://doi.org/10.1128/AEM.02621-09>
- Haufmann U., Wolters D.A., Fränzel B., Eltis L.D., Poetsch A.* Physiological adaptation of the *Rhodococcus jostii* RHA1 membrane proteome to steroids as growth substrates // *J. Proteome Res.* 2013. V. 12. P. 1188–1198.
<https://doi.org/10.1021/pr300816n>
- Hazen T.C., Dubinsky E.A., DeSantis T.Z., Andersen G.L., Piceno Y.M., Singh N., Jansson J.K., Probst A., Borglin S.E., Fortney J.L., Stringfellow W.T., Bill M., Conrad M.E., Tom L.M., Chavarria K.L., Alusi T.R., Lamendella R., Joyner D.C., Spier C., Baelum J., Auer M., Zemla M.L., Chakraborty R., Sonnenthal E.L., D'haeseleer P., Holman H.-Y.N., Osman S., Lu Z., van Nostrand J.D., Deng Y., Zhou J., Mason O.U.* Deep-sea oil plume enriches indigenous oil-degrading bacteria // *Science*. 2010. V. 330. P. 204–211.
<https://doi.org/10.1126/science.1196830>
- Heiss-Blanquet S., Benoit Y., Maréchaux C., Monot F.* Assessing the role of alkane hydroxylase genotypes in environmental samples by competitive PCR // *J. Appl. Microbiol.* 2005. V. 99. P. 1392–1403.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02715.x>
- Hinrichs K.-U., Hayes J.M., Bach W., Spivack A.J., Hmelo L.R., Holm N.G., Johnson C.G., Silva S.P.* Biological formation of ethane and propane in the deep marine subsurface // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006. V. 103. P. 14684–14689.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0606535103>
- Horvitz L.* Vegetation and geochemical prospecting for petroleum // *Bull. Amer. Assoc. Petrol. Geol.* 1972. V. 56. P. 925–940.
- Hou C.T., Patel R., Laskin A.I., Barnabe N., Barist I.* Epoxidation of short-chain alkenes by resting-cell suspensions of propane-grown bacteria // *Appl. Environ. Microbiol.* 1983a. V. 46. P. 171–177.
<https://doi.org/10.1128/aem.46.1.171-177.1983>
- Hou C.T., Patel R.N., Laskin A.I., Barnab N., Baris I.* Production of methyl ketones from secondary alcohols by cell suspensions of C_2 to C_4 n-alkane-grown bacteria // *Appl. Environ. Microbiol.* 1983b. V. 46. P. 178–184.
<https://doi.org/10.1128/aem.46.1.178-184.1983>
- Huizinga J.M., Semprini L.* Influence of growth substrate and contaminant mixtures on the degradation of BTEX and MTBE by *Rhodococcus rhodochrous*

- ATCC strain 21198 // Biodegradation. 2023. V. 34. P. 461–475.
<https://doi.org/10.1007/s10532-023-10037-2>
- Ivshina I. B., Kuyukina M. S., Philp J. C., Christofi N. Oil desorption from mineral and organic materials using biosurfactant complexes produced by *Rhodococcus* species // World J. Microbiol. Biotechnol. 1998. V. 14. P. 711–717.
<https://doi.org/10.1023/A:1008885309221>
- Ivshina I. B., Kuyukina M. S. Turning Russian specialized microbial culture collections into resource centers for biotechnology // Trends Biotechnol. 2013. V. 31. P. 609–611.
<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.08.002>
- 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 // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2013. V. 97. P. 5315–5327.
<https://doi.org/10.1007/s00253-013-4869-y>
- Ivshina I., Kostina L., Krivoruchko A., Kuyukina M., Peshkur T., Anderson P., Cunningham C. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil spiked with model mixtures of petroleum hydrocarbons and heterocycles using biosurfactants from *Rhodococcus ruber* IEGM 231 // J. Hazard. Mater. 2016. V. 312. P. 8–17.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.03.007>
- Ivshina I. B., Kuyukina M. S., Krivoruchko A. V. Hydrocarbon-oxidizing bacteria and their potential in eco-biotechnology and bioremediation // Microbial resources: from functional existence in nature to industrial applications / Ed. Kurtböké I. New York: Elsevier, 2017. P. 121–148.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804765-1.00006-0>
- Ivshina I. B., Kuyukina M. S. Specialized microbial resource centers: a driving force of the growing bioeconomy // Microbial resource conservation / Eds. Sharma, S.K., Varma, A. Springer International Publishing AG, part of Springer Nature, 2018. V. 54. P. 111–140.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-96971-8_4
- Ivshina I. B., Tyumina E. A., Kuzmina M. V., Vikhareva E. V. Features of diclofenac biodegradation by *Rhodococcus ruber* IEGM 346 // Sci. Rep. 2019. V. 9. Art. 9159.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-45732-9>
- Ivshina I. B., Kuyukina M. S., Krivoruchko A. V., Tyumina E. A. Responses to ecopollutants and pathogenization risks of saprotrophic *Rhodococcus* species // Pathogens. 2021. V. 10. Art. 974.
<https://doi.org/10.3390/pathogens10080974>
- Ivshina I., Bazhutin G., Tyumina E. *Rhodococcus* strains as a good biotool for neutralizing pharmaceutical pollutants and obtaining therapeutically valuable products: through the past into the future // Front. Microbiol. 2022. V. 13. Art. 967127.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.967127>
- Ivshina I. B., Kuyukina M. S., Krivoruchko A. V. Draft genome sequence of propane- and butane-oxidizing *Rhodococcus ruber* IEGM 333 able to accumulate cesium // Microbiol. Resour. Announc. 2024a. Art. e00101-24.
<https://doi.org/10.1128/mra.00101-24>
- Ivshina I. B., Kuyukina M. S., Krivoruchko A. V. Extremotolerant *Rhodococcus* as an important resource for environmental biotechnology // Actinomycetes in marine and extreme environments: unexhausted sources for microbial biotechnology / Ed. Kurtböké I. Boca Raton: Science Publishers, CRC Press, 2024b. P. 209–246.
<https://doi.org/10.1201/9780429293948>
- Ivshina I. B., Kuyukina M. S., Litvinenko L. V., Golysheva A. A., Kostrikina N. A., Sorokin V. V., Mulyukin A. L. Bioaccumulation of molybdate ions by alkanothrophic *Rhodococcus* leads to significant alterations in cellular ultrastructure and physiology // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2024c. V. 274. Art. 116190.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116190>
- Iwabuchi N., Sharma P. K., Sunairi M., Kishi E., Sugita K., van der Mei H. C., Nakajima M., Busscher H. J. Role of interfacial tensions in the translocation of *Rhodococcus erythropolis* during growth in a two phase culture // Environ. Sci. Technol. 2009. V. 43. P. 8290–8294.
<https://doi.org/10.1021/es901208s>
- Jaekel U., Vogt C., Fischer A., Richnow H. H., Musat F. Carbon and hydrogen stable isotope fractionation associated with the anaerobic degradation of propane and butane by marine sulfate-reducing bacteria // Environ. Microbiol. 2014. V. 16. P. 130–140.
<https://doi.org/10.1111/1462-2920.12251>
- Ji Y., Mao G., Wang Y., Bartiam M. Structural insights into diversity and *n*-alkane biodegradation mechanisms of alkane hydroxylases // Front. Microbiol. 2013. V. 14. Art. 58.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00058>
- Johnson E. L., Hyman M. R. Propane and *n*-butane oxidation by *Pseudomonas putida* GPo1 // Appl. Environ. Microbiol. 2006. V. 72. P. 950–952.
<https://doi.org/10.1128/AEM.72.1.950-952.2006>
- Jurtshuk P., Cardini G. E. The mechanism of hydrocarbon oxidation by a *Corynebacterium* species // Crit. Rev. Microbiol. 1971. V. 1. P. 239–289.
- Kester A. S., Foster J. W. Diterminal oxidation of long-chain alkanes by bacteria // J. Bacteriol. 1963. V. 85. P. 859–869.
- Kikukawa H., Koyasu R., Yasohara Y., Ito N., Mitsukura K., Yoshida T. Asymmetric oxidation of 1,3-propanediols to chiral hydroxyalkanoic acids by *Rhodococcus* sp. 2N // Biosci. Biotechnol. Biochem. 2019. V. 83. P. 768–773.
<https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1559031>
- Kormendy A. C., Wayman M. Characteristic cytoplasmic structures in microorganisms utilizing *n*-butane and 1-butanol // Can. J. Microbiol. 1974. V. 20. P. 225–230.
<https://doi.org/10.1139/m74-035>

- Kotani T., Yamamoto T., Yurimoto H., Sakai Y., Kato N.* Propane monooxygenase and NAD⁺-dependent secondary alcohol dehydrogenase in propane metabolism by *Gordonia* sp. strain TY-5 // *J. Bacteriol.* 2003. V. 185. P. 7120–7128.
<https://doi.org/10.1128/jb.185.24.7120-7128.2003>
- Kotani T., Kawashima Y., Yurimoto H., Kato N., Sakai Y.* Gene structure and regulation of alkane monooxygenases in propane-utilizing *Mycobacterium* sp. TY-6 and *Pseudonocardia* sp. TY-7 // *J. Biosci. Bioeng.* 2006a. V. 102. P. 184–192.
<https://doi.org/10.1263/jbb.102.184>
- Kotani T., Yurimoto H., Kato N., Sakai Y.* Novel acetone metabolism in a propane-utilizing bacterium, *Gordonia* sp. strain TY-5 // *J. Bacteriol.* 2006b. V. 189. P. 886–893.
<https://doi.org/10.1128/JB.01054-06>
- Krivoruchko A. V., Kuyukina M. S., Peshkur T. A., Cunningham C. J., Ivshina I. B.* *Rhodococcus* strains from the Specialized Collection of Alkanotrophs for biodegradation of aromatic compounds // *Molecules*. 2023. V. 28. Art. 2393.
<https://doi.org/10.3390/molecules2805239>
- Kulig J. K., Spandolf C., Hyde R., Ruzzini A. C., Eltis L. D., Grönberg G., Hayes M. A., Grogan G.* A P450 fusion library of heme domains from *Rhodococcus jostii* RHA1 and its evaluation for the biotransformation of drug molecules // *Bioorg. Med. Chem.* 2015. V. 23. P. 5603–5609.
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.07.025>
- Kurth E. G., Doughty D. M., Bottomley P. J., Arp D. J., Sayavedra-Soto L. A.* Involvement of BmoR and BmoG in *n*-alkane metabolism in “*Pseudomonas butanovora*” // *Microbiology (Reading)*. 2008. V. 154. P. 139–147.
<https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/012724-0>
- Kuyukina M. S., Glebov G. G., Ivshina I. B.* Effects of nickel nanoparticles on *Rhodococcus* surface morphology and nanomechanical properties // *Nanomaterials*. 2022. V. 12. Art. 951.
<https://doi.org/10.3390/nano12060951>
- Laczi K., Kis Á., Horváth B., Maróti G., Hegedüs B., Perei K., Rákely G.* Metabolic responses of *Rhodococcus erythropolis* PR4 grown on diesel oil and various hydrocarbons // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2015. V. 99. P. 9745–9759.
<https://doi.org/10.1007/s00253-015-6936-z>
- Lai C.-Y., Wu M., Lu X., Wang Y., Yuan Z., Guo J.* Microbial perchlorate reduction driven by ethane and propane // *Environ. Sci. Technol.* 2021. V. 55. P. 2006–2015.
<https://doi.org/10.1021/acs.est.0c04103>
- Lakshmi M., Rasheed M. A., Madhavi T., Rajeswara Reddy B., Kalpana M. S., Patil D. J., Daval A. M.* Geochemical exploration for hydrocarbons in the soils of southeast of Krishna-Godavari Basin, Andhra Pradesh // *J. Geol. Soc. India*. 2012. V. 80. P. 641–652.
<https://doi.org/10.1007/s12594-012-0190-0>
- Li J.-L., Zhai X., Chen R., Wu Y.-C., Zhang H.-H.* Occurrence and emission of non-methane hydrocarbons in the East China Sea: roles of phytoplankton assemblages // *Environ. Chem.* 2021. V. 18. P. 247–260.
<https://doi.org/10.1071/EN210660>
- Linton J. D., Godley A. R., Bailey M. L., Barnes L. J.* Growth of an ethane-utilizing mixed culture in a chemostat // *J. Appl. Bacteriol.* 1980. V. 48. P. 341–347.
<https://doi.org/10.1111/J.1365-2672.1980.TB01021.X>
- Lippincott D., Streger S. H., Schaefer C. E., Hinkle J., Stormo J., Steffan R. J.* Bioaugmentation and propane biosparging for *in situ* biodegradation of 1,4-dioxane // *Ground Water Monit. Remed.* 2015. V. 35. P. 81–92.
<https://doi.org/10.1111/gwmr.12093>
- Liu C., Zhang L., Yu H., Zhang H., Niu H., Gai J.* Bioreduction of Cr(VI) using a propane-based membrane biofilm reactor // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2023. V. 30. P. 32683–32695.
<https://doi.org/10.1007/s11356-022-24146-7>
- Luk A. W. S., Beckmann S., Manefield M.* Dependency of DNA extraction efficiency on cell concentration confounds molecular quantification of microorganisms in groundwater // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2018. V. 94. Art. 146.
<https://doi.org/10.1093/femsec/fiy146>
- Lukins H. B., Foster J. W.* Methyl ketone metabolism in hydrocarbon-utilizing mycobacteria // *J. Bacteriol.* 1963. V. 85. P. 1074–1087.
<https://doi.org/10.1128/jb.85.5.1074-1087.1963>
- MacMichael G. J., Brown L. R.* Role of carbon dioxide in catabolism of propane by “*Nocardia paraffinicum*” (*Rhodococcus rhodochrous*) // *Appl. Environ. Microbiol.* 1987. V. 53. P. 65–69.
<https://doi.org/10.1128/aem.53.1.65-69.1987>
- Madeira F., Madhusoodanan N., Lee J., Eusebi A., Niewiecka A., Tivey A. R. N., Lopez R., Butcher S.* The EMBL-EBI Job Dispatcher sequence analysis tools framework in 2024 // *Nucl. Acids Res.* 2024. Art. gkae241.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkae241>
- Malachowsky K. J., Phelps T. J., Teboli A. B., Minnikin D. E., White D. C.* Aerobic mineralization of trichloroethylene, vinyl chloride, and aromatic compounds by *Rhodococcus* species // *Appl. Environ. Microbiol.* 1994. V. 60. P. 542–548.
<https://doi.org/10.1128/aem.60.2.542-548.1994>
- Masai E., Yamada A., Healy J. M., Hatta T., Kimbara K., Fukuda M., Yano K.* Characterization of biphenyl catabolic genes of gram-positive polychlorinated biphenyl degrader *Rhodococcus* sp. strain RHA1 // *Appl. Environ. Microbiol.* 1995. V. 61. P. 2079–2085.
<https://doi.org/10.1128/aem.61.6.2079-2085.1995>
- Mason O. U., Hazen T. C., Borglin S., Chain P. S. G., Dubsinsky E. A., Fortney J. L., Han J., Holman H.-Y. N., Hultman J., Lamendella R., Mackelprang R., Malfatti S., Tom L. M., Tringe S. G., Woyke T., Zhou J., Rubin E. M., Jansson J. K.* Metagenome, metatranscriptome and single-cell sequencing reveal microbial response to Deepwater Horizon oil spill // *ISME J.* 2012. V. 6. P. 1715–1727.
<https://doi.org/10.1038/ismej.2012.59>

- Mason O.U., Han J., Woyke T., Jansson J.K.* Single-cell genomics reveals features of a *Colwellia* species that was dominant during the Deepwater Horizon oil spill // *Front. Microbiol.* 2014. V. 5. Art. 332. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2014.00332>
- Mazzini A., Sciarra A., Etiope G., Sadavarte P., Houweling S., Pandey S., Husein A.* Relevant methane emission to the atmosphere from a geological gas manifestation // *Sci. Rep.* 2021. V. 11. Art. 4138. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83369-9>
- McAuliffe C.* Solubility in water of C_1-C_9 hydrocarbons // *Nature*. 1963. V. 200. P. 1092–1093. <https://doi.org/10.1038/1001092A0>
- McLee A.G., Kormendy A.C., Wayman M.* Isolation of *n*-butane-utilizing organisms // *Can. J. Microbiol.* 1972. V. 18. P. 1191–1195. <https://doi.org/10.1139/m72-186>
- McLeod M.P., Warren R.L., Hsiao W.W., Araki N., Myhre M., Fernandes C., Miyazawa D., Wong W., Lillquist A.L., Wang D., Dosanjh M., Hara H., Petrescu A., Morin R.D., Yang G., Stott J.M., Schein J.E., Shin H., Smailus D., Siddiqui A.S., Marra M.A., Jones S.J., Holt R., Brinkman F.S., Miyauchi K., Fukuda M., Davies J.E., Mohn W.W., Eltis L.D.* The complete genome of *Rhodococcus* sp. RHA1 provides insights into a catabolic powerhouse // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006. V. 103. P. 15582–15587. <https://doi.org/10.1073/pnas.0607048103>
- Miao Y., Heintz M.B., Bell C.H., Johnson N.W., Polasko A.L., Favero D., Mahendra S.* Profiling microbial community structures and functions in bioremediation strategies for treating 1,4-dioxane-contaminated groundwater // *J. Hazard. Mater.* 2021. V. 408. Art. 124457. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124457>
- Microbial Resource Conservation, Soil Biology. Eds. Sharma S.K., Varma A. Springer International Publishing AG. Part of Springer Nature, 2018. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96971-8_4
- Miqueletto P.B., Andreato F.D., Dias A.C.F., Ferreira J.C., Dos Santos Neto E.V., de Oliveira V.M.* Cultivation-independent methods applied to the microbial prospection of oil and gas in soil from a sedimentary basin in Brazil // *AMB Express*. 2011. V. 1. Art. 35. <https://doi.org/10.1186/2191-0855-1-35>
- Moreno Horn M., Garbe L.-A., Tressl R., Adrian L., Görisch H.* Biodegradation of bis(1-chloro-2-propyl) ether via initial ether scission and subsequent dehalogenation by *Rhodococcus* sp. strain DTB // *Arch. Microbiol.* 2003. V. 179. P. 234–241. <https://doi.org/10.1007/s00203-003-0522-y>
- Moreno R., Rojo F.* Enzymes for aerobic degradation of alkanes in bacteria // Aerobic utilization of hydrocarbons, oils, and lipids / Ed. Rojo F. Springer International Publishing, Cham. 2019. P. 117–142. https://doi.org/10.1007/978-3-319-50418-6_6
- Murrell J.C., McDonald I.R., Gilbert B.* Regulation of expression of methane monooxygenases by copper ions // *Trends Microbiol.* 2000. V. 8. P. 221–225. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(00\)01739-X](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(00)01739-X)
- Mutnuri L., Rasheed M.A., Madhavi T., Reddy R., Kalpana M.S., Patil D.J., Dayal A.* Geochemical exploration for hydrocarbons in the soils of southeast of Krishna-Godavari Basin, Andhra Pradesh // *J. Geolog. Soc. India*. 2012. V. 80. P. 641–652. <https://doi.org/10.1007/s12594-012-0190-0>
- Neumann G., Veeranagouda Y., Karegoudar T.B., Sahin O., Mäusezahl I., Kabelitz N., Kappelmeyer U., Heipieper H.J.* Cells of *Pseudomonas putida* and *Enterobacter* sp. adapt to toxic organic compounds by increasing their size // *Extremophiles*. 2005. V. 9. P. 163–168. <https://doi.org/10.1007/s00792-005-0431-x>
- Onodera M., Ogasawara N.* Propane oxidation activity and its induction in a gaseous hydrocarbon assimilating mold *Scedosporium* sp. A-4 // *Agric. Biol. Chem.* 1990. V. 54. P. 731–736.
- Overbeek R., Olson R., Pusch G.D., Olsen G.J., Davis J.J., Disz T., Edwards R.A., Gerdes S., Parrello B., Shukla M., Vonstein V., Wattam A.R., Xia F., Stevens R.* The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST) // *Nucl. Acids Res.* 2014. V. 42. Database issue. D206–D214. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1226>
- Overmann J.* Significance and future role of microbial resource centers // *Syst. Appl. Microbiol.* 2015. V. 38. P. 258–265. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2015.02.008>
- Pabst G.S. Brown L.R.* The role of isopropyl alcohol in the microbial metabolism of propane // *Dev. Ind. Microbiol.* 1968. V. 9. P. 394–400.
- Padda R.S., Pandey K.K., Kaul S., Nair V.D., Jain R.K., Basus S.K., Chakrabarti T.* A novel gene encoding a 54 kDa polypeptide is essential for butane utilization by *Pseudomonas* sp. IMT37 // *Microbiology (Reading)*. 2001. V. 147. P. 2479–2491. <https://doi.org/10.1099/00221287-147-9-2479>
- Pandey K.K., Mayilraj S., Chakrabarti T.* *Pseudomonas indica* sp. nov., a novel butane-utilizing species // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2002. V. 52. P. 1559–1567. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-5-1559>
- Patel N.R., Hou C.T., Laskin A.I., Felix A., Derelanko P.* Oxidation of alkanes by organisms grown on C_2-C_4 alkanes // *J. Appl. Biochem.* 1983. V. 5. P. 107–120.
- Perry J.J.* Propane utilization by microorganisms // *Adv. Appl. Microbiol.* 1980. V. 26. P. 89–115. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70331-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70331-9)
- Pen Y., Zhang Z.J., Morales-García A.L., Mears M., Tarmey D.S., Edyvean R.G., Banwart S.A., Geoghegan M.* Effect of extracellular polymeric substances on the mechanical properties of *Rhodococcus* // *Biochim. Biophys. Acta*. 2015. V. 1848. P. 518–526. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.11.007>

- Phillips W.E., Perry J.J. Metabolism of *n*-butane and 2-butanone by *Mycobacterium vaccae* // *J. Bacteriol.* 1974. V. 120. P. 987–989.
<https://doi.org/10.1128/jb.120.2.987-989.1974>
- Philp J.C., Kuyukina M.S., Ivshina I.B., Dunbar S.A., Christofi N., Lang S., Wray V. Alkanotrophic *Rhodococcus ruber* as a biosurfactant producer // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2002. V. 59. P. 318–324.
<https://doi.org/10.1007/s00253-002-1018-4>
- Picone N., Mohammadi S.S., Waagen A.C., van Aken T.A., Jetten M.S.M., Pol A., Op den Camp H.J.M. More than a methanotroph: a broader substrate spectrum for *Methylacidiphilum fumariolicum* SolV // *Front. Microbiol.* 2020. V. 11. Art. 604485.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.604485>
- Prakash O., Nimonkar V., Shouche V.S. Practice and prospects of microbial preservation // *FEMS Microbiol. Lett.* 2013. V. 339. P. 1–9.
<https://doi.org/10.1111/1574-6968.12034>
- Ramalingam V., Cupples A.M. Enrichment of novel *Actinomycetales* and the detection of monooxygenases during aerobic 1,4-dioxane biodegradation with uncontaminated and contaminated inocula // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2020. V. 104. P. 2255–2269.
<https://doi.org/10.1007/s00253-020-10376-7>
- Rasheed M.A., Prasanna M.V., Kumar T.S., Patil D.J., Dayal A.M. Geomicrobial prospecting method for hydrocarbon exploration in Vengannapalli Village, Cudappah Basin, India // *Curr. Sci. India.* 2008. V. 95. P. 361–366.
- Rasheed M.A., Lakshmi M., Srinu D., Dayal A.M. Bacteria as indicators for finding oil and gas reservoirs: a case study of the Bikaner-Nagaur Basin, Rajasthan, India // *Pet. Sci.* 2011. V. 8. P. 264–268.
<https://doi.org/10.1007/s12182-011-0143-z>
- Rasheed M.A., Hasan S.Z., Rao P.L.S., Boruah A., Sudarshan V., Kumar B., Harinarayana T. The microbial activity in development of hydrocarbon microseepage: an indicator for oil and gas exploration // *Geosci. J.* 2013. V. 17. P. 329–338.
<https://doi.org/10.1007/s12303-013-0026-y>
- Rasheed M.A., Hasan S.Z., Rao P.L.S., Boruah A., Sudarshan V., Kumar B., Harinarayana T. Application of geo-microbial prospecting method for finding oil and gas reservoirs // *Front. Earth Sci.* 2015. V. 9. P. 40–50.
<https://doi.org/10.1007/s11707-014-0448-5>
- Rasmussen M.T., Saito A.M., Hyman M.R., Semprini L. Co-encapsulation of slow release compounds and *Rhodococcus rhodochrous* ATCC 21198 in gellan gum beads to promote the long-term aerobic cometabolic transformation of 1,1,1-trichloroethane, cis-1,2-dichloroethene and 1,4-dioxane // *Environ. Sci. Process. Impacts.* 2020. V. 22. P. 771–791.
<https://doi.org/10.1039/C9EM00607A>
- Raymond D.R., Davis G.B. *n*-Alkane utilization and lipid formation by *Nocardia* // *Appl. Microbiol.* 1960. V. 8. P. 329–334.
<https://doi.org/10.1128/am.8.6.329-334.1960>
- Reddy C.M., Arey J.S., Seewald J.S., Sylva S.P., Lemkau K.L., Nelson R.K., Carmichael C.A., McIntyre C.P., Fenwick J., Ventura G.T., van Mooy B.A.S., Camilli R. Composition and fate of gas and oil released to the water column during the Deepwater Horizon oil spill // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012. V. 109. P. 20229–20234.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1101242108>
- Redmond M.C., Valentine D., Sessions A.L. Identification of novel methane-, ethane-, and propane-oxidizing bacteria at marine hydrocarbon seeps by stable isotope probing // *Appl. Environ. Microbiol.* 2010. V. 76. P. 6412–6422.
<https://doi.org/10.1128/AEM.00271-10>
- Redmond M.C., Valentine D.L. Natural gas and temperature structured a microbial community response to the Deepwater Horizon oil spill // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012. V. 109. P. 20292–20297.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1108756108>
- Sánchez O. Constructed wetlands revisited: microbial diversity in the -omics era // *Microb. Ecol.* 2017. V. 73. P. 722–733.
<https://doi.org/10.1007/s00248-016-0881-y>
- Sangal V., Goodfellow M., Jones A.L., Seviour, R.J., Sutcliffe I.C. Refined systematics of the genus *Rhodococcus* based on whole genome analyses // *Biology of Rhodococcus* / Ed. Alvarez H.M. Springer International Publishing, Cham, 2019. P. 1–21.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-11461-9_1
- Saunois M., Stavert A.R., Poulter B., Bousquet P., Canadell J.G., Jackson R.B. et al. The global methane budget 2000–2017 // *Earth Syst. Sci. Data.* 2020. V. 12. P. 1561–1623.
<https://doi.org/10.5194/essd-12-1561-2020>
- Sayavedra-Soto L.A., Hamamura N., Liu C.-W., Kimbrel J.A., Chang J.H., Arp D.J. The membrane-associated monooxygenase in the butane-oxidizing Gram-positive bacterium *Nocardoides* sp. strain CF8 is a novel member of the AMO/PMO family // *Environ. Microbiol. Rep.* 2011. V. 3. P. 390–396.
<https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2010.00239.x>
- Seto M., Kimbara K., Shimura M., Hatta T., Fukuda M., Yano K. A novel transformation of polychlorinated biphenyls by *Rhodococcus* sp. strain RHA1 // *Appl. Environ. Microbiol.* 1995. V. 61. P. 3353–3358.
- Seto N., Iizuka H. Microbiological studies on petroleum and natural gas. XI. A new hydrocarbon-utilizing actinomycete // *J. Gen. Microbiol.* 1970. V. 16. P. 127–135.
https://doi.org/10.2323/jgam.16.2_127
- Sharp J.O., Sales C.M., LeBlanc J.C., Liu J., Wood T.K., Eltis L.D., Mohn W.W., Alvarez-Cohen L. An inducible propane monooxygenase is responsible for *N*-nitrosodimethylamine degradation by *Rhodococcus* sp. strain RHA1 // *Appl. Environ. Microbiol.* 2007. V. 73. P. 6930–6938.
<https://doi.org/10.1128/AEM.01697-07>
- Sharp J.O., Sales C.M., Alvarez-Cohen L. Functional characterization of propane-enhanced

- N-nitrosodimethylamine degradation by two *Actinomycetales** // *Biotechnol. Bioeng.* 2010. V. 107. P. 924–932. <https://doi.org/10.1002/bit.22899>
- Sluis M.K., Sayavedra-Soto L.A., Arp D.J.* Molecular analysis of the soluble butane monooxygenase from “*Pseudomonas butanovora*” // *Microbiology (Reading)*. 2002. V. 148. P. 3617–3629. <https://doi.org/10.1099/00221287-148-11-3617>
- Smith D.* Culture collections // *Adv. Appl. Microbiol.* 2012. V. 79. P. 73–118. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394318-7.00004-8>
- Steffan R.J., McClay K., Vainberg S., Condee C.W., Zhang D.* Biodegradation of the gasoline oxygenates methyl *tert*-butyl ether, ethyl *tert*-butyl ether, and *tert*-amyl methyl ether by propane-oxidizing bacteria // *App. Environ. Microbiol.* 1997. V. 63. P. 4216–4222. <https://doi.org/10.1128/aem.63.11.4216-4222.1997>
- Stephens G.M., Dalton H.* The role of the terminal and subterminal oxidation pathways in propane metabolism by bacteria // *J. Gen. Microbiol.* 1986. V. 132. P. 2453–2462. <https://doi.org/10.1099/00221287-132-9-2453>
- Takahashi J., Ichikawa Y., Sagae H., Komuro I., Kanou H., Yamada K.* Isolation and identification of *n*-butane-assimilating bacterium // *Agric. Biol. Chem.* 1980. V. 44. P. 1835–1840. <https://doi.org/10.1080/00021369.1980.10864232>
- Táncsics A., Benedek T., Szoboszlay S., Péter V.G., Milán F., István M., Márialigeti K., Kukolya J., Szabolcs L., Balázs K.* The detection and phylogenetic analysis of the alkane 1-monooxygenase gene of members of the genus *Rhodococcus* // *Syst. Appl. Microbiol.* 2015. V. 38. P. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2014.10.010>
- Tausz J., Donath P.* Über die oxidation der wasserstoffe und kohlerwasserstoffs mittels bakterien // *Z. Physiol. Chem.* 1930. No. 90. P. 141–168. <https://doi.org/10.1515/bchm2.1930.190.3-6.141>
- Taylor S.W., Lollar S.B., Wassenaar L.I.* Bacteriogenic ethane in near-surface aquifers: implications for leaking hydrocarbon well bores // *Environ. Sci. Technol.* 2000. V. 34. P. 4727–4732. <https://doi.org/10.1021/es001066x>
- Tucker J., Hitzman D.* Detailed microbial surveys help improve reservoir characterization // *Oil Gas J.* 1994. V. 6. P. 65–69.
- Tupa P.R., Masuda H.* Comparative proteomic analysis of propane metabolism in *Mycobacterium* sp. strain ENV421 and *Rhodococcus* sp. strain ENV425 // *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2018a. V. 28. P. 107–115. <https://doi.org/10.1159/000490494>
- Tupa P.R., Masuda H.* Draft genome sequence of a propanotroph, *Rhodococcus* sp. strain ENV425, capable of degrading methyl *tert*-butyl ether and *N*-nitrosodimethylamine // *Gen. Announc.* 2018b. V. 6. Art. e00051-18. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00051-18>
- Tupa P.R., Masuda H.* Genomic analysis of propane metabolism in methyl *tert*-butyl ether-degrading *Mycobacterium* sp. strain ENV421 // *J. Genomics*. 2018c. V. 6. P. 24–28. <https://doi.org/10.7150/jgen.24929>
- Van Beilen J.B., Smits T.H., Roos F.F., Brunner T., Balada S.B., Röthlisberger M., Witholt B.* Identification of an amino acid position that determines the substrate range of integral membrane alkane hydroxylases // *J. Bacteriol.* 2005. V. 187. P. 85–91. <https://doi.org/10.1128/JB.187.1.85-91.2005>
- Van Beilen J.B., Funhoff E.G.* Alkane hydroxylases involved in microbial alkane degradation // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2007. V. 76. P. 13–21. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0748-0>
- Van Ginkel C.G., Welten H.G.J., Hartmans S., de Bont J.A.M.* Metabolism of *trans*-2-butene and butane in *Nocardia* TB1 // *J. Gen. Microbiol.* 1987a. V. 133. P. 1713–1720. <https://doi.org/10.1099/00221287-133-7-1713>
- Van Ginkel C.G., Welten H.G.J., de Bont J.A.M.* Oxidation of gaseous and volatile hydrocarbons by selected alkene utilizing bacteria // *Appl. Environ. Microbiol.* 1987b. V. 53. P. 2903–2907. <https://doi.org/10.1128/aem.53.12.2903-2907.1987>
- Valentine D.L., Kessler J.D., Redmond M.C., Mendes S.D., Heintz M.B., Farwell C., Hu L., Kinnaman F.S., Yvon-Lewis S., Du M., Chan E.W., Tigreros F.G., Villanueva C.J.* Propane respiration jump-starts microbial response to a deep oil spill // *Science*. 2010. V. 330. P. 208–211. <https://doi.org/10.1126/science.1196830>
- Verce M.F., Freeman D.L.* Modelling the kinetics of vinyl chloride cometabolism by an ethane-grown *Pseudomonas* sp. // *Biotechnol. Bioeng.* 2000. V. 71. P. 274–285. [https://doi.org/10.1002/1097-0290\(2000\)71:4<274::aid-bit1017>3.0.co;2-z](https://doi.org/10.1002/1097-0290(2000)71:4<274::aid-bit1017>3.0.co;2-z)
- Vestal J.R., Perry J.J.* Divergent metabolic pathways for propane and propionate utilization by a soil isolate // *J. Bacteriol.* 1969. V. 99. P. 216–221. <https://doi.org/10.1128/jb.99.1.216-221.1969>
- Vestal J.R., Perry J.J.* Effect of substrate on the lipids of the hydrocarbon utilizing *Mycobacterium vaccae* // *Can. J. Microbiol.* 1971. V. 17. P. 445–440. <https://doi.org/10.1139/m71-075>
- Vogt C., Song Z., Richnow H.-H., Musat F.* Carbon and hydrogen stable isotope fractionation due to monooxygenation of short-chain alkanes by butane monooxygenase of *Thauera butanivorans* Bu-B1211 // *Front. Microbiol.* 2023. V. 14. Art. 1250308. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1250308>
- Volesky B., Zajic J.E.* Ethane and natural gas oxidation by fungi // *Dev. Ind. Microbiol.* 1970. V. 11. P. 84–195.
- Wagner M., Wagner M., Piske J., Smit R.* Case histories of microbial prospection for oil and gas, onshore and offshore in northwest Europe // *Surface exploration case histories: applications of geochemistry, magnetics, and remote sensing* / Eds. Schumacher D.,

- LeSchack L.A. AAPG Studies in Geology no. 48 and SEG Geophysical References Series. 2002. No. 11. P. 453–479.
<https://doi.org/10.1306/St48794C19>
- Woods N.R. The bacterial metabolism of propane. PhD thesis. University of Warwick. 1988.
- Woods N.R., Murrell J.C. The metabolism of propane in *Rhodococcus rhodochrous* PNKb1 // Microbiology (Reading). 1989. V. 135. P. 2335–2344.
<https://doi.org/10.1099/00221287-135-8-2335>
- Wu M., Lai C.-Y., Wang Y., Yuan Z., Guo J. Microbial nitrate reduction in propane- or butane-based membrane biofilm reactors under oxygen-limiting conditions // Water Res. 2023. V. 235. Art. 119887.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.119887>
- Wu X.-Y., Xu X.-M., Wu C.-F., Fu S.-Y., Deng M.-C., Feng L., Yuan J.-P., Wang J.-H. Responses of microbial communities to light-hydrocarbon microseepage and novel indicators for microbial prospecting of oil/gas in the Beihanzhuang Oilfield, northern Jiangsu, China // Geomicrobiol. J. 2014. V. 31. P. 697–707.
<https://doi.org/10.1080/01490451.2013.843619>
- Yagi O., Hashimoto A., Iwasaki K., Nakajima M. Aerobic degradation of 1,1,1-trichloroethane by *Mycobacterium* spp. isolated from soil // Appl. Environ. Microbiol. 1999. V. 65. P. 4693–4696.
<https://doi.org/10.1128/AEM.65.10.4693-4696.1999>
- Yuan Z.H., Zhang Y.Q., Zhao Q., Jiang H.F., Liu Y.Y., Luo Z.H., Li X., Wang S.T., Li B., Pan G.H., Gao X.Y., Zhang G.L. New progress of microbial prospecting of oil and gas in China: taking the satellite oil-field in Daqing as an example // Sci. China Earth Sci. 2009. V. 52. P. 152–158.
<https://doi.org/10.1007/s11430-009-5016-6>
- Zhang C.-Y., He Z.H., Zhang S., Yin M.-Y., Ning Z., Liu Y.-C. A DNA-based analysis of a microbial technique for the prospecting of oil and gas applied to known oil field, China // Geomicrobiol. J. 2016. V. 34. P. 63–70.
<https://doi.org/10.1080/01490451.2016.1139641>
- Zhang F., She Y., Zheng Y., Zhou Z.F., Kong S.Q., Hou D.J. Molecular biologic techniques applied to the microbial prospecting of oil and gas in the Ban 876 gas and oil field in China // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2010. V. 86. P. 1183–1194.
<https://doi.org/10.1007/s00253-009-2426-5>
- Zhang Y., Tang X.-J., Shen B., Yu X.-J., Wang E.-T., Yuan H.-L. Identification and characterization of the butane-utilizing bacterium, *Arthrobacter* sp. PG-3-2, harboring a novel *bmoX* gene // Geomicrobiol. J. 2013. V. 30. P. 85–92.
<https://doi.org/10.1080/01490451.2011.653086>
- Zhang Y., Deng C.-P., Shen B., Yang J.-S., Wang E.-T., Yuan H.L. Syntrophic interactions within a butane-oxidizing bacterial consortium isolated from Puguang gas field in China // Microb. Ecol. 2016. V. 72. P. 538–548.
<https://doi.org/10.1007/s00248-016-0799-4>
- Zhou Q.-Z., Xu X.-M., Xu H., Zheng G.-Z., Pi W.-L., Jiang Y.-L., Xu X.-P., Li Y., Wang J.-H. Surface microbial geochemistry of the Beihanzhuang Oilfield, northern Jiangsu, China // J. Petrol. Sci. Engineer. 2020. V. 191. Art. 107140.
<https://doi.org/10.1016/j.petrol.2020.107140>
- Zou B., Huang Y., Zhang P.-P., Ding X.-M., den Camp H.J.M.O., Quan Z.-X. Horizontal gene transfer of genes encoding copper-containing membrane-bound monooxygenase (CuMMO) and soluble di-iron monooxygenase (SDIMO) in ethane- and propane-oxidizing *Rhodococcus* bacteria // Appl. Environ. Microbiol. 2021. V. 87. Art. e00227-21.
<https://doi.org/10.1128/AEM.00227-21>

 REVIEWS

Actinomycetes *Rhodococcus ruber* – Key and Universal Bioxidizers of Gaseous Alkanes C₂–C₄

I. B. Ivshina^{1, 2, *}, M. S. Kuyukina^{1, 2}, A. V. Krivoruchko^{1, 2}, E. A. Tyumina^{1, 2}

¹Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, 614081, Russia

²Perm National Research State University, Perm, 614990, Russia

*e-mail: ivshina@iegm.ru

Abstract. In recent years, there has been an increasing interest of researchers in microorganisms capable of oxidizing higher gaseous homologues of methane (ethane, propane, *n*-butane). Among propane- and butane-oxidizing bacteria, representatives of *Rhodococcus ruber* attract special attention; they can easily adapt to extreme environmental conditions and have significant potential for biotechnology. The review emphasizes the importance of *R. ruber* as a bioindicator of oil and gas fields and a component of microbial

consortia for the degradation of hydrocarbons and other xenobiotics. Data on natural substrates and ecological niches of gas-oxidizing *Rhodococcus* are presented, their morphological and physiological features are described. Their role in biogeochemical cycles and the potential for industrial use are discussed. As a result of the analysis of functional genes and enzyme systems of gaseous hydrocarbon (C₂–C₄) catabolism, the key stages of propane oxidation in *Rhodococcus* were identified and the role of propanotrophy in the bioremediation potential of *R. ruber* was revealed. The need for further research to understand the mechanisms of adaptation of these microorganisms to anthropogenic impact was substantiated.

Keywords: *Rhodococcus ruber*, gaseous n-alkanes, propane and *n*-butane oxidation, soluble di-iron-containing monooxygenases