

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ БАКТЕРИЙ ЩЕЛОЧНЫХ ВЫСОКОМИНЕРАЛИЗОВАННЫХ СРЕД СОДОВОГО ШЛАМОХРАНИЛИЩА (БЕРЕЗНИКИ, ПЕРМСКИЙ КРАЙ) *

Ю.Г. Максимова, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН;
Пермский государственный национальный исследовательский университет*
А.Ю. Максимов, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН;
Пермский государственный национальный исследовательский университет*
А.В. Шилова, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН*

Для цитирования:

Максимова Ю.Г., Максимов А.Ю., Шилова А.В. Биотехнологический потенциал бактерий щелочных высокоминерализованных сред содового шламохранилища (Березники, Пермский край) // Вестник Пермского федерального исследовательского центра. – 2022. – № 4. – С. 16–25. <https://doi.org/10.7242/2658-705X/2022.4.2>

Щелочные высокоминерализованные среды являются источником микроорганизмов – продуцентов ферментов, востребованных в биотехнологии, пищевой промышленности, медицине, сельском хозяйстве. Внеклеточные гидролитические ферменты этих микроорганизмов устойчивы к высокому рН и минерализации. В рамках двух научных проектов изучено филогенетическое разнообразие бактериального сообщества щелочных высокоминерализованных сред антропогенного происхождения – содового шламохранилища АО «Березниковский содовый завод» (Березники, Пермский край). Источником выделения бактериальных культур явились среды действующего шламохранилища (содовый шлам, дистиллерная жидкость, поверхностные техногенные образования, ограничивающие территорию складирования шлама) и старой карты шламонакопителя, на которой происходит восстановление растительности. Выделены и идентифицированы алкалотолерантные и алкалофильные гидролитические бактерии, обладающие активностями амилазы, липазы, протеазы и целлюлазы. Изолированные бактериальные культуры при условии дальнейшей селекции представляют интерес для биотехнологии как продуценты ферментов, устойчивых к щелочным значениям рН и высокой минерализации среды.

Ключевые слова: алкалотолерантные бактерии, алкалофилы, галотолерантные бактерии, гидролитические ферменты, метагеномный анализ.

* Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства Пермского края в рамках научного проекта № С-26/507 и гранта РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90103.

Гидролитические ферменты широко используются в различных отраслях промышленности, медицине, сельском хозяйстве. Источниками таких ферментов являются живые организмы, главным образом микроорганизмы. Для успешного применения ферментов в народном хозяйстве необходимо их стабильное функционирование в различных условиях окружающей или реакционной среды, при изменении температуры, рН, в присутствии растворителей и солей. Поэтому особый интерес вызывают микроорганизмы-продуценты ферментов, изолированные из экстремальных сред обитания [12, 14, 17, 19].

В рамках выполнения исследовательских проектов на селективных средах, содержащих в качестве источника углерода крахмал, пептон, твин-80, целлюлозу, из различных образцов с территории содового шламохранилища АО «Березниковский содовый завод» (Березники, Пермский край) были выделены бактерии, обладающие активностями амилазы, протеазы, липазы и целлюлазы. Пробы для выделения бактериальных культур были

отобраны с территории действующей и старой карты шламохранилища (рис. 1). Физико-химические свойства образцов обобщены в табл. 1.

Проанализировано филогенетическое разнообразие бактериального сообщества различных сред содового шламохранилища [8]. Методом метагеномного секвенирования установлено, что бактериальное сообщество представлено 7 филумами: *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Actinobacteria* и *Candidatus Saccharibacteria*, из которых доминирующее положение занимают *Proteobacteria* и *Firmicutes* [6].

Известно, что структуру сообщества микроорганизмов определяют физико-химические условия среды. Изменение таких показателей, как рН и элементный состав, влияет на развитие микроорганизмов разных таксономических групп и, как следствие, на процессы образования и разложения органического вещества, осуществляемые сообществами этих микроорганизмов [1, 3]. Высокая щелочность, вызванная присутствием карбонатов, бикарбонатов и



Рис. 1. Новая (а) и старая (б, в) карты шламохранилища АО «Березниковский содовый завод»

Таблица 1

Физико-химические свойства образцов

Образцы	рН	Минерализация					
		Ca ²⁺	Na ⁺	Mg ²⁺	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	
1	11	98 233	474 072,1	851,9	188,2	979,9	59 550,2
2	7,5	14 095	115 683,5	1 224,3	455,6	733,0	7 874,9
3	8,5	17 212	280 376,6	2 629,41	5 136,5	1 459,8	9 228,7
4	8,5	3 834	378 171,2	2 880,56	6 153,7	2 172,6	54,8
5	8,5	17 212	320 613,7	2 776,13	7 096,0	1 459,8	9 228,7

Примечание: 1 – содовый шлам, 2 – техногенные поверхностные образования, ограничивающие действующее шламохранилище; грунт старой карты: 3 – поверхность, 4 – глубина 5 см, 5 – глубина 10 см. В таблице отражены концентрации подвижных форм металлов.

гидроксидов, а также высокая концентрация солей являются ключевыми факторами, формирующими структуру микробных сообществ в данном биотопе. В осадке, складываемом в действующем шламохранилище, присутствуют кальций и хлор в высоких концентрациях, что связано с особенностями производства кальцинированной соды. Это наиболее щелочная и бедная органическим веществом среда шламохранилища, однако даже в этой среде обитают микроорганизмы: бактериальное сообщество представлено филумами *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Actinobacteria* и *Candidatus Saccharibacteria* (рис. 2). Филогенетическое разнообразие исследуемых сред невелико, индекс Шеннона, характеризующий разнообразие и выравненность сообщества, варьируется в пределах 0,42–1,39 для филумов и 0,89–1,83 для родов. В отношении бактериальных родов наибольшее филогенетическое разнообразие обнаружено в содовом шламе и грунте старой карты содового шламохранилища, наименьшее – в техногенных поверхностных образованиях прибрежной зоны действующей карты содового шламохранилища и дистиллерной жидкости [5], где встречаются

только представители филумов *Firmicutes*, *Proteobacteria* и *Bacteroidetes*.

Исследуемый нами биотоп крайне беден органическим веществом, которое может попадать в виде небольшой примеси детергента, используемого в производственном процессе, а также переноситься ветром, смывами с берегов, продуцироваться автотрофными микроорганизмами и растениями. Отличия в элементном составе различных сред содового шламохранилища от естественных содовых озер находят отражение в различиях состава бактериального сообщества. Показано, что в исследуемом шламохранилище при сочетании высокой щелочности, концентрации солей и преобладании солей кальция, доминирующими филумами являются *Proteobacteria* и *Firmicutes*. Доля представителей других филумов в водной среде и техногенных поверхностных образованиях не превышала 5%, а в грунте старой карты шламохранилища и содовом шламе достигала 10 и 22% соответственно. Только в образце грунта старой карты с глубины 10 см, содержащем ризосферу растений и органические остатки, преобладали *Firmicutes* и *Acidobacteria*, а также содержалось большое количество протеобактерий и актинобактерий.

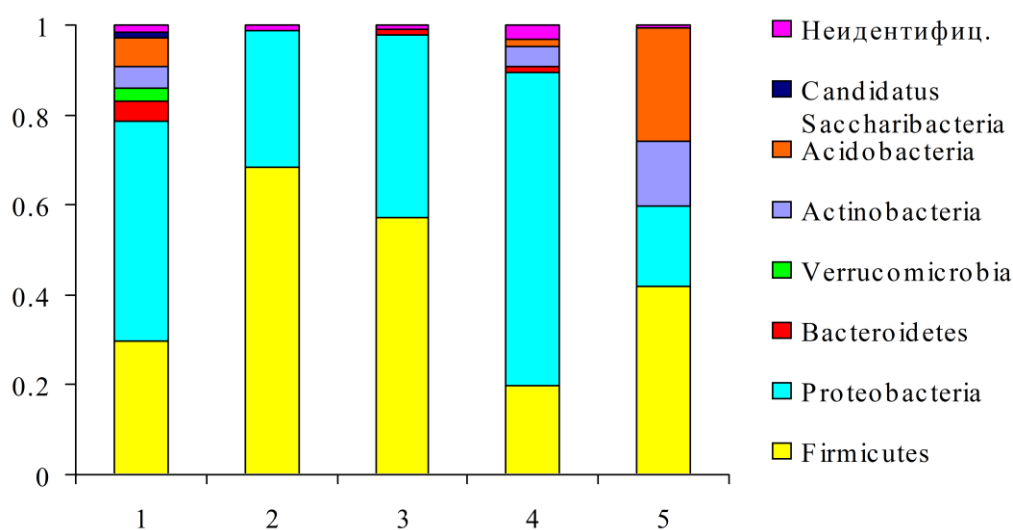


Рис. 2. Соотношение филумов бактериального сообщества в средах содового шламохранилища: 1 – содовый шлам, 2 – дистиллерная жидкость, 3 – техногенные поверхностные образования, ограничивающие действующее шламохранилище, 4 – грунт старой карты шламохранилища, 5 – грунт старой карты шламохранилища с глубины 10 см [6].

При восстановлении земель, занятых содовыми шламохранилищами (старая карта шламонакопителя), происходит ряд процессов, связанных с прекращением эксплуатации и испарением влаги. При этом увеличивается концентрация солей на поверхности, но, в то же время, снижается рН с экстремально высоких (11–12) до слабощелочных (8–8,5) значений. Появление растительного покрова на осушенных территориях коррелирует с изменением микробиома: на глубине 10 см снижается доля протеобактерий, но увеличивается доля ацидобактерий и актинобактерий, что может быть связано с приближением рН к нейтральным значениям, укоренением растений и появлением микроокружения, создаваемого ризосферой растений.

Показано, что на глубине 10 см изменяется и состав семейств домена *Bacteria*: значительно снижается доля семейства

Moraxellaceae и *Staphylococcaceae*, но появляются представители семейства *Streptococcaceae*, которое становится доминирующим, и *Cellulomonadaceae* (рис. 3). Известно, что бактерии семейства *Cellulomonadaceae* являются ассоциативными микроорганизмами растительных симбиозов, и их появление связано с восстановлением растительного покрова на этих территориях. В осадке содового шламохранилища, представляющем собой, главным образом, гидрокарбонаты кальция со значительной долей хлорид-ионов, доминируют семейства *Moraxellaceae* и *Staphylococcaceae* [6].

Образцы с территории старой карты содового шламохранилища характеризовались высоким содержанием микроорганизмов, обладающих амилолитической, целлюлозолитической, протеолитической и липолитической активностью (рис. 4). Та-

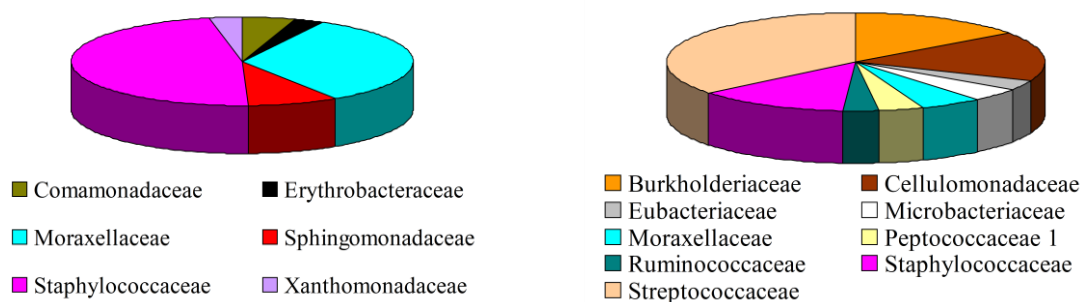


Рис. 3. Соотношение семейств бактериального сообщества в содовом шламе (а) и грунте старой карты шламохранилища с глубины 10 см (б) [6]

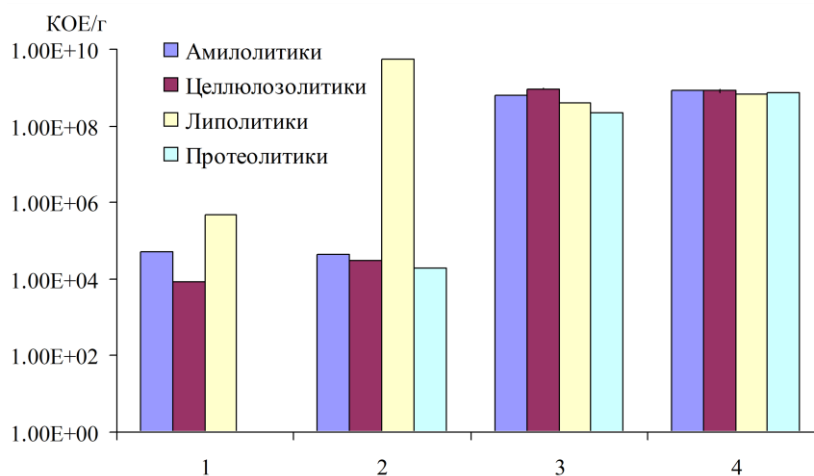


Рис. 4. Соотношение гидролитических микроорганизмов в содовом шламе (1), техногенных поверхностных образованиях, ограничивающих действующее шламохранилище (2), грунте старой карты шламохранилища с глубины 10 см (3), ризосфере растений, произрастающих в прибрежной зоне действующего шламохранилища (4) [6]

кая локализация бактерий-гидролитиков связана с расположением зоны наибольшего поступления метаболитов с экссудатом корней растений, а также с накоплением биогенных органических остатков. Наиболее равномерно микроорганизмы с изучаемыми гидролитическими активностями представлены в ризосфере растений прибрежной зоны действующего шламохранилища. На поверхности грунта старой карты 73% от исследованных составляли протеолитические микроорганизмы, а на глубине 10 см 43% приходилось на долю целлюлозолитиков.

Таким образом, количество протеолитиков было максимально на поверхности, а доля целлюлозолитиков возрастала с увеличением глубины, что, вероятно, связано с тем, что белки, как легкоусвояемые биополимеры, содержатся в большем количестве на поверхности, в свежих биогенных материалах. С увеличением глубины количество легко гидролизуемых биогенных веществ, в т.ч. белков, липидов, крахмала снижается, но количество целлюлозы, составляющей большую массу в составе растительных остатков, остаётся высоким. В содовом шламе подавляющее количество гидролитических бактерий было представлено липолитиками, как и в техногенных поверхностных образованиях прибрежной зоны действующего шламохранилища.

Для получения чистых бактериальных культур, обладающих гидролитическими активностями, использовали два подхода: выделение на среде с селективными субстратами в отсутствие экстремальных условий (рН 8) и на богатой среде с рН 11 без селективных субстратов. Такой подход, исключающий объединение нескольких лимитирующих факторов при выделении чистых культур, позволил расширить материал для скрининга ферментативных активностей [7]. Идентификацию выделенных бактериальных культур проводили молекулярно-генетическим методом. Ампликоны с использованием праймеров к гену 16S рНК получали методом ПЦР и секвенировали на приборе

Genetic Analyzer 3500xl («Applied Biosystems», США). Сравнение нуклеотидных последовательностей генов 16S рНК проводили с использованием онлайн-сервиса EzBioCloud (<https://www.ezbiocloud.net/>).

На умеренно-щелочных средах с селективными субстратами (крахмалом, пептоном, твин-80, целлюлозой) выделены алкалоотолерантные бактерии [8]. Среди бактериальных культур, изолированных из материала старого содового шламонакопителя, значительную часть составляли протеобактерии. Так, на средах с твин-80 и пептоном были выделены в основном представители класса *Alphaproteobacteria* – главным образом *Ensifer morelensis*, а также виды рода *Pseudoxanthomonas*, *Gammaproteobacteria*. Кроме того, были изолированы представители класса *Bacilli* (филум *Firmicutes*). На среде с крахмалом наблюдалось большее таксономическое разнообразие изолятов: были выделены культуры *Sphingopyxis panaciterrae* и *Ensifer morelensis*, относящиеся к классу *Alphaproteobacteria*, *Pseudomonas peli* (класс *Gammaproteobacteria*), *Microcella putealis* и *Arthrobacter ginsengisoli* (филум *Actinobacteria*, порядок *Micrococcales*), *Bacillus cereus* (филум *Firmicutes*, класс *Bacilli*) и *Pedobacter quisquiliarum* (филум *Bacteroidetes*, класс *Sphingobacteria*).

На среде с целлюлозой, являющейся наиболее сложно метаболизируемым субстратом из используемых, выделены культуры *Lysobacter prati* (класс *Gammaproteobacteria*), *Paenarthrobacter aureus* (филум *Actinobacteria*, порядок *Micrococcales*), *Metabacillus indicus* (филум *Firmicutes*, класс *Bacilli*).

Из образцов с территории действующего шламохранилища изолировали преимущественно культуры актинобактерий, порядок *Micrococcales* (представители родов *Actinotalea*, *Arthrobacter*, *Citricoccus*, *Microbacterium*, *Microcella*, *Micrococcus*, *Paenarthrobacter*), а также *Firmicutes*; класс *Bacilli* (виды рода *Bacillus*). Большую часть изолятов, выделенных на

среде с рН 11, составляли представители актинобактерий, в том числе были выделены виды рода *Oerskovia* (филум *Actinobacteria*; порядок *Micrococcales*), а также алкалофильные бациллы *B. aequororis*, *B. halmapalus*, *B. zhangzhouensis*, которые не выделялись на средах с более низким рН.

Нами был проведен скрининг гидролитических активностей у выделенных изолятов (табл. 2) [7].

Таким образом, изолированные нами бактериальные культуры обладали гидролитическими активностями (амилазной, липазной, целлюлазной) и являлись алкало- и галотолерантными, а представители актинобактерий и бацилл, выделенных на среде с рН 11, обладали свойствами алкалофилов. Эти качества выделенных штаммов могут служить основой их биотехнологического применения в качестве продуцентов гидролитических

Таблица 2.

Гидролитическая активность бактерий, выделенных из различных сред содового шламохранилища

Штамм	Е, Ед/л	Биомасса, мг/мл	Е, Ед/мг
Амилолитическая активность*			
<i>Actinotalea fermentans</i> 6-К	10,98	10,3	4,51
<i>Arthrobacter agilis</i> 10-К	16,11	5,8	2,36
<i>Arthrobacter ginsengisoli</i> 29-К	14,91	7,1	10,55
<i>Bacillus aquimaris</i> 25-К	10,37	7,1	4,91
<i>Bacillus aequororis</i> 5-ДБ	20,69	5,8	11,80
<i>Bacillus cereus</i> 24-К	10,58	10,8	2,21
<i>Bacillus toyonensis</i> 28-К	10,23	10,6	11,34
<i>Bacillus vietnamensis</i> 19-К	10,77	7,5	3,93
<i>Brevibacterium ptyocampae</i> 4-ДБ	22,06	5,5	8,67
<i>Ensifer morelensis</i> 26-К	30,32	7,6	11,81
<i>Microbacterium kitamiense</i> 16-ДБ	23,15	12,1	3,95
<i>Microcella putealis</i> 9-ДБ	19,52	20,1	2,69
<i>Oerskovia enterophila</i> 13-ДБ	18,92	8,4	7,23
<i>Oerskovia jenensis</i> 10-ДБ	20,05	6,7	11,11
<i>Oerskovia paurometabola</i> 3-ДБ	18,91	16,5	2,96
<i>Paenisporasarcina quisquiliarum</i> 4-К	14,83	3,7	20,03
<i>Pedobacter quisquiliarum</i> 9-К	17,38	5,2	12,19
<i>Paenarthrobacter nitroquajacolicus</i> 27-К	14,71	3,7	8,65
<i>Pseudomonas peli</i> 13-К	10,05	4,5	9,96
<i>Sphingopyxis panaciterrae</i> 8-К	16,10	6,1	4,40
Липолитическая активность*			
<i>Bacillus aquimaris</i> 8-Т	-	н/о	0,12
<i>Bacillus aequororis</i> 5-ДБ	0,95	4,6	1,85
<i>Bosea lathyri</i> 5-Т	-	н/о	0,18
<i>Brevibacterium ptyocampae</i> 4-ДБ	1,20	7,0	1,17
<i>Citricoccus zhacaieasis</i> 12-Т	-	н/о	0,18
<i>Ensifer morelensis</i> 13-Т	0,34	3,4	0,33
<i>Exiguobacterium undae</i> 10-Т	-	н/о	0,14
<i>Metabacillus litoralis</i> 9-Т	-	н/о	0,13
<i>Microbacterium kitamiense</i> 16-ДБ	1,46	3,6	2,62
<i>Microcella putealis</i> 9-ДБ	1,45	4,4	1,50
<i>Oerskovia enterophila</i> 13-ДБ	1,44	8,0	0,88
<i>Oerskovia jenensis</i> 10-ДБ	1,16	5,7	1,68
<i>Oerskovia paurometabola</i> 3-ДБ	1,15	3,7	2,37
<i>Pseudomonas peli</i> 3-Т	0,83	1,9	2,97
<i>Pseudoxanthomonas mexicana</i> 16-Т	0,25	2,3	0,54
<i>Pseudoxanthomonas putridarboris</i> 17-Т	-	н/о	0,41
<i>Sphingopyxis chelensis</i> 4-Т	-	н/о	0,19

Штамм	Е, Ед/л	Биомасса, мг/мл	Е, Ед/мг
Целлюлозолитическая активность**			
<i>Lysobacter prati</i> 1-Ц	0,47	6,7	0,17
<i>Metabacillus indicus</i> 8-Ц	0,41	7,3	0,17
<i>Microbacterium pygmaeum</i> 11-Ц	0,49	13,8	0,07
<i>Paenarthrobacter aurescens</i> 6-Ц	0,41	8,9	0,10
<i>Pseudomonas peli</i> 14-К	10,21	5,1	11,88

Примечание: «-» – активность отсутствует, н/о – не определяли. В Ед/л выражена активность внеклеточных гидролаз в культуральной жидкости, в Ед/мг выражена активность гидролаз, ассоциированных с клетками, *Ед = мкмоль/мин, **Ед = ммоль/сут.

ферментов, устойчивых к высокой щелочности и минерализации.

Биомасса выделенных бактериальных штаммов может быть использована в качестве препаратов в сельском хозяйстве и других отраслях промышленности. Так, биопрепараты на основе целлюлозолитических микроорганизмов могут быть использованы для обработки кормов, содержащих сено и другое растительное сырьё; в качестве пробиотика, улучшающего переваривание целлюлозы [16]; для предобработки целлюлозосодержащего сырья в процессе получения спирта [11]; улучшения разложения соломы при внесении ее в почву [2]; биоаугментации при метановом брожении с целью увеличения выхода метана [18]; в производстве биотоплива [10]. Липаза и амилаза экстремофилов также имеют большой потенциал использования в пищевой, фармацевтической, бумажной промышленности, могут входить в состав детергентов [13, 20].

Биопрепараты на основе липаз и амилаз могут быть использованы в кормопроизводстве в качестве добавок к кормам для улучшения их усвояемости. Так, известно, что незрелость пищеварительной системы 2–3-недельных цыплят приводит к неполному усвоению крахмала, а введение экзогенной амилазы позволяет им более полно использовать питательные вещества [4, 15]. Добавление в корм экзогенной липазы интенсифицирует работу органов внутренней секреции животных, при этом повышается концентрация эндогенного трипсина и амилазы, улучшается и ускоряется пищеваритель-

ный процесс, что приводит к снижению стоимости кормов, повышению интенсивности роста свиней и птицы [9]. Таким образом, выделенные штаммы после дальнейшей селекции перспективны для использования в биотехнологии и сельском хозяйстве.

Заключение

В рамках двух исследовательских проектов изучено филогенетическое разнообразие бактериального сообщества различных сред содового шламохранилища АО «Березниковский содовый завод» (Березники, Пермский край). Методом метагеномного секвенирования выявлены основные филогенетические группы бактерий, встречающиеся в этих биотопах. Установлено, что бактериальное сообщество этих сред отличается крайне низким разнообразием с доминированием *Proteobacteria* и *Firmicutes*.

Изучена сукцессия бактериального сообщества старой карты содового шламохранилища. Обнаружены изменения микробного сообщества, которые могут быть использованы в качестве индикаторов восстановления среды. Появление представителей семейства *Cellulomonadaceae*, которые являются ассоциативными микроорганизмами растительных симбиозов, свидетельствует о восстановлении почвенного покрова.

Методом посева на селективные среды определено количество бактерий с липолитической, протеолитической, амилолитической и целлюлозолитической активностями, минимальное количество бактерий-гидролитиков (до 10 000 клеток

на 1 г) обнаружено в содовом шламе (рН 11). Показано, что максимальная численность микроорганизмов амило-, целлюлозо- и протеолитиков наблюдается в образцах, содержащих ризосферу, а также в верхнем слое грунтов восстанавливаемых территорий, имеющих растительный покров. Данное распределение микроорганизмов соответствует содержанию биополимеров в изучаемых средах.

На среде с рН 8 и селективными субстратами (твин-80, пептон, крахмал, целлюлоза) выделено 67 алкалотолерантных изолятов, которые обладают соответствующими гидролитическими активностями; на полноценной среде с рН 11 выделено 11 алкалофильных изолятов, обладающих гидролитическими активностями, сопоставимыми с таковыми изолятов, выделенных первым способом. Идентифицировано 58 штаммов, и последовательности 16S рРНК депонированы в

GenBank. Выделены алкалотолерантные бактерии, проявляющие активность гидролитических ферментов, способные расти в широком диапазоне значений рН (от нейтральных до рН 11), и алкалофильные гидролитические бактерии, растущие при рН 10-11.

Изучен биотехнологический потенциал выделенных и идентифицированных бактерий-гидролитиков, устойчивых к щелочной среде и высокому содержанию солей.

Изолированные бактериальные культуры при условии дальнейшей селекции представляют интерес для биотехнологии как продуценты ферментов, устойчивых к щелочным значениям рН и высокой минерализации среды. Такие ферменты имеют большой потенциал для производства моющих средств, биоремедиации, пищевой и химической промышленности, сельского хозяйства.

Библиографический список

1. *Дмитриева О.М., Бархутова Д.Д.* Особенности состава органического вещества микробных матов щелочных водных экосистем Байкальского региона // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 3. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26534> (дата обращения: 16.09.2022).
2. *Каменева И.А., Мельничук Т.Н., Якубовская А.И., Гритчин М.В., Приходько А.В., Смирнова И.И., Зубоченко А.А., Еговцева А.Ю., Караева Н.В.* Влияние целлюлозолитической ассоциации микроорганизмов на биоразнообразие чернозема южного // Известия сельскохозяйственной науки Тавриды. – 2019. – № 20 (183). – С. 38–50.
3. *Кашкак Е.С., Гайсин Е.С., Дагурова О.П., Брянцева И.А., Данилова Э.В.* Формирование и функционирование микробных матов минерального источника Хойто-Гол (Восточный Саян) // Известия Самарского научного центра РАН. – 2016. – Т.18. – № 2. – С. 397–402.
4. *Крюков В.С., Зиновьев С.В., Некрасов Р.В., Глебова И.В., Галецкий В.Б.* Полиферментные препараты в кормлении моногастричных животных // Аграрная наука. – 2021. – 348 (4). – С. 35–43.
5. *Максимова Ю.Г., Шилова А.В., Щетко В.А., Максимов А.Ю.* Содовые шламохранилища: проблема утилизации отходов и поиск микроорганизмов-продуцентов промышленно значимых ферментов // Экология и промышленность России. – 2021. – Т. 25. – № 10. – С. 20–25.
6. *Шилова А.В., Максимов А.Ю., Максимова Ю.Г.* Изменения микробиома как индикатор восстановления природных сред содового шламохранилища АО «Березниковский содовый завод» // Вода и экология: проблемы и решения. – 2020. – № 1 (81). – С. 84–94.
7. *Шилова А.В., Максимов А.Ю., Максимова Ю.Г.* Выделение и идентификация алкалотолерантных бактерий с гидролитической активностью из содового шламохранилища // Микробиология. – 2021. – Т. 90. – № 2. – С. 155–165.
8. *Шилова А.В.* Филогенетическое разнообразие и гидролитический потенциал бактериального сообщества содового шламохранилища / Дис... канд. биол. наук: 03.02.03 – Пермь, «ИЭГМ УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, 2021. – 169 с.
9. *Щербинин С.* Экзогенная липаза снижает стоимость корма // Эффективное животноводство. – 2018. – № 4 – 55–57.
10. *Areeshi M.Y.* Microbial cellulase production using fruit wastes and its applications in biofuels production // International Journal of Food Microbiology. – 2022. – Vol. 378. – 109814.
11. *Chandel A.K., Chandrasekhar G., Silva M.B., Silvério da Silva S.* The realm of cellulases in biorefinery development // Critical Reviews in Biotechnology. – 2012. – Vol. 32(3). – P. 187–202.

12. Elleuche S., Schroeder C., Sahn K., Antranikian G. Extremozymes biocatalysts with unique properties from extremophilic microorganisms // *Current opinion in biotechnology*. – 2014. – Vol. 29. – P. 116–123.
13. Herrera-Márquez O., Fernández-Serrano M., Pilamala M., Jácome M.B., Luzón G. Stability studies of an amylase and a protease for cleaning processes in the food industry // *Food and Bioproducts Processing*. – 2019. – Vol. 117. – P. 64–73.
14. Horikoshi K. Alkaliphiles: some applications of their products for biotechnology // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 1999. – Vol. 63. – № 4. – P. 735–750.
15. Kaczmarek S.A., Rogiewicz A., Mogielnicka M., Rutkowski A., Jones R.O., Slominski B.A. The effect of protease, amylase, and nonstarch polysaccharide-degrading enzyme supplementation on nutrient utilization and growth performance of broiler chickens fed corn-soybean meal-based diets // *Poultry Science*. – 2014. – Vol. 93(7). – P. 1745–1753.
16. Manhar A.K., Bashir Y., Saikia D., Nath D., Gupta K., Konwar B.K., Kumar R., Namsa N.D., Mandal M. Cellulolytic potential of probiotic *Bacillus subtilis* AMS6 isolated from traditional fermented soybean (Churpi): An in-vitro study with regards to application as an animal feed additive // *Microbiological Research*. – 2016. – Vol. 186–187. – P. 62–70.
17. Margesin R. Potential of halotolerant and halophilic microorganisms for biotechnology // *Extremophiles*. – 2001. – Vol. 5. – № 2. – P. 73–83.
18. Martin-Ryals A., Schideman L., Li P., Wilkinson H., Wagner R. Improving anaerobic digestion of a cellulosic waste via routine bioaugmentation with cellulolytic microorganisms // *Bioresource Technology*. – 2015. – Vol. 189. – P. 62–70.
19. Mokashe N., Chaudhari B., Patil U. Operative utility of salt-stable proteases of halophilic and halotolerant bacteria in the biotechnology sector // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2018. – Vol. 117. – № 1. – P. 493–522.
20. Vivek K., Sandhia G.S., Subramaniyan S. Extremophilic lipases for industrial applications: A general review // *Biotechnology Advances*. – 2022. – Vol. 60. – 108002.

**BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL OF BACTERIA
IN ALKALINE HIGHLY MINERALIZED ENVIRONMENTS OF SODA SLUDGE
(BEREZNIKI, PERM REGION)**

Yu.G. Maksimova^{1,2}, A.Yu. Maksimov^{1,2}, A.V. Shilova¹

¹*Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS*

²*Perm State National Research University*

For citation:

Maksimova Yu.G., Maksimov A.Yu., Shilova A.V. Biotechnological potential of bacteria in alkaline highly mineralized environments of soda sludge (Berezniki, Perm region) // *Perm Federal Research Center Journal*. – 2022. – № 4. – P. 16–25. <https://doi.org/10.7242/2658-705X/2022.4.2>

Alkaline highly mineralized environments are a source of microorganisms that produce enzymes which are in demand in biotechnology, food industry, medicine, and agriculture. The extracellular hydrolytic enzymes of these microorganisms are resistant to high pH and mineralization. Within the framework of two scientific projects, the phylogenetic diversity of the bacterial community of alkaline highly mineralized media of anthropogenic origin, that is, the soda sludge of the Bereznikovskiy Soda Plant (Berezniki, Perm Region) was studied. The sources of the isolation of bacterial cultures were the environments of the sludge storage (soda sludge, distiller water, surface technogenic formations that restrict the territory of the sludge storage) and the old sludge storage, on which vegetation is being restored. Alkalotolerant and alkalophilic hydrolytic bacteria with amylase, lipase, proteases and cellulose activities have been isolated and identified. Isolated bacteria, subject to further selection, are of interest for biotechnology as producers of enzymes that are resistant to alkaline pH and high mineralization of the medium.

Keywords: Alkalotolerant bacteria, alkalophiles, halotolerant bacteria, hydrolytic enzymes, metagenomic analysis.

Сведения об авторах

Макимова Юлия Геннадьевна, доктор биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной биотехнологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН (ИЭГМ УрО РАН), 614081, г. Пермь, ул. Голева, 13, профессор кафедры микробиологии и иммунологии Пермский государственный национальный исследовательский университет (ПГНИУ), 614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15; e-mail: maks@iegm.ru

Макимов Александр Юрьевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биотехнологии, ИЭГМ УрО РАН; доцент кафедры микробиологии и иммунологии, ПГНИУ; e-mail: alm@iegm.ru

Шилова Анна Владимировна, кандидат биологических наук, инженер лаборатории молекулярной биотехнологии, ИЭГМ УрО РАН; e-mail: A.Shilova-IEGM@yandex.ru

Материал поступил в редакцию 27.09.2022 г.