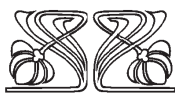
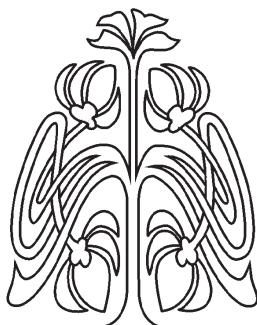
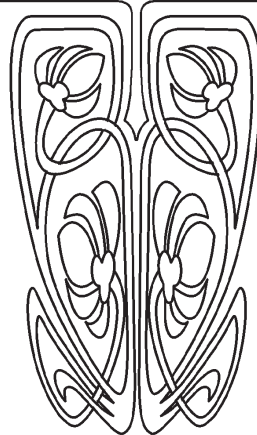




## ЭКОЛОГИЯ



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2026. Т. 26, вып. 1. С. 90–99

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2026, vol. 26, iss. 1, pp. 90–99

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2026-26-1-90-99>

EDN: QPIEKJ

Научная статья  
УДК 574.192.2

### Эколого-физиологический потенциал аборигенных штаммов углеводородокисляющих бактерий, выделенных из почв с высоким уровнем нефтяного загрязнения

Д. Д. Нестеркина<sup>1</sup>, Д. М. Голубев<sup>1</sup> ✉, А. К. Тарасюк<sup>1</sup>, Е. И. Тихомирова<sup>2</sup>,  
О. В. Нечаева<sup>3,4</sup>, Д. В. Уткин<sup>1</sup>, Е. В. Глинская<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

<sup>2</sup>Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А., Россия, 410054, г. Саратов, ул. Политехническая, д. 77

<sup>3</sup>ФГБУ «НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова» Минздрава России, Россия, 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4

<sup>4</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Россия, 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1

Нестеркина Дарья Дмитриевна, магистрант биологического факультета, [nesterkina.darya@yandex.ru](mailto:nesterkina.darya@yandex.ru), <https://orcid.org/0009-0006-5953-3647>

Голубев Дмитрий Михайлович, магистрант биологического факультета, [dimagolubev2018@yandex.ru](mailto:dimagolubev2018@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0001-9471-6066>

Тарасюк Анна Константиновна, аспирант, ассистент кафедры микробиологии и физиологии растений, [annatarasyuk011201@gmail.com](mailto:annatarasyuk011201@gmail.com), <https://orcid.org/0009-0000-6664-3218>

Тихомирова Елена Ивановна, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой экологии и техносферной безопасности, [tichomirova\\_ei@mail.ru](mailto:tichomirova_ei@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-6030-7344>

Нечаева Ольга Викторовна, доктор биологических наук, профессор, <sup>3</sup>ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии отдела молекулярной микробиологии и биоинформатики института микробиологии, антимикробной терапии и эпидемиологии; <sup>4</sup>профессор кафедры медицинской микробиологии имени академика З. В. Ермольевой, [olgav.nechaeva@rambler.ru](mailto:olgav.nechaeva@rambler.ru), <https://orcid.org/0000-0003-3331-1051>

Уткин Денис Валерьевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии и физиологии растений, [twoduck@yandex.ru](mailto:twoduck@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-5903-7700>

Глинская Елена Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии и физиологии растений, [elenavg-2007@yandex.ru](mailto:elenavg-2007@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-1675-5438>

**Аннотация.** Нефть и нефтепродукты являются серьезным источником загрязнения окружающей среды, что обуславливает накопление углеводов в почвенном профиле. Они загрязняют грунтовые воды, нарушают естественные биохимические почвенные процес-



сы, взаимодействуют с минеральными соединениями, снижая их биодоступность для растений, и вызывают отравление и гибель живых организмов. Исследование углеводородокисляющих микроорганизмов имеет существенное прикладное значение в связи с их способностью разлагать углеводороды. Анализ адаптационных механизмов и устойчивости к стрессовым факторам бактерий-деструкторов позволяет прогнозировать эффективность биоремедиации в различных экологических сценариях. В работе изучено влияние температуры, концентрации NaCl и значения pH среды на рост и интенсивность образования биопленок углеводородокисляющими бактериями, выделенными из почв с высоким уровнем нефтяного загрязнения. Исследована субстратная специфичность бактерий-нефтедеструкторов. Наиболее устойчивыми к абиотическим факторам среды являются штаммы *Paenibacillus polymyxa* S31 и *Citrobacter freundii* K29. Наибольшей субстратной специфичностью обладает *P. polymyxa* S31, так как он способен к деградации всех исследуемых субстратов. Максимальная продукция биопленок всеми исследуемыми штаммами наблюдается при температуре 28°C, штаммами *Bacillus circulans* D18, *Bacillus licheniformis* M88, *Bacillus muralis* V16, *Bacillus pumilus* L27, *P. glucanolyticus* F15 – в щелочной среде (при pH 9), штаммами *C. freundii* K29 и *P. polymyxa* S31 – в нейтральной среде (при pH 7).

**Ключевые слова:** углеводородокисляющие бактерии, нефть, нефтепродукты, почвенные экосистемы, экологический мониторинг, биопленки, микроорганизмы, антропогенно нарушенные территории

**Благодарности.** Авторы благодарят Н. Е. Щербакову (ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора) за проведение масс-спектрометрического анализа и идентификацию выделенных штаммов.

**Для цитирования:** Нестеркина Д. Д., Голубев Д. М., Тарасюк А. К., Тихомирова Е. И., Нечаева О. В., Уткин Д. В., Глинская Е. В. Эколого-физиологический потенциал аборигенных штаммов углеводородокисляющих бактерий, выделенных из почв с высоким уровнем нефтяного загрязнения // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2026. Т. 26, вып. 1. С. 90–99. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2026-26-1-90-99>, EDN: QPIEKJ

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

### Ecophysiological potential of indigenous hydrocarbon-degrading bacteria isolated from heavily oil-contaminated soils

D. D. Nesterkina<sup>1</sup>, D. M. Golubev<sup>1</sup>✉, A. K. Tarasyuk<sup>1</sup>, E. I. Tikhomirova<sup>2</sup>, O. V. Nechaeva<sup>3,4</sup>, D. V. Utkin<sup>1</sup>, E. V. Glinskaya<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

<sup>2</sup>Yuri Gagarin State Technical University of Saratov, 77 Politekhnikeskaya St., Saratov 410054, Russia

<sup>3</sup>Academician V. I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia, 4 Akademika Oparina St., Moscow 117997, Russia

<sup>4</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, 1, 2/1 Barrikadnaya St., Moscow 125993, Russia

Darya D. Nesterkina, [nesterkina.darya@yandex.ru](mailto:nesterkina.darya@yandex.ru), <https://orcid.org/0009-0006-5953-3647>

Dmitry M. Golubev, [dimagolubev2018@yandex.ru](mailto:dimagolubev2018@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0001-9471-6066>

Anna K. Tarasyuk, [annatarasyuk011201@gmail.com](mailto:annatarasyuk011201@gmail.com), <https://orcid.org/0009-0000-6664-3218>

Elena I. Tikhomirova, [tikhomirova\\_ei@mail.ru](mailto:tikhomirova_ei@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-6030-7344>

Olga V. Nechaeva, [olgav.nechaeva@rambler.ru](mailto:olgav.nechaeva@rambler.ru), <https://orcid.org/0000-0003-3331-1051>

Denis V. Utkin, [twoduck@yandex.ru](mailto:twoduck@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-5903-7700>

Elena V. Glinskaya, [elenavg-2007@yandex.ru](mailto:elenavg-2007@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-1675-5438>

**Abstract.** Oil and petroleum products are a significant source of environmental pollution, leading to the accumulation of hydrocarbons in the soil profile. They contaminate groundwater, disrupt natural soil biochemical processes, interact with mineral compounds – thereby reducing their bioavailability to plants – and cause the poisoning and death of living organisms. The study of hydrocarbon-oxidizing microorganisms is of considerable practical importance due to their ability to degrade hydrocarbons. Analyzing the adaptation mechanisms and stress resistance of degrading bacteria enables the prediction of bioremediation efficiency under various ecological scenarios. This work investigates the influence of temperature, NaCl concentration, and pH on the growth and biofilm formation intensity of hydrocarbon-oxidizing bacteria isolated from soils with high levels of oil contamination. The substrate specificity of the oil-degrading bacteria was also studied. The strains *Paenibacillus polymyxa* S31 and *Citrobacter freundii* K29 were the most tolerant to abiotic environmental factors. *P. polymyxa* S31 exhibited the broadest substrate specificity, as it was capable of degrading all tested substrates. Maximum biofilm production by all studied strains was observed at 28°C. For strains *Bacillus circulans* D18, *Bacillus licheniformis* M88, *Bacillus muralis* V16, *Bacillus pumilus* L27, and *P. glucanolyticus* F15, the maximum production occurred in an alkaline environment (at pH 9), while for strains *C. freundii* K29 and *P. polymyxa* S31, it was in a neutral environment (at pH 7).

**Keywords:** hydrocarbon-oxidizing bacteria, petroleum, petroleum products, soil ecosystems, environmental monitoring, biofilms, microorganisms, anthropogenic disturbed areas

**Acknowledgments.** The authors wish to thank Nataliya E. Shcherbakova (Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”) for performing the mass spectrometry analysis and identification of the isolated strains.

**For citation:** Nesterkina D. D., Golubev D. M., Tarasyuk A. K., Tikhomirova E. I., Nechaeva O. V., Utkin D. V., Glinskaya E. V. Ecophysiological potential of indigenous hydrocarbon-degrading bacteria isolated from heavily oil-contaminated soils. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2026, vol. 26, iss. 1, pp. 90–99 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2026-26-1-90-99>, EDN: QPIEKJ

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)



## Введение

С каждым годом повышается спрос на нефть и нефтепродукты, ускоряется развитие нефтяной промышленности. Ежегодно в процессе добычи, транспортировки и переработки миллионы тонн углеводов попадают в почву [1]. Одним из важнейших вопросов современности является восстановление экосистем после загрязнения углеводородами, в частности, нефтью и нефтепродуктами [2]. Накопление даже небольшого количества углеводов может оказывать негативное влияние на физико-химические свойства почвы [3]. Находясь в почве длительное время, нефть за счет своего токсического и канцерогенного действия вызывает повреждения растений на всех стадиях их развития и нарушает экологическое равновесие почвы, что опосредованно влияет на животных и человека [4].

Сырая нефть представляет собой сложное природное вещество, состав которого в основном определяется происхождением, но в любом случае характеризуется преобладанием углеводов. С нефтепродуктами дела обстоят немного сложнее, ведь их состав определяется не только природой изначальной субстанции, но и методом переработки [5]. Так или иначе, сложность состава нефтяных веществ совместно с их гидрофобностью объясняют трудность очистки почвы от данных соединений [6].

Рекультивационные мероприятия почв вызывают особый интерес, поскольку существующие методические подходы оказывают различное влияние на свойства почвы. На сегодняшний день одним из основных направлений рекультивации является биоремедиация – метод, основанный на способности живых организмов разлагать загрязнители окружающей среды и превращать их в безвредные химические вещества [7]. Биоремедиация считается экономически эффективным и экологически чистым методом восстановления антропогенно нарушенных территорий, значительно снижающим токсичное воздействие поллютантов на подлежащие рекультивации участки [8].

Процессы самоочищения почвы от органических загрязнителей, в частности углеводов нефти, осуществляется под действием ее микробной активности. Бактерии являются основными агентами разложения нефти и нефтепродуктов в окружающей среде. Известно более

79 родов бактерий, которые могут использовать углеводороды в качестве источника углерода и энергии, разлагающих нефтяные соединения, а именно *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Kocuria*, *Mycobacterium*, *Oleiphilus*, *Oleispira*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus* и другие. Использование бактерий-нефтедеструкторов для восстановления нефтезагрязненных территорий является одним из наиболее эффективных способов биоремедиации [9–11].

На основе углеводородокисляющих бактерий создают эффективные, экологически безопасные и экономически выгодные препараты для очистки почв, загрязненных нефтью [12]. Для скрининга штаммов особое значение имеет оценка их субстратного спектра, устойчивости к абиотическим факторам окружающей среды и способности формировать биопленки [13].

Цель работы – выявить эколого-физиологические особенности аборигенных штаммов углеводородокисляющих бактерий для обоснования их использования в биоремедиационных биопрепаратах.

## Материалы и методы

Объектом исследования являлись пробы темно-каштановых почв, отобранных с земельных участков сельскохозяйственного назначения, загрязненных нефтепродуктами в результате аварийной ситуации (Советский район, Саратовская область) (рис. 1) [14].

Советский район находится в степной зоне Саратовского Заволжья. Основными характеристиками почвенного покрова района являются его относительная однородность, невысокое содержание гумуса и степень солонцеватости (рис. 2) [15].

Отбор проб методом конверта проводили в соответствии с ГОСТ 17.4.4.02-20174.

Лабораторные исследования проведены в ИЛЦ ЭкоОС (СГТУ имени Гагарина Ю. А.) и на кафедре микробиологии и физиологии растений (СГУ имени Н. Г. Чернышевского). Для выделения углеводородокисляющих бактерий 0,1 мл почвенной суспензии высевали по общепринятой методике на синтетическую среду М9, в которой в качестве единственного источника углерода присутствовало вазелиновое масло [16]. Культивирование микроорганизмов проводили в стационарных условиях в термостате ТС-1-20 СПУ при температуре +28°C в течение 2–4 суток.



Рис. 1. Местоположение с. Новокривовка на топографической карте Саратовской области [14]  
 Fig. 1. Location of Novokrivovka village on the topographic map of the Saratov Region

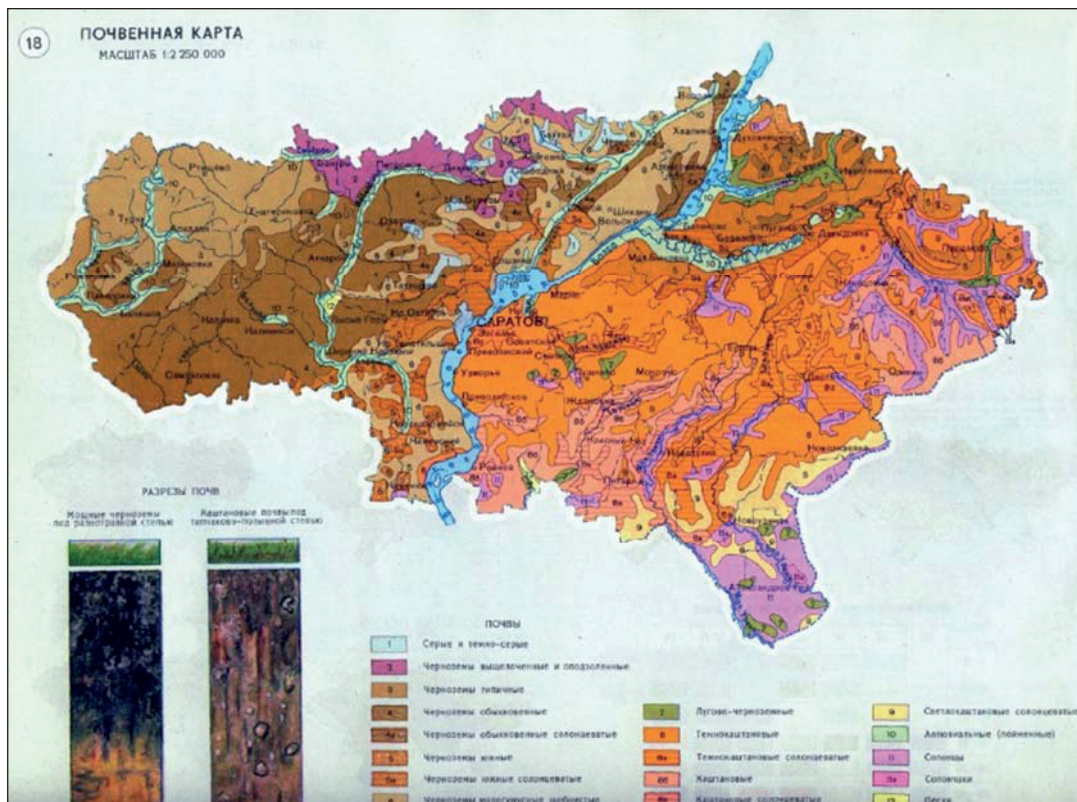


Рис. 2. Почвенная карта Саратовской области  
 Fig. 2. Soil map of the Saratov Region



Идентификацию бактерий проводили на основании изучения фенотипических свойств по «Определителю бактерий Берджи» (1997) [17].

Верификацию и определение неидентифицированных видов осуществляли с помощью метода MALDI-ToF масс-спектрометрии [18]. Для этого из суточной культуры микроорганизмов с одной колонии изготавливали белковые экстракты с использованием этанола, муравьиной кислоты и 80% трифторуксусной кислоты. Экстракцию проводили в соответствии с МУ 4.2.3.733-21. В качестве матрицы использовали насыщенный водный раствор  $\alpha$ -циано-4-гидроксикоричной кислоты, ацетонитрила и 5% трифторуксусной кислоты. Сбор спектров производился в автоматическом режиме на масс-спектрометре Microflex™ LT MALDI-TOF (Bruker Daltonics, Германия) с использованием программы Flex Control (ver. 3.3). Диапазон масс полученного спектра – 2–20 КДа. Полученные масс-спектры анализировали в программе Biotyper 3 (Bruker Daltonics, Германия). Таксономию исследуемых образцов определяли на основании значения индекса соответствия (score value, SV). Идентификацию белков осуществляли с использованием международной базы белков UniProt [19]

Для исследования субстратной специфичности углеводородокисляющих бактерий в работе использовали сырую нефть Соколовгорского месторождения (Волго-Уральский нефтяной бассейн, г. Саратов, Россия), предельные (n-алканы: гексан, гептан, декан), непредельные (гексадиен) и ароматические (толуол) углеводороды, а также углеводородное производное – фенол. Способность бактериальных штаммов к деструкции указанных субстратов оценивали методом лунок. В центр чашки Петри с агаризованной минеральной средой М9 (г/л:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  – 6,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 3,0;  $\text{NaCl}$  – 0,5;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  – 1,0; голодный агар – 20,0) вносили исследуемый углеводород в лунку диаметром 8 мм. Посев тест-культур производили штрихообразными линиями вокруг лунки. Благодаря радиальной диффузии субстрата в агар и его частичному испарению культивирование проводили в условиях одновременного воздействия твёрдой и газовой фаз углеводородов. Учёт результатов проводили в течение 7 суток инкубации при температуре 28°C. О деструктивной активности судили по ви-

зуальной оценке интенсивности роста тест-культур в зоне диффузии субстрата [20].

Для оценки влияния абиотических факторов на рост углеводородокисляющих штаммов были проведены эксперименты в широком диапазоне температурных условий: при +6°C (низкотемпературный режим) и +45°C (высокотемпературный режим). Параллельно исследовали влияние водородного показателя среды (ГРМ-бульон, Оболенск, Россия) на рост микроорганизмов при значениях pH 5,0 (кислая), 7,0 (нейтральная) и 9,0 (щелочная). Для определения солеустойчивости использовали среды с различной концентрацией хлорида натрия: 2, 5, 7, 10 и 15%, что позволило оценить осмотическую толерантность исследуемых штаммов [21].

Для оценки степени (способности) формирования биопленок использовали агаровые культуры микроорганизмов в стационарной фазе роста. Штаммы бактерий выращивали на ГРМ-агаре pH 7,2 (Оболенск, Россия) при температуре 28°C в течение 24 ч. Взвеси клеток микроорганизмов готовили в 0,9% NaCl по стандарту мутности 10 Ед. Далее переносили взвеси микроорганизмов в ГРМ-бульон (Оболенск, Россия) с pH, равной 5, 7 и 9, до конечной концентрации  $5 \times 10^7$  КОЕ/мл. Культуры микроорганизмов в бульоне вносили по 200 мкл в лунки полистироловых 96-луночных плоскодонных планшетов для культивирования клеток и тканей (Jet Bio-Filtration, Китай) и инкубировали при температурах +6, +28, +37 °C в течение 72 ч без встряхивания. Для отслеживания отрицательного контроля в лунки добавляли 200 мкл ГРМ-бульона pH 7,2. По окончании культивирования из лунок планшетов отбирали среду с планктонными клетками, после чего лунки промывали стерильным физиологическим раствором в объеме 200 мкл в течение 2–3 мин. Физиологический раствор полностью удаляли из лунок и высушивали планшеты в течение 20 мин. Окраску биопленок на поверхности лунок проводили по методу O'Toole, основанному на способности красителя кристаллического фиолетового связываться с клетками и внеклеточным матриксом биопленок [22]. Для этого в лунки планшетов вносили по 200 мкл отфильтрованного 0,2% раствора кристаллического фиолетового в 96% этиловом спирте и инкубировали при комнат-



ной температуре в течение 15 мин. Краситель удаляли из лунок, с последующим трехкратным промыванием водопроводной водой. Планшеты высушивали в течение 30 мин, после чего в лунки добавляли 96% раствор этанола в объеме 200 мкл для элюции связанного с биопленкой красителя. Растворитель отбирали, помещали в чистые плоскодонные планшеты и измеряли оптическую плотность на планшетном фотометре iMark (Bio Rad, США) при длине волны 600 нм. В качестве контроля использовали лунки, инкубированные с чистой средой, подвергнутые аналогичным манипуляциям.

Количественную оценку образования биопленки в каждой лунке проводили по формуле:

$$OD_{отн} = OD_{абс} / OD_c$$

где  $OD_{отн}$  – относительная оптическая плотность красителя,  $OD_{абс}$  – абсолютная оптическая плотность красителя,  $OD_c$  – оптическая плотность (OD) отрицательного контроля+3sd [23].

Умеренную продукцию биопленки считали при  $2 \times OD_c \leq OD_{отн} \leq 4 \times OD_c$ , плотную продукцию считали при  $4 \times OD_c < OD_{отн}$ , слабую – при  $OD_c < OD_{отн} < 2 \times OD_c$ .

Для каждого штамма и разных условий культивирования проводили измерения оптической плотности в 4 повторностях. Статистический анализ осуществляли с использованием программы StatTech v. 4.9.5 (ООО «Статтех», Россия). Количественные показатели оценивали на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро – Уилка. Количественные показатели, выборочное распределение которых соответствовало

нормальному, описывали с помощью средних арифметических величин ( $M$ ) и стандартных отклонений ( $SD$ ). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$  (F–критерий Фишера). При распределении, отличном от нормального, переменные описывали с помощью медианы ( $Me$ ) и интерквартильного размаха ( $Q_1-Q_3$ ). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$  (Критерий Краскала – Уоллиса).

## Результаты и их обсуждение

В ходе проведенного микробиологического анализа образцов с последующей идентификацией выделенных культур установлено, что доминирующей группой являлись микроорганизмы рода *Bacillus*, составившие 57% от общего числа изолятов. Доля бактерий рода *Paenibacillus* составила 29%, а представители рода *Citrobacter* были обнаружены в 14% случаев.

Изолированные углеводородокисляющие бактерии были идентифицированы как грамположительные палочки следующих видов: *Bacillus circulans*; *B. licheniformis*; *B. muralis*; *B. pumilus*; *Paenibacillus glucanolyticus*; *P. polymyxa*; *Citrobacter freundii*.

Анализ субстратной специфичности исследуемых бактериальных штаммов выявил значительные различия в их метаболическом потенциале. Штамм *P. polymyxa* S31 продемонстрировал способность к деградации всех тестируемых субстратов (таблица).

Субстратный спектр углеводородокисляющих микроорганизмов  
Table. The substrate spectrum of hydrocarbon oxidizing microorganisms

Штамм / Specie	Субстрат / Substrate						
	Предельные углеводороды / Saturated hydrocarbons			Непредельные углеводороды / Unsaturated hydrocarbons	Ароматические соединения / Aromatic compounds		Сырая нефть / Crude oil
	Гексан / Hexane	Гептан / Heptane	Декан / Decane	Гексадиен / Hexadiene	Фенол / Phenol	Толуол / Toluol	
<i>B. circulans</i> D18	+	+	+	-	-	-	+
<i>B. licheniformis</i> M88	+	+	+	-	+	-	+
<i>B. muralis</i> V16	+	+	+	+	+	-	+
<i>B. pumilus</i> L27	+	+	-	+	-	+	+
<i>P. glucanolyticus</i> F15	-	-	-	-	-	-	+
<i>P. polymyxa</i> S31	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. freundii</i> K29	-	+	+	-	-	-	+



Наиболее широким субстратным профилем использованных разлагаемых соединений характеризовался *B. pumilus* L27, однако он не был способен к утилизации фенола и декана. Штаммы *B. muralis* V16 и *B. licheniformis* M88 не проявляли способности к биодegradации толуола, тогда как *B. circulans* D18, помимо ароматических соединений, не утилизировал гексадекан. Наиболее ограниченный субстратный профиль наблюдался у штаммов *C. freundii* K29, способного к деградации только сырой нефти и двух представителей *n*-алканов (гептана и декана), и *B. glucanolyticus* F15, проявлявшего активность исключительно в отношении многокомпонентного субстрата – нефти.

Результаты исследования по определению влияния устойчивости физико-химических факторов среды на рост углеводородокисляющих бактерий показали, что все исследуемые штаммы обладали широким диапазоном выживаемости под действием абиотических факторов (Т, рН, конц. NaCl). Наиболее устойчивыми среди всех представленных штаммов явились *P. polymyxa* S31 и *C. freundii* K29, которые были способны к росту в широком диапазоне температур и рН (как при минимальной (6), так и при максимальной (45°C) температуре, как в щелочной (9), так в кислой (5) среде). Кроме того, исследуемые штаммы характеризовались способностью к росту при низких (2%) и высоких (10%) концентрациях хлорида натрия (рис. 3).

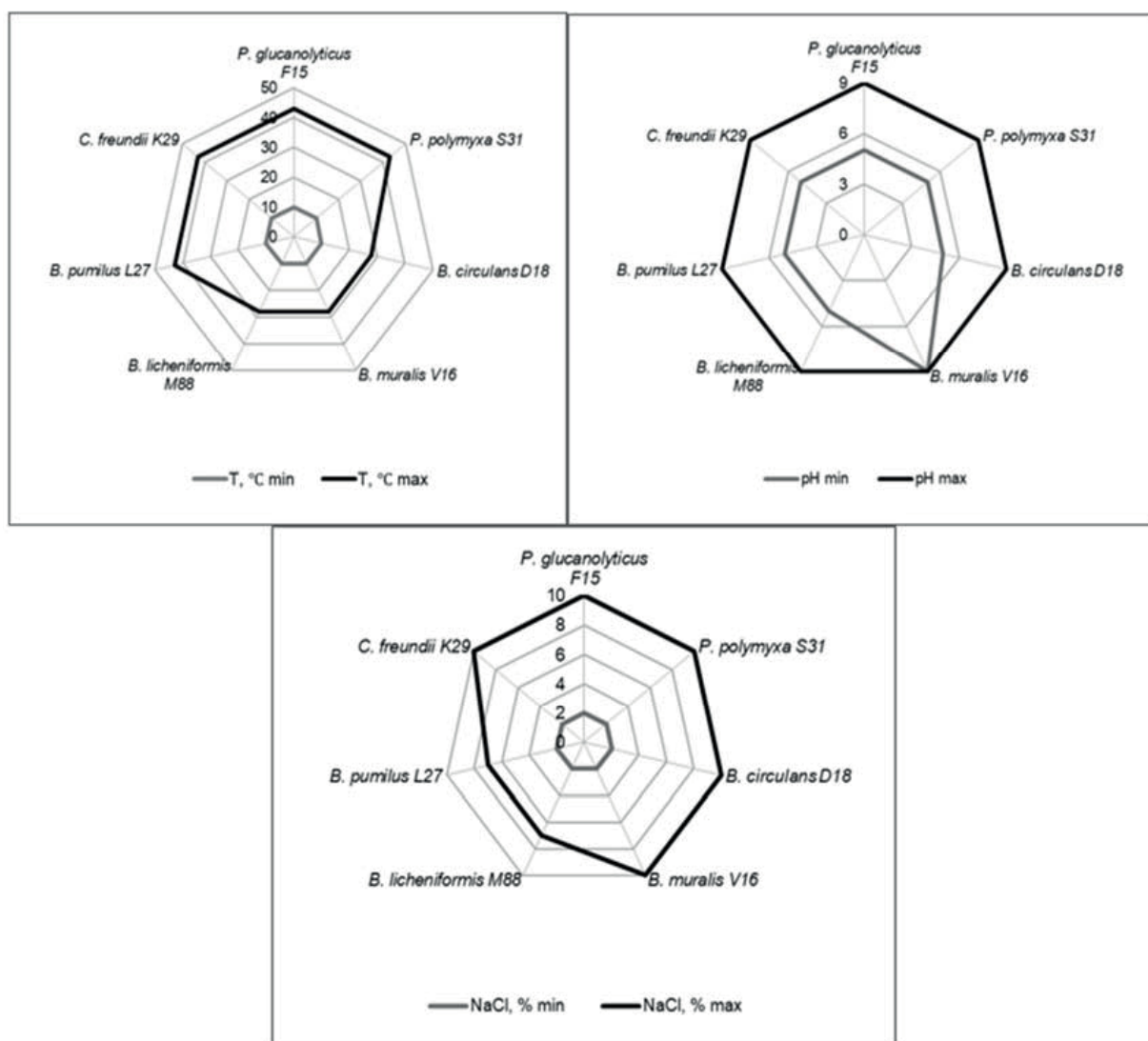


Рис. 3. Устойчивость углеводородокисляющих бактерий к физико-химическим условиям среды  
Fig. 3. Resistance of hydrocarbon-oxidizing bacteria to abiotic environmental conditions



Результаты исследования влияния температуры на процесс пленкообразования показали, что максимальная продукция биопленки всех выделенных штаммов микроорганизмов наблюдалась при температуре 28°C (рис. 4). Согласно полученным данным, при анализе оптической плотности в зависимости от температуры, были установлены статистически значимые различия.

Анализ влияния pH на формирование биопленки позволил статистически достоверно

установить, что наибольшая ее продукция у штаммов *B. circulans* D18, *B. licheniformis* M88, *B. muralis* V16, *B. pumilus* L27, *P. glucanolyticus* F15 наблюдалась в щелочной среде (pH 9) при температуре 28 °C, а для штаммов *C. freundii* K29 и *P. polymyxa* S31 оптимальной оказалась нейтральная среда (pH 7) при температуре 28 °C. Для изолятов *B. pumilus* L27 и *P. glucanolyticus* F15 было также отмечено формирование биопленки в кислой среде (pH 5) (рис. 4).

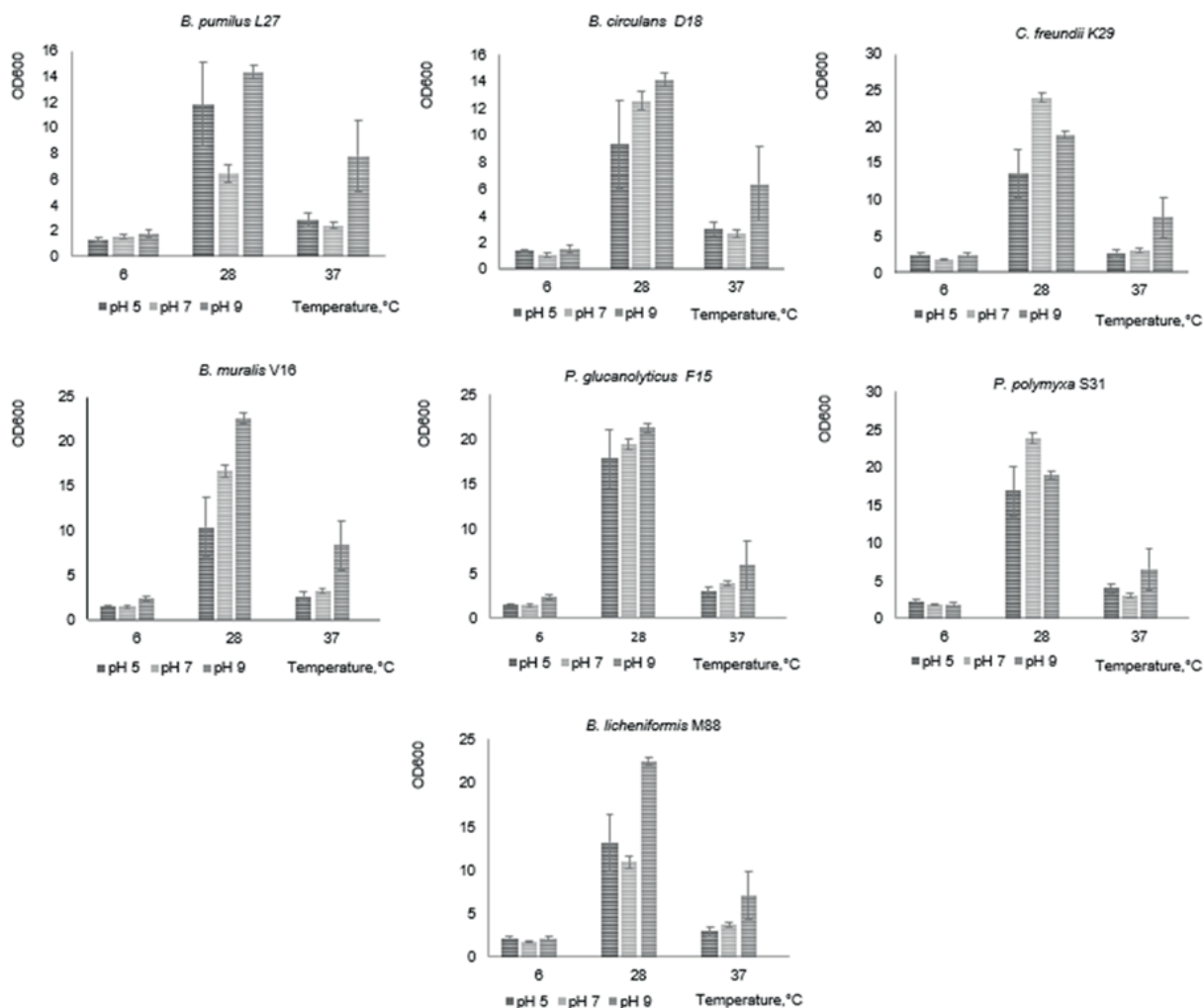


Рис. 4. Сравнение способности формирования биопленок штаммами углеводородокисляющих микроорганизмов при различных значениях pH и температуры

Fig. 4. Comparison of biofilm production by hydrocarbon-oxidizing strains at different temperatures and pH

### Заключение

В ходе работы был проведен микробиологический анализ почв, пробы которых отбирали с земельных участков сельскохозяйственного назначения с высоким уровнем нефтяного загрязнения.

В результате скрининга были отобраны культуры, проявившие углеводородокисля-

ющую способность. Наиболее устойчивыми к неблагоприятным абиотическим факторам среды оказались штаммы *B. pumilus* L27 и *C. freundii* K29, а наиболее широким субстратным спектром характеризовался штамм *P. polymyxa* S31, способный к деградации всех исследуемых субстратов. Оптимальное значение температуры, при котором наблюдалась максимальная продукция биопленок у всех



исследуемых штаммов бактерий, составило 28°C. *B. circulans* D18, *B. licheniformis* M88, *B. muralis* V16, *B. pumilus* L27, *P. glucanolyticus* F15 более эффективно формировали биопленки в щелочной среде (рН 9), штаммы *C. freundii* K29 и *P. polytuxa* S31 – в нейтральной среде (рН 7). Для изолятов *B. pumilus* L27 и *P. glucanolyticus* F15 было также отмечено формирование биопленки в кислой среде (рН 5).

Таким образом, на основании полученных результатов в качестве перспективного для конструирования биопрепарата может рассматриваться штамм *P. polytuxa* S31, использование которого возможно при загрязнении почв различными группами углеводородных субстратов в засоленных почвах при щелочных и нейтральных значениях рН.

### Список литературы

1. Freedman B. Oil pollution // *Environmental Ecology*. 1995. № 2. P. 159–188.
2. Teal J. M., Howarth R. W. Oil spill studies: A review of ecological effects // *Journal of Environmental Management*. 1984. № 8. P. 27–43.
3. Polyak Y. M., Bakina L. G., Chugunova M. V., Mayachkina N. V., Gerasimov A. O., Bure V. M. Effect of remediation strategies on biological activity of oil-contaminated soil // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2018. № 126. P. 57–68.
4. Pakova V., Hilscherova K., Feldmannova M., Bláha L. Toxic effects and oxidative stress in higher plants exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons and their N-heterocyclic derivatives // *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2006. № 25. P. 3238–3245.
5. Smith H. M., Dunning H. N., Rall H. T., Ball J. S. Keys to the mystery of crude oil // *Proceedings*. 1959. Vol. 39. P. 433–465.
6. Chen M., Xu P., Zeng G., Yang C., Huang D., Zhang J. Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: Applications, microbes and future research needs // *Biotechnology Advances*. 2015. № 33. P. 745–755.
7. Mambwe M., Kalebaila K. K., Johnson T. Remediation technologies for oil contaminated soil // *Global Journal of Environmental Science and Management*. 2021. № 7. P. 419–438.
8. Wang M., Chen S., Jia X., Chen L. Concept and types of bioremediation // *Handbook of Bioremediation*. Academic Press, 2021. P. 3–8. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819382-2.00001-6>
9. Rahman K. S. M., Rahman T. J., Kourkoutas Y., Petsas I., Marchant R., Banat I. M. Enhanced bioremediation of n-alkane in petroleum sludge using bacterial consortium amended with rhamnolipid and micronutrients // *Biore-source Technology*. 2003. Vol. 90, № 2. P. 159–168.
10. Плешакова Е. В., Шешнев А. С., Герасимов О. А., Глинская Е. В., Голубев Д. М., Несцеркина Д. Д., Овечкина А. А. Геохимическая и микробиологическая индикация техногенной трансформации почв города Балаково (Саратовская область) // *Трансформация экосистем*. 2025. Т. 8, № 3 (30). С. 99–117. <https://doi.org/10.23859/estr-240514>
11. Fathepure B. Z. Recent studies in microbial degradation of petroleum hydrocarbons in hypersaline environments // *Frontiers in Microbiology*. 2014. Vol. 5. P. 173.
12. Minzhen W., Mingzhu D., Yingjin Y. Bioengineering for the microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants // *Bioengineering*. 2023. Vol. 3, № 10. P. 347–355.
13. Chunyan X. The role of microorganisms in petroleum degradation: Current development and prospects // *Science of The Total Environment*. 2023. Vol. 865. P. 500–514.
14. Топографическая карта Саратовской области. URL: <http://www.etomesto.ru/karta2026/?ysclid=lqet4k2zqb560884929> (дата обращения: 21.12.2023).
15. Макаров В. З., Пичугина Н. В., Чумаченко А. Н. Ландшафтное районирование Саратовской области. Карта. М 1:500 000 // *Эколого-ресурсный атлас Саратовской области / под ред. В. С. Белова, Г. И. Худякова ; Комитет охраны окруж. среды и природных ресурсов Саратовской области ; Роскартография. Саратов : ВТУ ГШ, 1996. С. 7.*
16. Нетрусов А. И., Егорова М. А., Захарчук Л. М. Практикум по микробиологии. М. : Академия, 2005. 608 с.
17. Определитель бактерий Берджи : в 2 т. Т. 2. М. : Мир, 1997. 368 с.
18. Хачатуров Э. Г., Поливанов Д. А., Уткин Д. В., Щербакова Н. Е., Уткин Е. Д., Голубев Д. М. Молекулярно-биологический анализ изменчивости эндофитных бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* при вертикальном и горизонтальном переносе // *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки*. 2024. № 7. С. 27–33. <https://doi.org/10.37882/2223-2966.2024.7.38>
19. UniProt. URL: <http://www.uniprot.org/> (дата обращения: 13.03.2024).
20. Беляков А. Ю., Плешакова Е. В. Скрининг микроорганизмов-деструкторов компонентов буровых растворов // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология*. 2013. Т. 13, вып. 4. С. 37–42.
21. Успанова Д. М., Мурзина Ю. И., Коробейникова А. С., Глинская Е. В., Нечаева О. В. Адаптация микроорганизмов-нефтедеструкторов к физико-химическим факторам внешней среды // *Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания : тезисы докладов Второй Всерос. науч. конф. с междунар. участием. Иркутск : Иркутский государственный университет, 2022. С. 92–94.*
22. Taayeb S. R., Kazemipour N., Hassanshahian M., Rokhbakhs-Zamin F., Khoshroo S. M. R. Microbial community response to biostimulation and bioaugmentation in crude oil-polluted sediments of the Persian Gulf: A microcosm simulation study // *Environmental Research*. 2024. Vol. 249. Art. 118197. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.118197>



23. Adeniji A. O., Okoh O. O., Okoh A. I. Analytical methods for the determination of the distribution of total petroleum hydrocarbons in the water and sediment of aquatic systems: A review // *Journal of Chemistry*. 2017. Vol. 2017. P. 1–13.

## References

- Freedman B. Oil pollution. *Environmental Ecology*, 1995, no. 2, pp. 159–188.
- Teal J. M., Howarth R. W. Oil spill studies: A review of ecological effects. *Journal of Environmental Management*, 1984, no. 8, pp. 27–43.
- Polyak Y. M., Bakina L. G., Chugunova M. V., Mayachkina N. V., Gerasimov A. O., Bure V. M. Effect of remediation strategies on biological activity of oil-contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2018, no. 126, pp. 57–68.
- Pakova V., Hilscherova K., Feldmannova M., Bláha L. Toxic effects and oxidative stress in higher plants exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons and their N-heterocyclic derivatives. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, no. 25, pp. 3238–3245.
- Smith H. M., Dunning H. N., Rall H. T., Ball J. S. Keys to the mystery of crude oil. *Proceedings*, 1959, vol. 39, pp. 433–465.
- Chen M., Xu P., Zeng G., Yang C., Huang D., Zhang J. Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: Applications, microbes and future research needs. *Biotechnology Advances*, 2015, no. 33, pp. 745–755.
- Mambwe M., Kalebaila K.K., Johnson T. Remediation technologies for oil contaminated soil. *Global Journal of Environmental Science and Management*, 2021, no. 7, pp. 419–438.
- Wang M., Chen S., Jia X., Chen L. Concept and types of bioremediation. *Handbook of Bioremediation*. Academic Press, 2021, pp. 3–8. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819382-2.00001-6>
- Rahman K. S. M., Rahman T. J., Kourkoutas Y., Petsas I., Marchant R., Banat I. M. Enhanced bioremediation of n-alkane in petroleum sludge using bacterial consortium amended with rhamnolipid and micronutrients. *Bioresource Technology*, 2003, vol. 90, no. 2, pp. 159–168.
- Pleshakova E. V., Sheshnev A. S., Gerasimov O. A., Glinskaya E. V., Golubev D. M., Nesterkina D. D., Ovechkina A. A. Geochemical and microbiological indication of technogenic transformation of soils in the city of Balakovo (Saratov region). *Transformation of Ecosystems*, 2025, vol. 8, no. 3 (30), pp. 99–117 (in Russian). <https://doi.org/10.23859/estr-240514>
- Fatpure B. Z. Recent studies in microbial degradation of petroleum hydrocarbons in hypersaline environments. *Frontiers in Microbiology*, 2014, vol. 5, pp. 173.
- Minzhen W., Mingzhu D., Yingjin Y. Bioengineering for the microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants. *Bioengineering*, 2023, vol. 3, no. 10, pp. 347–355.
- Chunyan X. The role of microorganisms in petroleum degradation: Current development and prospects. *Science of the Total Environment*, 2023, vol. 865, pp. 500–514.
- Topographic map of the Saratov Region* (in Russian). Available at: <http://www.etomesto.ru/karta2026/?ysclid=lqet4k2zqb560884929> (accessed December 21, 2023).
- Makarov V. Z., Pichugina N. V., Chumachenko A. N. Landscape zoning of the Saratov region. Map. M 1:500000. In: *Ekologo-resursnyi atlas Saratovskoi oblasti. Pod red. V. S. Belova, G. I. Khudyakova* [Belov V. S., Khudyakov G. I., eds. Ecological and Resource Atlas of the Saratov region. Environmental Protection Committee environment and natural resources of the Saratov region, Roskartografiya]. Saratov, VTU GS Publ., 1996, pp. 7 (in Russian).
- Netrusov A. I., Egorova M. A., Zakharchuk L. M. *Praktikum po mikrobiologii* [Practical training in microbiology]. Moscow, Akademiya, 2005. 608 p. (in Russian).
- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Lippincott Williams & Wilkins, 1994. 787 p.
- Khachaturov E. G., Polivanov D. A., Utkin D. V., Shcherbakova N. E., Utkin E. D., Golubev D. M. Molecular biological analysis of the variability of endophytic bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* during vertical and horizontal transport. *Modern Science: Actual Problems of Theory and Practice. Series: Natural and Technical Sciences*, 2024, no. 7, pp. 27–33 (in Russian). <https://doi.org/10.37882/2223-2966.2024.7.38>
- UniProt*. Available at: <http://www.uniprot.org/> (accessed March 13, 2024).
- Belyakov A. Yu., Pleshakova E. V. Screening of microorganisms-destroyers of drilling mud components. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2013, vol. 13, iss. 4, pp. 37–42 (in Russian).
- Uspanova D. M., Murzina Yu. I., Korobeynikova A. S., Glinskaya E. V., Nechaeva O. V. Adaptation microorganisms-oil destructors to physico-chemical environmental factors. *Mechanisms of Adaptation of Microorganisms to Various Environmental Conditions: Abstracts of the Second All-Russ. sci. conf. with Intern. participation (Irkutsk, Feb. 28 – March 6, 2022)*. Irkutsk, Irkutsk State University Publ., 2022, pp. 92–94 (in Russian).
- Tayyeb S. R., Kazemipour N., Hassanshahian M., Rokhbakhs-Zamin F., Khoshroo S. M. R. Microbial community response to biostimulation and bioaugmentation in crude oil-polluted sediments of the Persian Gulf: A microcosm simulation study. *Environmental Research*, 2024, vol. 249, art. 118197. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.118197>
- Adeniji A. O., Okoh O. O., Okoh A. I. Analytical methods for the determination of the distribution of total petroleum hydrocarbons in the water and sediment of aquatic systems: A review. *Journal of Chemistry*, 2017, vol. 2017, pp. 1–13.

Поступила в редакцию 31.10.2025; одобрена после рецензирования 18.11.2025; принята к публикации 20.11.2025  
The article was submitted 31.10.2025; approved after reviewing 18.11.2025; accepted for publication 20.11.2025