

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Обнаружение генных кластеров биодеструкции алканов и ароматических соединений в геноме *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D

Ю.А. Маркова¹, И.С. Петрушин^{1, 2}✉, Л.А. Беловежец³

¹ Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия

² Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

³ Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия

✉ ivan.kiel@gmail.com

Аннотация. Многие представители рода *Rhodococcus* известны как активные биодеструкторы компонентов нефти (в том числе алканов) и ароматических соединений. Пристальное внимание, которое стали уделять родококкам в последнее время, является следствием их высокого катаболического потенциала. Ранее нами выделен штамм *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D из ризосферы пырея, произраставшего на нефтезагрязненной почве. По результатам филогенетического анализа этот штамм может быть отнесен к виду *Rhodococcus qingshengii*. На сегодняшний день расшифрованы пути и идентифицированы гены деструкции многих загрязнителей. Для оценки способности рассматриваемого штамма к деградации нефти и нефтепродуктов мы исследовали генные кластеры, ассоциированные с такой способностью. Ферменты деструкции алканов представлены двумя кластерами и пятью отдельно расположенными генами *alkB*. Деструкция ароматических соединений состоит из двух этапов: периферического и центрального. Геном *R. qingshengii* VKM Ac-2784D содержит четыре из восьми известных центральных путей деструкции ароматических соединений. Структура генных кластеров сходна с описанными в литературе штаммами *R. jostii* RHA1 и *R. ruber* Chol-4. Периферические пути представлены кластерами генов, кодирующих белки деструкции бензойной кислоты, ген бифенил 2,3-диоксигеназы и два гена бифенил-2,3-диол 1,2-диоксигеназы, участвующих в катаболизме бифенила. Присутствие генов бифенил 2,3-диоксигеназы, кластера генов бензоатного и 2-гидроксипентадиеноатного путей указывает на способность исследуемого штамма деструктировать полихлорированные бифенилы. Усилить активность биодеструкции загрязнителей помогают сурфактанты, улучшающие доступность разлагаемых веществ. Для некоторых видов *Rhodococcus* описаны биосурфактанты на основе трегалозы. В геноме *R. qingshengii* VKM Ac-2784D присутствуют гены, кодирующие белки биосинтеза сурфактантов – *otsA*, *otsB*, *treY*, *treZ*. Данные биоинформационного анализа согласуются с результатами ранее проведенных биохимических исследований. Знание метаболического потенциала отдельного организма, полученное в результате анализа генома, позволит создавать адаптированные к заданным условиям смеси бактериальных штаммов, объединяющие микроорганизмы с разным спектром метаболических путей деструкции.

Ключевые слова: биодеструкция; *Rhodococcus*; нефтедеструкция; геномика.

Для цитирования: Маркова Ю.А., Петрушин И.С., Беловежец Л.А. Обнаружение генных кластеров биодеструкции алканов и ароматических соединений в геноме *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(3):276-282. DOI 10.18699/VJGB-23-33

Detection of gene clusters for biodegradation of alkanes and aromatic compounds in the *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D genome

Yu.A. Markova¹, I.S. Petrushin^{1, 2}✉, L.A. Belovezhets³

¹ Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia

² Irkutsk State University, Irkutsk, Russia

³ A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia

✉ ivan.kiel@gmail.com

Abstract. Bacterial species of the genus *Rhodococcus* are known to be efficient degraders of hydrocarbons in contaminated soil. They are also employed for bioremediation of polluted environments. These bacteria are widely met in soil, water and living organisms. Previously, we have isolated the *Rhodococcus qingshengii* strain VKM Ac-2784D from the rhizosphere of couch grass growing on oil-contaminated soil. This strain can effectively degrade oil and some model compounds (naphthalene, anthracene and phenanthrene). The results of phylogenetic analysis show that this strain belongs to the species *R. qingshengii*. To understand the catabolic properties of this strain, we have studied its gene

clusters possessing such properties. The alkane destruction genes are represented by two clusters and five separate *alkB* genes. The destruction of aromatic compounds involves two stages, namely central and peripheral. The *R. qingshengii* VKM Ac-2784D genome contains four out of eight known central metabolic pathways for the destruction of aromatic compounds. The structure of the gene clusters is similar to that of the known strains *R. jostii* RHA1 and *R. ruber* Chol-4. The peripheral pathways include the genes encoding proteins for benzoic acid destruction. The presence of biphenyl 2,3-dioxygenases as well as gene clusters of benzoate and 2-hydroxypentadienoate pathways suggests that *R. qingshengii* VKM Ac-2784D could degrade polychlorinated biphenyls. The biodegradation ability can be enhanced by biosurfactants, which are known to be synthesized by *Rhodococcus*. The *R. qingshengii* VKM Ac-2784D genome contains the *otsA*, *otsB*, *treY*, *treZ* genes. The bioinformatics data are supported by the previous biochemical experiments that allow a mixture of species with a wide variation of metabolic pathways to be obtained.

Key words: biodegradation; *Rhodococcus*; oil destruction; genomics.

For citation: Markova Yu.A., Petrushin I.S., Belovezhets L.A. Detection of gene clusters for biodegradation of alkanes and aromatic compounds in the *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D genome. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektzii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(3):276-282. DOI 10.18699/VJGB-23-33

Введение

Rhodococcus – род грамположительных бактерий класса *Actinobacteria*, повсеместно распространенных в окружающей среде. Представители этого рода выделены из почвы, пресноводных и морских водоемов, а также из живых организмов. Некоторые виды являются патогенами, в том числе *R. hoagii* (ранее *R. equi*), вызывающий зоонозные инфекции, и фитопатоген *R. fascians* (Garrido-Sanz et al., 2020).

Пристальное внимание, которое уделяют родококкам в последнее время, стало следствием их высокого каталитического потенциала. Представители рода способны к биодеструкции стойких органических загрязнителей: полиароматических углеводородов, диоксинов и диоксиноподобных соединений и др., что обуславливает их применение в составе биопрепаратов для ремедиации почв (Martínková et al., 2009).

Использование родококков в составе биопрепаратов требует понимания того, какие поллютанты способен разрушать данный микроорганизм. Наиболее полный ответ на этот вопрос может дать совместное применение биоинформационных и биохимических методов. На сегодняшний день расшифрованы пути и идентифицированы гены деструкции многих загрязнителей.

Для родококков характерно множество генных кластеров, кодирующих ферменты, разлагающие углеводороды нефти (Zampolli et al., 2019). В процессе деградации алканов участвуют гены алкан-монооксигеназа *alkB*, растворимые монооксигеназы (soluble di-iron monoxygenase, SDIMO) и цитохром CYP153, входящий в группу цитохромов P450. Ферменты *AlkB* и CYP153 обычно участвуют в окислении жидких алканов, SDIMO действует на короткоцепочечные алканы, включая газообразные (<C8) (Coleman et al., 2011).

Деструкция ароматических соединений состоит из двух этапов: периферического и центрального. Периферические пути разнообразны (описано больше двух десятков). Благодаря им родококки способны окислять полиароматические углеводороды (ПАУ), бифенилы, стероиды или фталаты до общих интермедиатов, которые окисляются центральными путями деструкции. У родококков описано восемь центральных путей деструкции: β-кетoadипатный, фенилацетатный, 2-гидроксипентадиеноатный, гентизатный, гомогентизатный, гидроксихинольный, гомопротокатеховый пути и еще один с неизвестным суб-

стратом (Guevara et al., 2019). Гены, которые кодируют белки, участвующие в периферических путях деструкции, локализованы, как правило, на плаزمиде, а гены, участвующие в центральных путях, располагаются в хромосоме.

Вспомогательную роль при деградации гидрофобных соединений выполняют биосурфактанты. Это поверхностно-активные вещества, улучшающие биодоступность разлагаемых веществ. Родококки синтезируют биосурфактанты на основе трегалозы и миколовых кислот (трегалолипиды) (Kuyukina, Ivshina, 2010).

Цель работы состояла в поиске генов, кодирующих вышеуказанные метаболические пути в геноме *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D, для выяснения его способности к деградации нефти и нефтепродуктов.

Материалы и методы

Штамм *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D выделен нами из ризосферы пырея (*Elytrigia repens*), произрастающего на нефтезагрязненной территории в районе пос. Тыреть Иркутской области (Belovezhets et al., 2017). Установлено, что он может окислять как алканы, так и полициклические ароматические углеводороды (Belovezhets et al., 2017).

В целях изучения геномных признаков и потенциала к биодegradации, полный геном был секвенирован и опубликован в NCBI GenBank с идентификатором доступа CP064920 (Petrushin et al., 2021). Аннотированный геном *R. qingshengii* VKM Ac-2784D содержит 5775 генов, в том числе 5716 белок кодирующих-последовательностей, 3 рРНК, 53 тРНК и 3 некодирующих РНК.

Для определения видовой принадлежности последовательность субъединицы 16S рРНК была собрана из исходных данных секвенирования с помощью программы МАТАМ (Pericard et al., 2018). Идентификаторы последовательностей 16S рРНК видов *Rhodococcus* взяты из литературных данных по систематике этого рода (Gürtler, Seviour, 2010; Sangal et al., 2019). Филогенетическое дерево построено методом максимального правдоподобия с моделью Tamura-Nei и с параметрами по умолчанию в программе MEGA X (Kumar et al., 2018). Для родственных видов с выраженной активностью нефтедеструкции построены матрица средненуклеотидных расстояний и филогенетическое дерево на основе полногеномных данных с помощью программы *ruani* v. 0.2.11, режим ANIm

(<https://github.com/widowquinn/pyani>) с параметрами по умолчанию. При расчете этих расстояний использовали алгоритм MUMmer (Deloger et al., 2009) и полные геномы исследуемых штаммов, разделяемые алгоритмом на фрагменты, как описано в оригинальной работе (Richter, Rosselló-Móra, 2009).

Поиск исследуемых генов метаболизма проводили с помощью BLAST-поиска по известным последовательностям генов деградации алканов, бифенилов и др. Подготовку иллюстраций и работу с аннотированным геномом *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D осуществляли в программе UGENE (Okonechnikov et al., 2012). Анализ генов метаболических путей выполнен в онлайн-сервисе RAST SEED (Overbeek et al., 2014).

Результаты

Филогенетическое положение исследуемого штамма

Для определения видовой принадлежности штамма *R. qingshengii* VKM Ac-2784D мы использовали традиционный способ построения филогенетического дерева по последовательностям фрагмента 16S рРНК. Вместе с названиями видов на рис. 1 приведены идентификаторы последовательностей в NCBI GenBank. Для лучшего восприятия дерева (для всех описанных видов оно получается очень громоздким) внимание уделялось таксонам, наиболее близким к исследуемому штамму. Два наиболее близ-

ких вида к *R. qingshengii* VKM Ac-2784D – это *R. qingshengii* и *R. erythropolis*, оба хорошо известны в качестве нефтедеструкторов (Táncsics et al., 2015).

Поиск родственных штаммов-нефтедеструкторов

Хотя описано более 50 видов *Rhodococcus*, для нашего исследования наибольший интерес представляли организмы, являющиеся нефтедеструкторами, для которых опубликован полный геном. В процессе работы с источниками для последующего анализа нами были отобраны 30 геномов *Rhodococcus*. На основе средненуклеотидного расстояния (average nucleotide identity) была построена тепловая карта и дерево для этих геномов (рис. 2). Такой способ учитывает всю геномную информацию, а не только отличия во фрагменте рРНК. Несмотря на то что для части анализируемых штаммов вид не определен, *Rhodococcus* sp. BH4, как и исследуемый *R. qingshengii* VKM Ac-2784D, может быть отнесен к виду *R. qingshengii*. Заметно также, что группа *R. erythropolis* и *R. rhodochrous* ATCC 17895 достаточно далека от группы *R. qingshengii*. Интересно, что один из первых описанных штаммов-нефтедеструкторов *R. jostii* RHA1 очень близок к неидентифицированному *Rhodococcus* sp. DK17.

Кластеры деструкции алканов

В геномах описанных штаммов *Rhodococcus* ген *alkB* обычно расположен в кластере с генами, кодирующими

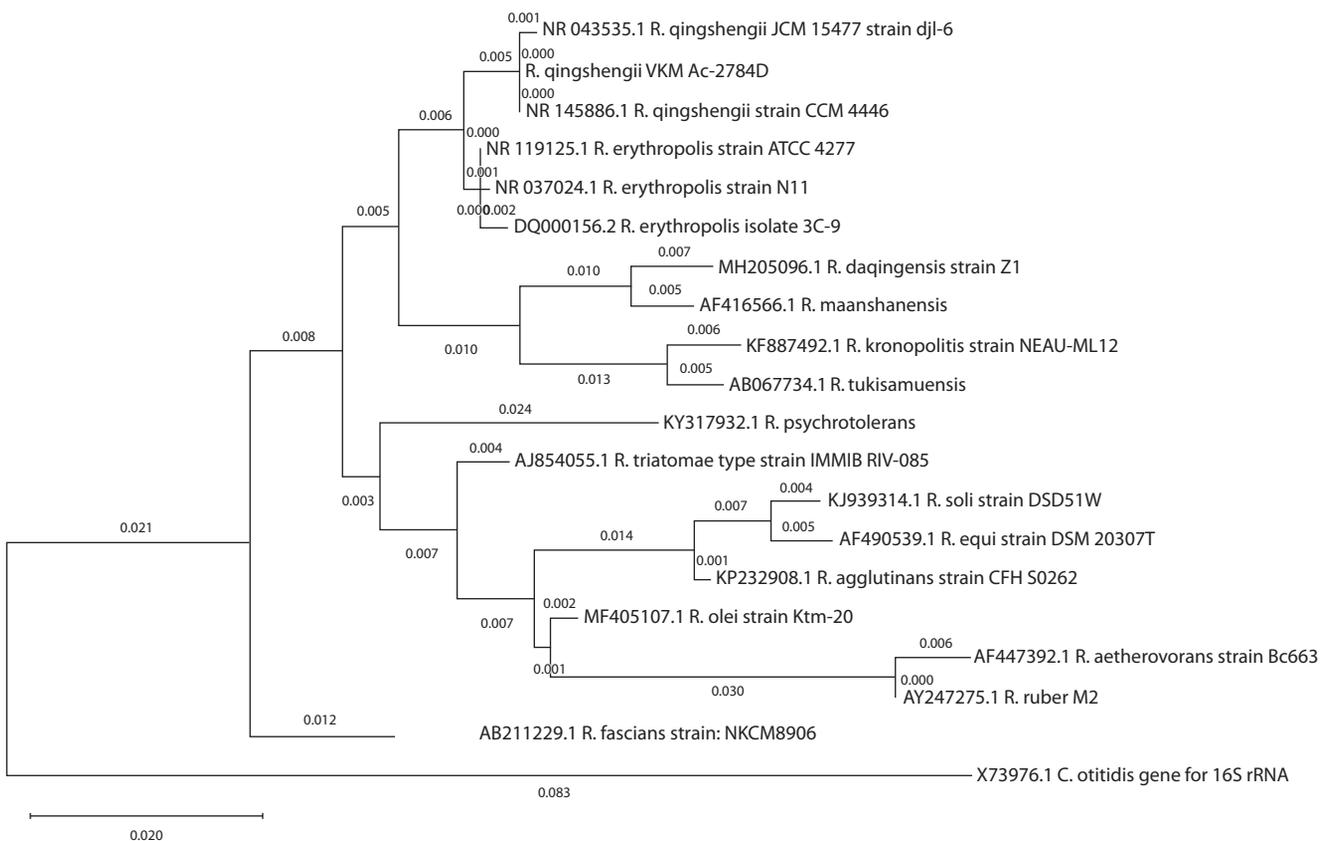


Рис. 1. Филогенетическое дерево для *R. qingshengii* VKM Ac-2784D и родственных видов.

При построении использованы последовательности фрагментов 16S рРНК. Идентификаторы доступа для NCBI GenBank указаны слева от наименований штаммов.

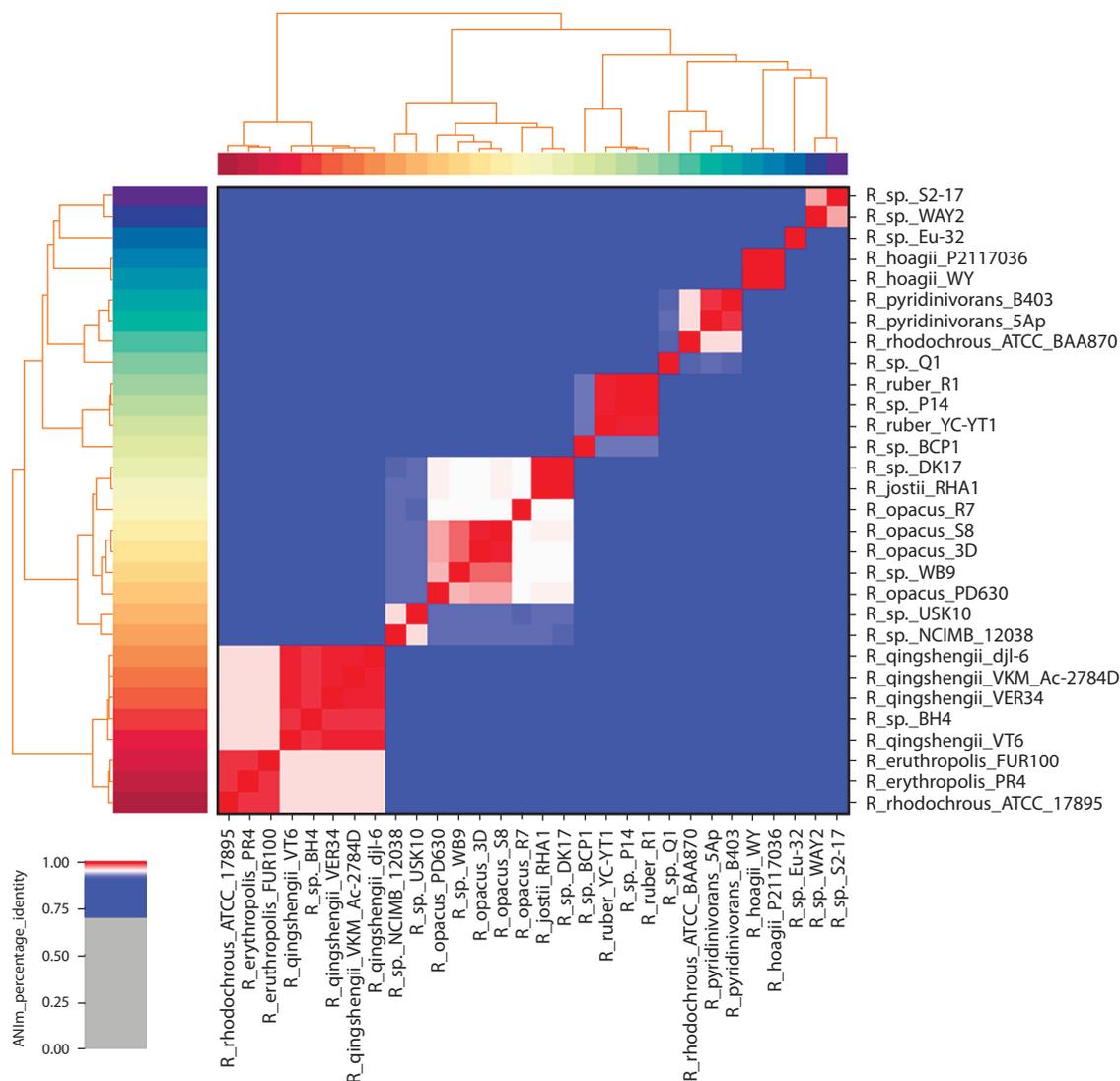


Рис. 2. Тепловая карта и филогенетическое дерево для *R. qingshengii* VKM Ac-2784D и других представителей с выраженной активностью к деструкции компонентов нефти.

Шкала ANIm_percentage_identity показывает степень сходства соответствующей пары геномов (от 0 до 1).

рубредоксин (*alkG1*, *alkG2* или *rubA1*, *rubA2*) или рубредоксин редуктазу (*alkT* или *rubB*) (Whyte et al., 2002). В геноме *R. qingshengii* VKM Ac-2784D имеются два кластера, содержащих гены алкан-монооксигеназы и рубредоксинов (рис. 3). Обнаружены также пять отдельно расположенных генов *alkB* – три в хромосоме и два в плазмиде. Также в геноме аннотированы 14 генов цитохрома P450 (11 в хромосоме и 3 в плазмиде). Гены, кодирующие SDIMO, не найдены.

Центральные пути деструкции ароматических соединений

У *R. qingshengii* VKM Ac-2784D выявлены четыре центральных пути деструкции: β-кетoadипатный, фенилацетатный, 2-гидроксипентаденоатный и гомогентизатный. Структура генных кластеров (рис. 4) сходна с описанными в литературе штаммами *R. jostii* RHA1 и *R. ruber* Chol-4 (Navarro-Llorens et al., 2005; Yam et al., 2010; Gibu et al., 2019; Guevara et al., 2019).

Периферические пути деструкции ароматических соединений

Расщепление ароматического кольца обычно осуществляется диоксигеназными системами Риска 2Fe-2S, которые участвуют в деградации бифенила, полихлорированного бифенила, этилбензола и нафталина (кластеры, включающие гены *bph*, *etb* и *nah*). Они обладают широким диапазоном субстратной специфичности и могут присутствовать в геноме родококков одновременно (Shumkova et al., 2015). В геноме *R. qingshengii* VKM Ac-2784D обнаружено 88 предполагаемых оксигеназ: 25 диоксигеназ и 63 монооксигеназы.

Из периферических путей в хромосоме *R. qingshengii* VKM Ac-2784D присутствуют кластер генов, кодирующих белки деструкции бензойной кислоты, ген бифенил 2,3-диоксигеназы и два гена бифенил-2,3-диол 1,2-диоксигеназы, участвующие в катаболизме бифенила. Структура генного кластера (*bphABCDK*) представлена на рис. 5. Найдены также гены диоксигеназ, осуществляющих ин-

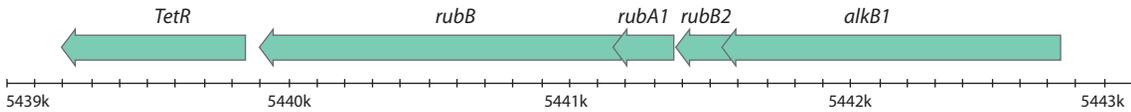


Рис. 3. Организация генного кластера в хромосоме *R. qingshengii* VKM Ac-2784D, кодирующего монооксигеназы, рубредоксин и рубредоксинредуктазу.

Здесь и на рис. 4 и 5 стрелки указывают направление транскрипции.

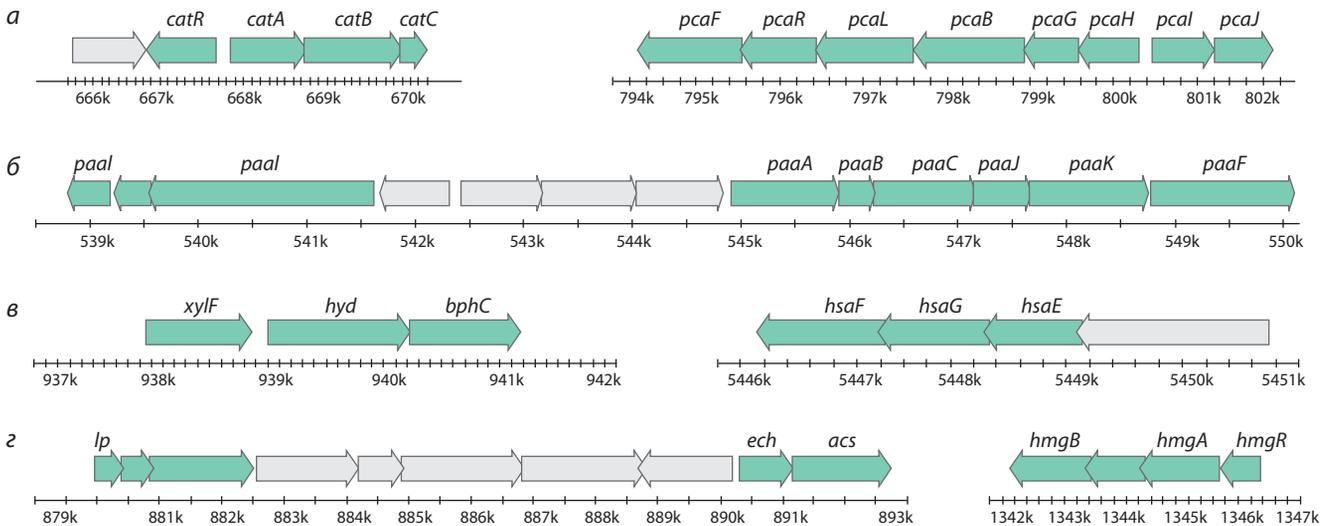


Рис. 4. Организация кластеров центральных путей деструкции ПАУ: β -кетoadипатного (а), фенилацетатного (б), 2-гидроксипентадиеноатного (в) и гомогентизатного (д) путей, найденных в геноме *R. qingshengii* VKM Ac-2784D.

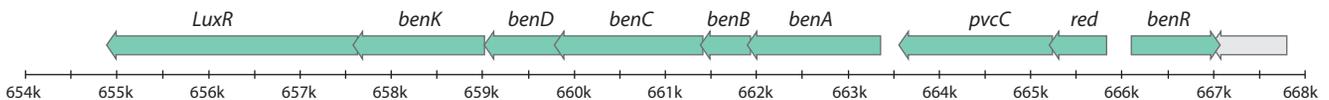


Рис. 5. Организация кластеров генов, кодирующих периферические пути деструкции ПАУ: деструкция бензойной кислоты.

традиционное и экстрадиальное расщепление ароматического кольца. Кластер генов *tmo*, участвующий в превращении толуола в *n*-крезол, у *R. qingshengii* VKM Ac-2784D отсутствует.

Синтез биосурфактантов

Для некоторых видов *Rhodococcus* описаны генные кластеры, связанные с синтезом биосурфактантов на основе трегалозы. Первые работы, в которых рассмотрены возможные пути синтеза, касаются патогенных бактерий *Mycobacterium tuberculosis* (De Smet et al., 2000). Аналогичные пути подтверждены и для родококков (Retamal-Morales et al., 2018). В геноме *R. qingshengii* VKM Ac-2784D присутствуют гены *otsA*, *otsB*, *treY*, *treZ*, кодирующие белки биосинтеза сурфактантов.

Обсуждение

Способность исследуемого штамма *R. qingshengii* VKM Ac-2784D утилизировать компоненты нефти, ПАУ и другие поллютанты подтверждена нами в ряде экспериментальных работ (Tretyakova et al., 2019a, b; Belovezhets et al., 2020).

Ранее нами было показано, что *R. qingshengii* VKM Ac-2784D преимущественно метаболизирует алкановую фракцию нефти, отдавая предпочтение алканам с длиной цепи C_{14} – C_{24} (Belovezhets et al., 2021a). В то же время мы отмечаем достаточно высокую активность в отношении ароматических соединений, что подтверждается и разложением модельных соединений нефти (Belovezhets et al., 2021b). Одним из возможных механизмов подобной метаболической активности может служить синтез биосурфактантов. Исследованный штамм является хорошим продуцентом биоПАВ как внеклеточных, так и клеточно-связанных форм. Максимальный синтез внеклеточных биосурфактантов, выявленный нами без оптимизации питательной среды, составил почти 1.5 г/л (Belovezhets et al., 2021b).

Чтобы определить некоторые механизмы деградации алканов и ароматических соединений, мы провели секвенирование генома и анализ генных кластеров, связанных с соответствующими метаболическими путями.

В последние годы секвенирование бактериального генома стало рутинной задачей, доступной для любой

микробиологической лаборатории. Аннотация многих генов, связанных с нефтедеструкцией, выполняется автоматически при публикации генома в NCBI GenBank системой Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP). Это позволяет определить часть генных кластеров уже на этапе первичного биоинформационного анализа. Дальнейший поиск выполнялся нами по литературным данным (Navarro-Llorens et al., 2005; Yam et al., 2010; Guevara et al., 2019). Мы обнаружили, что в геноме *R. qingshengii* VKM Ac-2784D содержится четыре из восьми известных центральных путей деструкции ароматических соединений. Ферменты деструкции алканов представлены в виде двух кластеров, содержащих гены алканмоноксигеназы и рубредоксинов, пяти отдельно расположенных генов *alkB* (трех в хромосоме и двух в плазмиде). Присутствие генов бифенил 2,3-диоксигеназы, кластера генов бензоатного и 2-гидроксипентадиеноатного путей свидетельствует о потенциальной способности *R. qingshengii* VKM Ac-2784D деструктировать полихлорированные бифенилы.

Детальные сведения о рассмотренных генах и присутствии их в геномах исследуемых штаммов приведены в Приложении¹. Для штамма *R. qingshengii* VKM Ac-2784D указаны локусы, соответствующие функциональным генам, ссылки на экспериментальные работы, а также степень сходства белковых последовательностей. Если рассматривать сходство генных кластеров в целом, то к исследуемому штамму наиболее близки 7 из 29 рассматриваемых родственных штаммов. В электронном Приложении их наименования отмечены серым цветом: *R. ruber* YC-YT1, *R. qingshengii* VER34, *R. qingshengii* VT6, *R. qingshengii* dj1-6-2, *Rhodococcus* sp. PR4, *Rhodococcus* sp. BH4, *R. rhodochrous* ATCC 17895.

Данные биоинформационного анализа согласуются с результатами биохимических исследований. Нами получена комплексная характеристика штамма родококка, позволяющая целенаправленно использовать этот микроорганизм для деструкции тех или иных загрязнителей.

Заключение

К настоящему времени расшифрованы пути и идентифицированы гены деструкции многих загрязнителей. Знание метаболического потенциала отдельного организма, полученное в результате анализа генома, позволит создавать адаптированные к заданным условиям смеси бактериальных штаммов, объединяющие микроорганизмы с разным спектром метаболических путей деструкции. Для оценки способности рассматриваемого штамма к деградации нефти и нефтепродуктов мы исследовали генные кластеры, ассоциированные с такой способностью. Структура генных кластеров сходна с описанными в литературе штаммами *R. jostii* RHA1 и *R. ruber* Chol-4. Ферменты деструкции алканов представлены двумя кластерами и пятью отдельно расположенными генами *alkB*. Усилить активность биодеструкции загрязнителей помогают сурфактанты, улучшающие доступность разлагаемых веществ. Несомненно, эффективность таких биопрепаратов надо оценивать в условиях эксперимента.

¹ Приложение см. по адресу:

<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2023-27/appx10.pdf>

Список литературы / References

- Belovezhets L.A., Makarova L.A., Tretyakova M.S., Markova Yu.A., Dudareva L.V., Semenova N.V. Possible pathways for destruction of polyaromatic hydrocarbons by some oil-degrading bacteria isolated from plant endosphere and rhizosphere. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2017;53(1):68-72. DOI 10.1134/S0003683817010069.
- Belovezhets L.A., Markova Yu.A., Tretyakova M.S., Klyba L.V., Sanzheeva E.R. Destruction of an oil paraffin fraction by microorganisms. *Chem. Technol. Fuels Oils.* 2021a;56(6):919-925. DOI 10.1007/s10553-021-01208-z.
- Belovezhets L.A., Tretyakova M.S., Markova Yu.A. Physicochemical properties of biosurfactants produced by oil destructor microorganisms. *Chem. Sustain. Dev.* 2021b;29(1):20-25. DOI 10.15372/csd2021273.
- Belovezhets L.A., Tretyakova M.S., Markova Yu.A., Levchuk A.A. Use of rhizosphere microorganisms for bioremediation of oil contaminated soils. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 2020;408:012086. DOI 10.1088/1755-1315/408/1/012086.
- Coleman N.V., Yau S., Wilson N.L., Nolan L.M., Migocki M.D., Ly M., Crossett B., Holmes A.J. Untangling the multiple monooxygenases of *Mycobacterium chubuense* strain NBB4, a versatile hydrocarbon degrader. *Environ. Microbiol. Rep.* 2011;3(3):297-307. DOI 10.1111/j.1758-2229.2010.00225.x.
- Deloger M., El Karoui M., Petit M.A. A genomic distance based on MUM indicates discontinuity between most bacterial species and genera. *J. Bacteriol.* 2009;191(1):91-99. DOI 10.1128/JB.01202-08.
- De Smet K.A.L., Weston A., Brown I.N., Young D.B., Robertson B.D. Three pathways for trehalose biosynthesis in mycobacteria. *Microbiology.* 2000;146(1):199-208. DOI 10.1099/00221287-146-1-199.
- Garrido-Sanz D., Redondo-Nieto M., Martin M., Rivilla R. Comparative genomics of the *Rhodococcus* genus shows wide distribution of biodegradation traits. *Microorganisms.* 2020;8(5):774. DOI 10.3390/microorganisms8050774.
- Gibu N., Kasai D., Ikawa T., Akiyama E., Fukuda M. Characterization and transcriptional regulation of *n*-alkane hydroxylase gene cluster of *Rhodococcus jostii* RHA1. *Microorganisms.* 2019;7(11):479. DOI 10.3390/microorganisms7110479.
- Guevara G., Lopez M.-C., Alonso S., Perera J., Navarro-Llorens M. New insights into the genome of *Rhodococcus ruber* strain Chol-4. *BMC Genomics.* 2019;20(1):332. DOI 10.1186/s12864-019-5677-2.
- Gürtler V., Seviour R.J. Systematics of members of the genus *Rhodococcus* (Zopf 1891) Emend Goodfellow et al. 1998. In: Alvarez H. (Ed.) *Biology of Rhodococcus*. Microbiology Monographs. Vol. 16. Berlin; Heidelberg: Springer, 2010;1-28. DOI 10.1007/978-3-642-12937-7_1.
- Kumar S., Stecher G., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018;35(6):1547-1549. DOI 10.1093/molbev/msy096.
- Kuyukina M.S., Ivshina I.B. Application of *Rhodococcus* in bioremediation of contaminated environments. In: Alvarez H. (Ed.) *Biology of Rhodococcus*. Microbiology Monographs. Vol. 16. Berlin; Heidelberg: Springer, 2010;231-262. DOI 10.1007/978-3-642-12937-7_9.
- Martínková L., Uhnakova B., Nesvera J., Kren V. Biodegradation potential of the genus *Rhodococcus*. *Environ. Int.* 2009;35(1):162-177. DOI 10.1016/j.envint.2008.07.018.
- Navarro-Llorens J.M., Patrauchan M.A., Stewart G.R., Davies J.E., Eltis L.D., Mohn W.W. Phenylacetate catabolism in *Rhodococcus* sp. strain RHA1: a central pathway for degradation of aromatic compounds. *J. Bacteriol.* 2005;187(13):4497-4504. DOI 10.1128/JB.187.13.4497-4504.2005.
- Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics.* 2012;28(8):1166-1167. DOI 10.1093/bioinformatics/bts091.
- Overbeek R., Olson R., Pusch G., Olsen G., Davis J., Disz T., Edwards R., Gerdes S., Parrello B., Shukla M., Vonstein V., Wattam A., Xia F., Stevens R. The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST). *Nucleic Acids Res.* 2014;42(D1):D206-D214. DOI 10.1093/nar/gkt1226.

- Pericard P., Dufresne Y., Couderc L., Blanquart S., Touzet H. MATAM: reconstruction of phylogenetic marker genes from short sequencing reads in metagenomes. *Bioinformatics*. 2018;34(4):585-591. DOI 10.1093/bioinformatics/btx644.
- Petrushin I.S., Markova Yu.A., Karepova M.D., Zaytseva Y.V., Belovezhets L.A. Complete genome sequence of *Rhodococcus qingshengii* strain VKM Ac-2784D, isolated from *Elytrigia repens* rhizosphere. *Microbiol. Resour. Announc.* 2021;10(11):e00107-21. DOI 10.1128/mra.00107-21.
- Retamal-Morales G., Heine T., Tischler J.S., Erler B., Groning J.A.D., Kaschaber S.R., Schlomann M., Levican G., Tischler D. Draft genome sequence of *Rhodococcus erythropolis* B7g, a biosurfactant producing actinobacterium. *J. Biotechnol.* 2018;280:38-41. DOI 10.1016/J.JBIOTEC.2018.06.001.
- Richter M., Rosselló-Móra R. Shifting the genomic gold standard for the prokaryotic species definition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2009; 106(45):19126-19131. DOI 10.1073/pnas.0906412106.
- Sangal V., Goodfellow M., Jones A.L., Seviour R.J., Sutcliffe I.C. Refined systematics of the genus *Rhodococcus* based on whole genome analyses. In: Alvarez H. (Ed.) *Biology of Rhodococcus*. Microbiology Monographs. Vol. 16. Cham: Springer, 2019;1-21. DOI 10.1007/978-3-030-11461-9_1.
- Shumkova E.S., Egorova D.O., Boronnikova S.V., Plotnikova E.G. Polymorphism of the *bphA* genes in bacteria destructing biphenyl/chlorinated biphenils. *Mol. Biol.* 2015;49(4):569-580. DOI 10.1134/S0026893315040159.
- Táncsics A., Benedek T., Szoboszlai S., Veres P.G., Farkas M., Mathe I., Marialigeti K., Kukolya J., Lanyi S., Kriszt B. The detection and phylogenetic analysis of the alkane 1-monooxygenase gene of members of the genus *Rhodococcus*. *Syst. Appl. Microbiol.* 2015;38(1):1-7. DOI 10.1016/j.syapm.2014.10.010.
- Tretyakova M.S., Ivanova M.V., Belovezhets L.A., Markova Yu.A. Possible use of oil-degrading microorganisms for protection of plants growing under conditions of oil pollution. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 2019a;315:072046. DOI 10.1088/1755-1315/315/7/072046.
- Tretyakova M.S., Markova Yu.A., Belovezhets L.A. Microbial preparation for bioremediation of soil contaminated with oil and oil products. 2019b. Available at: <https://patents.google.com/patent/RU2705290C1/en>.
- Whyte L.G., Smits T.H.M., Labbé D., Witholt B., Greer C.W., van Beilen J.B. Gene cloning and characterization of multiple alkane hydroxylase systems in *Rhodococcus* strains Q15 and NRRL B-16531. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002;68(12):5933-5942. DOI 10.1128/AEM.68.12.5933-5942.2002.
- Yam K.C., van der Geize R., Eltis L.D. Catabolism of aromatic compounds and steroids by *Rhodococcus*. In: Alvarez H. (Ed.) *Biology of Rhodococcus*. Microbiology Monographs. Vol. 16. Berlin; Heidelberg: Springer, 2010;133-169. DOI 10.1007/978-3-642-12937-7_6.
- Zampolli J., Zeaiter Z., Di Canito A., Di Gennaro P. Genome analysis and -omics approaches provide new insights into the biodegradation potential of *Rhodococcus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2019; 103:1069-1080. DOI 10.1007/s00253-018-9539-7.

ORCID ID

Yu.A. Markova orcid.org/0000-0001-7767-4204
I.S. Petrushin orcid.org/0000-0002-8788-5352
L.A. Belovezhets orcid.org/0000-0001-5922-3397

Благодарности. Работа выполнена в рамках базовой тематики госзадания FWSS-2022-0004, номер государственной регистрации 122041100050-6. Расчеты выполнены на оборудовании ЦКП «Биоинформатика» ИЦиГ СО РАН.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 16.05.2022. После доработки 05.09.2022. Принята к публикации 06.09.2022.