

ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ И РАСТЕНИЙ / ECOLOGY OF MICROORGANISMS AND PLANTS

УДК 606:66-911.38(98)+631.4:665.6:
<https://doi.org/10.36906/2311-4444/23-3/01>

*Андреева И.С., Емельянова Е.К.,
Малинкин А.А., Ребус М.Е., Сафатов А.С.*

СКРИНИНГ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ АТМОСФЕРНЫХ АЭРОЗОЛЕЙ АРКТИКИ, НА СПОСОБНОСТЬ К НЕФТЕДЕСТРУКЦИИ

*I.S. Andreeva, E.K. Emelyanova,
A.A. Malinkin, M.E. Rebus, A.S. Safatov*

SCREENING OF BACTERIA ISOLATED FROM ARCTIC ATMOSPHERIC AEROSOLS FOR OIL DEGRADATION ABILITY

Аннотация. В настоящее время существенная часть почвенного покрова в мире подвержена загрязнению, приводящему к его деградации. Среди многочисленных загрязняющих почву веществ значительная роль принадлежит углеводородам нефти. Источниками загрязнения являются предприятия добычи, переработки, транспорта, хранения нефти и нефтепродуктов, при этом ежегодно в мире теряются миллионы тонн. Биологическая рекультивация, основанная на потенциале микроорганизмов трансформировать поллютанты различного происхождения, является наиболее перспективным и экологически безопасным методом восстановления плодородия почв, поэтому поиск новых штаммов для создания и совершенствования таких биопрепаратов является по-прежнему актуальным. Атмосферные аэрозоли являются источником как транзитной, так и эндогенной микробиоты, являющейся метаболически активной по отношению к загрязнителям. Во время комплексной самолетной экспедиции по зондированию атмосферы над акваториями морей Ледовитого океана отобраны образцы аэрозолей для микробиологического анализа. Выделенные культуры микроорганизмов, относящиеся к родам *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Rhodococcus*, тестированы на способность к нефтедеструкции при росте на агаризованной и жидкой среде с добавлением нефти до 2% в качестве единственного источника углерода и инкубировании в течение 10 суток. Биоэмульгирующие и биodeградирующие способности микроорганизмов при росте в жидкой среде оценивали визуально по разрушению поверхностной пленки нефти, помутнению питательной среды за счет увеличения биомассы микроорганизмов, образованию однородной эмульсии нефти в среде, микроскопии культуральных суспензий, а также при их высеве на агаризованную питательную среду для определения

Abstract. Currently, a significant part of the world's soil cover is exposed to negative pollution, leading to its degradation. Oil hydrocarbons play a significant role among numerous soil pollutants. Sources of pollution are enterprises of oil extraction, oil refining, oil and oil products transportation. Every year in the world millions of tons of oil and oil products are lost during extraction, transportation, storage and use. Biological remediation based on the potential of microorganisms to transform pollutants of different origin is the most promising and environmentally safe method of restoring soil fertility, so the search for new strains to create and improve such biological preparations is still relevant. Atmospheric aerosols are a source of both transient and endogenous microbiota, which are metabolically active in relation to pollutants. During a complex airborne expedition on atmospheric sounding over the Arctic Ocean seas samples of aerosols were collected for microbiological analysis. The isolated cultures of microorganisms belonging to the genera *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Rhodococcus* were tested for the ability to oil destruction when growing on agarized and liquid medium with the addition of oil to 2% as the only source of carbon and incubation for 10 days. The bioemulsifying and biodegrading abilities of microorganisms during growth in liquid medium were estimated visually by destruction of the surface film of oil, turbidity of the nutrient medium due to an increase in the biomass of microorganisms, formation of a uniform emulsion of oil in the medium, microscopy of cultural suspensions, and by their seeding on agarized nutrient medium to determine the titer of viable cells. Highly effective mesophilic and

титра жизнеспособных клеток. Из северных атмосферных аэрозолей выделены высокоэффективные мезофильные и психротолерантные бактерии-нефтедеструкторы, которые могут быть применены для создания комплексных биопрепаратов, способных ассимилировать более широкий спектр углеводородов нефти для рекультивации загрязненных почв и грунтов холодных территорий Сибири и Арктики.

Ключевые слова: атмосферные аэрозоли; Арктика; самолетное зондирование; микроорганизмы-нефтедеструкторы; биопрепараты для рекультивации.

Сведения об авторах: Андреева Ирина Сергеевна, ORCID: 0000-0002-3966-3763, канд. биол. наук, Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, г. Новосибирск, Россия, andreeva_is@vector.nsc.ru; Емельянова Елена Константиновна, ORCID: 0000-0003-0970-1447, канд. биол. наук, Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора; Новосибирский государственный медицинский университет, г. Новосибирск, Россия, emelen1@yandex.ru; Малинкин Артем Алексеевич, ORCID: 0009-0008-1732-2803, Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, г. Новосибирск, Россия, malinkin_aa@vector.nsc.ru; Ребус Максим Евгеньевич, ORCID: 0009-0008-1732-2803, Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, г. Новосибирск, Россия, rebus_me@vector.nsc.ru; Сафатов Александр Сергеевич, ORCID: 0000-0002-9161-6438, д-р тех. наук, Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, г. Новосибирск, Россия, safatov@vector.nsc.ru

psychrotolerant oil destructor bacteria were isolated from northern atmospheric aerosols, which can be used to create complex biopreparations capable of assimilating a wider range of oil hydrocarbons for remediation of polluted soils and grounds in cold territories of Siberia and the Arctic.

Keywords: atmospheric aerosols; Arctic; airborne sounding; oil-destroying microorganisms; biopreparations for reclamation.

About the authors: Irina S. Andreeva, ORCID: 0000-0002-3966-3763, Candidate of Biological Sciences, State Research Center of Virology and Biotechnology *Vector* Rospotrebnadzor, Novosibirsk, Russia, andreeva_is@vector.nsc.ru; Elena K. Emelyanova, ORCID: 0000-0003-0970-1447, Candidate of Biological Sciences, State Research Center of Virology and Biotechnology *Vector*, Rospotrebnadzor; Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia, emelen1@yandex.ru; Artem A. Malinkin, ORCID: 0009-0008-1732-2803, State Research Center of Virology and Biotechnology *Vector*, Rospotrebnadzor, Novosibirsk, Russia, malinkin_aa@vector.nsc.ru; Maxim E. Rebus, ORCID: 0009-0008-1732-2803, State Research Center of Virology and Biotechnology *Vector*, Rospotrebnadzor, Novosibirsk, Russia, rebus_me@vector.nsc.ru; Alexander S. Safatov, ORCID: 0000-0002-9161-6438, Doctor of Technical Sciences, State Research Center of Virology and Biotechnology *Vector*, Rospotrebnadzor, Novosibirsk, Russia, safatov@vector.nsc.ru

Андреева И.С., Емельянова Е.К., Малинкин А.А., Ребус М.Е., Сафатов А.С. Скрининг бактерий, выделенных из атмосферных аэрозолей Арктики, на способность к нефтедеструкции // Вестник Нижневартовского государственного университета. 2022. № 3(63). С. 4–17. <https://doi.org/10.36906/2311-4444/23-3/01>

Andreeva, I.S., Emelyanova, E.K., Malinkin, A.A., Rebus, M.E., & Safatov, A.S. (2023). Screening of Bacteria Isolated from Arctic Atmospheric Aerosols for Oil Degradation Ability. *Bulletin of Nizhnevartovsk State University*, (3(63)), 4-17. (in Russ.). <https://doi.org/10.36906/2311-4444/23-3/01>

Нефть и нефтепродукты являются основными загрязнителями окружающей среды [5; 23], что особенно актуально для Сибири – основного нефтегазоносного района России, отличающегося масштабностью распространения загрязнений во всех отраслях нефтегазового комплекса и хозяйственной деятельности, следствием чего является деградация лесных, сельскохозяйственных и водно-болотных угодий, изъятие из хозяйственного землепользования плодородных земель, уничтожение естественных

кормовых ресурсов для диких и домашних животных, токсическое воздействие на человека и все живое [1; 9].

Для ликвидации нефтезагрязнений почвенных и водных экосистем разработаны многочисленные методы и технологии – от сбора разлившейся нефти различными механизмами и приспособлениями до использования сорбентов и фиторемедиации [4; 7; 14; 16]. Применение микроорганизмов-деструкторов нефтепродуктов является экологически приемлемым и эффективным способом очистки почвы и воды в случае загрязнений [2], но имеет определенные ограничения, связанные с масштабом нагрузки загрязнителя на природные экосистемы. При ликвидации на месте аварийного разлива нефти или нефтепродуктов биологические методы малоэффективны, но доочистка экосистемы после удаления основной массы нефтяного загрязнителя механическим или другим путем может быть проведена уже с использованием биотехнологии [17]. Наиболее часто в состав биопрепаратов входят культуры бактерий родов *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Acinetobacter* [6; 10; 11; 12].

Отмечена высокая эффективность применения комплексных препаратов, содержащих более одной культуры, объясняемая тем, что консорциум микроорганизмов ассимилирует широкий спектр углеводов нефти, а также способен использовать промежуточные продукты, образующиеся при ее биодеструкции [27]. Следует также отметить, что биопрепараты на основе аборигенных микроорганизмов, выделенных непосредственно из нефтезагрязненной почвы, уже адаптированы к фракционному составу нефтепродуктов, загрязняющих среду их обитания [8; 18; 25]. При применении аборигенных культур, свойственных для сформировавшихся микробиоценозов, исключается внедрение чужеродных штаммов, способных нарушить его исходную структуру. Для регионов с коротким вегетационным периодом особенно важно применение для очистки загрязненных территорий психротолерантных микроорганизмов, способных сохранять жизнедеятельность и деструктивные способности при пониженных температурах [15; 21]. Поскольку проблема ликвидации нефтезагрязнений в настоящее время стоит исключительно остро, поиск новых штаммов-деструкторов для создания биопрепаратов является по-прежнему актуальным. В данной статье в качестве перспективного источника ценных нефтеутилизирующих микроорганизмов рассмотрены аэрозоли Арктики, сформировавшиеся непосредственно над северными территориями, в том числе местами нефтедобычи [3]. Атмосферные аэрозоли являются источником как транзитной, так и эндогенной микробиоты, являющейся метаболически активной по отношению к загрязнителям.

Цель исследования: скрининг микроорганизмов, выделенных из аэрозолей воздуха Арктики в ходе самолетного зондирования атмосферы, на способность к утилизации нефтепродуктов.

Пробы атмосферных аэрозолей с применением УНУ самолета-лаборатории Ту-134 «Оптик» отобраны в сентябре 2020 г. во время комплексной экспедиции по зондированию атмосферы на высотах от 200 и до 10000 м над акваториями морей Ледовитого океана: Баренцевым, Карским, Лаптевых, Восточно-Сибирским, Чукотским и Беринговым. Отбор 24

образцов атмосферных аэрозолей для микробиологического анализа выполняли с использованием импинджеров МЦ-50, содержащих среду Хенкса объемом 50 мл.

Полученные таким образом суспензии аэрозолей высевали на стандартные жидкие и агаризованные питательные среды (ФБУН «ГНЦ ПМБ» Роспотребнадзора, РФ). Инкубировали емкости с посевами в течение 3–14 суток при температурах 28–30 и 6–10°C. Культуры микроорганизмов, изолированные из аэрозолей Арктики, относящиеся к родам *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Yarrowia* тестировали на способность к нефтедеструкции при высеве на агаризованную и жидкую среду 8E с добавлением по весу (до 1–5%) высоковязкой нефти Усинского месторождения (республика Коми, РФ) со средней плотностью в пределах 0,920–0,986 г/см³ в качестве единственного источника углерода. Состав среды 8E (г/л): (NH₄)₂HPO₄ – 1,5; KH₂PO₄ – 0,7; MgSO₄ × 7H₂O – 0,8; NaCl – 0,5; pH – 7,2.

Инкубирование культур в жидкой среде 8E с добавлением нефти до 2% проводили при принудительной аэрации на качалке (165 об/мин, температура 20–22°C) в течение 10 суток. Биоэмульгирующие и биодеградирующие способности микроорганизмов при росте в жидкой среде оценивали визуально по разрушению поверхностной пленки нефти, помутнению питательной среды за счет увеличения биомассы микроорганизмов, образованию однородной эмульсии нефти в среде, фазово-контрастной микроскопии культуральных суспензий (микроскоп Axioskop 40, «Carl Zeiss», Германия), при их высеве на агаризованную среду для определения титра жизнеспособных клеток. Биоэмульгирующую активность изолированных бактерий по отношению к бензину и керосину определяли методом Д. Купера с модификациями [20].

Выделенные штаммы микроорганизмов хранили при низкотемпературном замораживании в коллекции природных изолятов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Историю движения воздушных масс, из которых осуществлялся отбор проб, определяли при построении 10-дневных обратных траекторий с помощью программы HYSPLIT.

Анализ обратных траекторий движения воздушных масс, из которых осуществлялся отбор проб, показывает, что они не являлись трансокеаническими или трансконтинентальными, их формирование проходило непосредственно над северными территориями суши с дальнейшим продвижением на север. В связи с этим предполагается, что микроорганизмы, захваченные восходящими ветровыми потоками с поверхности грунта в бесснежный период сентября, являлись эндогенными обитателями экосистем севера Сибири, возможно, из мест нефтедобычи.

При тестировании штаммов на способность к росту на агаризованной среде 8E с нефтью показано, что в условиях проведенного опыта большая часть из 42 испытуемых штаммов с разной интенсивностью проявила способность к утилизации нефти при ее концентрации в среде 1–2%. При большей концентрации (5%) способны к росту были только

несколько штаммов, наиболее активно – штамм *Rhodococcus sp.* Sp-116 (табл. 1), для остальных штаммов такая концентрация нефти оказалась токсичной.

Наиболее активные штаммы, отобранные по интенсивности роста на агаризованной среде с нефтью, использованы в опытах при их высеве на жидкую среду 8Е с концентрацией нефти до 2% и инкубировании при принудительной аэрации на качалке в течение 10 суток (рис. 1а).

Таблица 1

**Способность к росту испытываемых штаммов
на агаризованной среде 8Е с нефтью в разной концентрации**

Штамм	Концентрация нефти (%), активность роста		Штамм	Концентрация нефти (%), активность роста		Штамм	Концентрация нефти (%), активность роста	
	2	5		2	5		2	5
Контроль	-	-	Sp-64	+	-	Sp-105	+	-
Sp-1	++	±	Sp-67	+	±	Sp-106	±	-
Sp-2	+	-	Sp-69	±	-	Sp-107	±	-
Sp-12	±	-	Sp-70	±	-	Sp-109	+	-
Sp-16	++	+	Sp-71	+	±	Sp-110	+	-
Sp-17	±	-	Sp-73	+	±	Sp-116	+++	++
Sp-18	+++	+	Sp-75	+	-	Sp-117	+	±
Sp-22	++	+	Sp-76-1	±	-	Sp-118	+	±
Sp-22-1	++	±	Sp-80	+	-	Sp-119	+	±
Sp-29	±	-	Sp-81	±	-	Sp-120	+	-
Sp-38-1	+	±	Sp-83	+	±	Sp-126	+	+
Sp-47	+	±	Sp-90	+	±	Sp-138	+	±
Sp-54	+	-	Sp-91	+	±	Sp-139	+	-
Sp-56	+	-	Sp-94	+	-	Sp-140	±	±
Sp-59	+	-	Sp-100	-	-	Sp-138-1	+	-
Sp-60	+	±	Sp-104	+	-	Sp-138	+	-

Обозначения: «+++» – обильный рост, «++» – активный рост, «+» – умеренный рост, «±» – следовой рост; «-» – отсутствие роста.

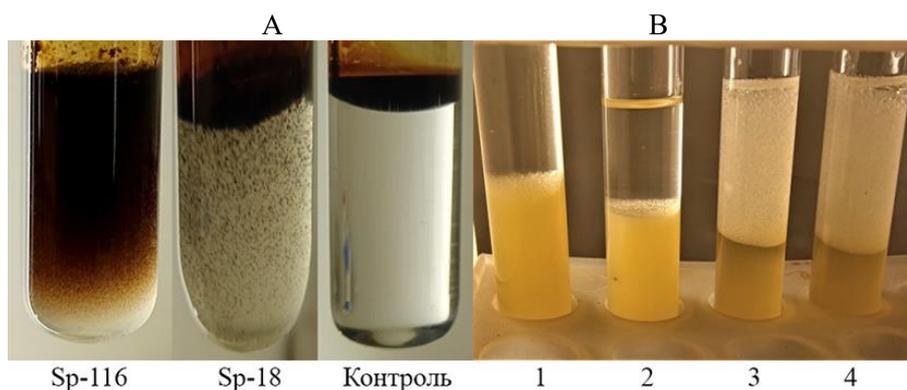


Рис. 1. А – Диспергирование нефти, разрушение поверхностной нефтяной пленки штаммами бактерий *Rhodococcus sp.* Sp-116 и *Acinetobacter sp.* Sp-18; В – Биоэмульгирующая активность штаммов-деструкторов *Rhodococcus sp.* Sp-116 (с бензином 1, керосином 2), *Acinetobacter sp.* Sp-18 (с бензином 3, керосином 4)

Первый этап деградации углеводородов заключается в их окислении с помощью мембран-связанных оксигеназ, обеспечивающий адсорбцию клеток на поверхности нефти и возможность ее утилизации. Кроме того, бактерии-деструкторы способны выделять в

окружающую среду поверхностно-активные соединения (БиоПАВ). Они способствуют расщеплению углеводородной составляющей нефти, образованию мицелл, повышению подвижности, биодоступности для бактерий, тем самым способствуя биоразложению углеводородов [26].

Секреция различных по воздействию на высоковязкую нефть БиоПАВ и, как следствие, формирование разной по структуре эмульсии продемонстрировано на рисунке 1. Выделяют два основных класса БиоПАВ: низкомолекулярные – биосурфактанты (липopeптиды, гликолипиды, пептиды) и высокомолекулярные полимеры – биоэмульгаторы (полисахариды, протеины, липополисахариды, липопротеины или комплекс этих биополимеров). Биосурфактанты снижают поверхностное и межфазное натяжение, а биоэмульгаторы (к которым относятся амфифильные и полифильные полимеры) стабилизируют нефтяную эмульсию [13]. Биосурфактанты и биоэмульгаторы синтезируются микроорганизмами родов *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Yarrowia* и другими [19; 22; 24].

Биоэмульгирующая активность в эксперименте с бензином и керосином по методу Купера для штаммов-деструкторов оценена в пределах от 59 до 69%. Полученная эмульсия стабильно сохранялась на протяжении всего срока наблюдения в течение 1 недели. Для высокоактивного штамма *Rhodococcus sp.* Sp-116, быстро разрушающего пленку нефти и преобразующую ее в микроэмульсию, вспененная часть располагалась нетипично в нижней части раствора в пробирке (рис. 1b), в отличие от всех остальных деструкторов, у которых эмульсия располагалась типично в верхней части раствора, что свидетельствует о разном характере физического воздействия на нефть, секреции различных по химическому составу метаболитов.

Микроскопия суспензий исследуемых микроорганизмов наглядно показала процесс разрушения нефти и ее ассимиляции бактериями, в то время как в контроле без внесения клеток бактерий биодеградация нефти не происходила. На рисунке 2 представлены планктонные и сорбированные клетки штаммов на микрокаплях нефтяной эмульсии на разных этапах деструкции нефти. Наиболее выраженной эмульгирующей способностью обладали штаммы бактерий Sp-1, Sp-2, Sp-16, Sp-18, Sp-67, Sp-80, Sp-90, Sp-109, Sp-116, дрожжей Sp-71, Sp-73, Sp-91. Штамм *Rhodococcus sp.* Sp-116 эффективно трансформировал нефть в устойчивую мелкодисперсную эмульсию уже на третьи сутки культивирования, обладал выраженной сорбирующей способностью по отношению к поверхности нефтяных капель. Штамм *Acinetobacter sp.* Sp-18 был близок по активности, отличался высокой концентрацией планктонных клеток, что может быть связано с особенностями механизма утилизации нефти микроорганизмами этого вида. Среди дрожжей аналогичную, но менее выраженную эмульгацию, демонстрировали штаммы Sp-73, Sp-91.

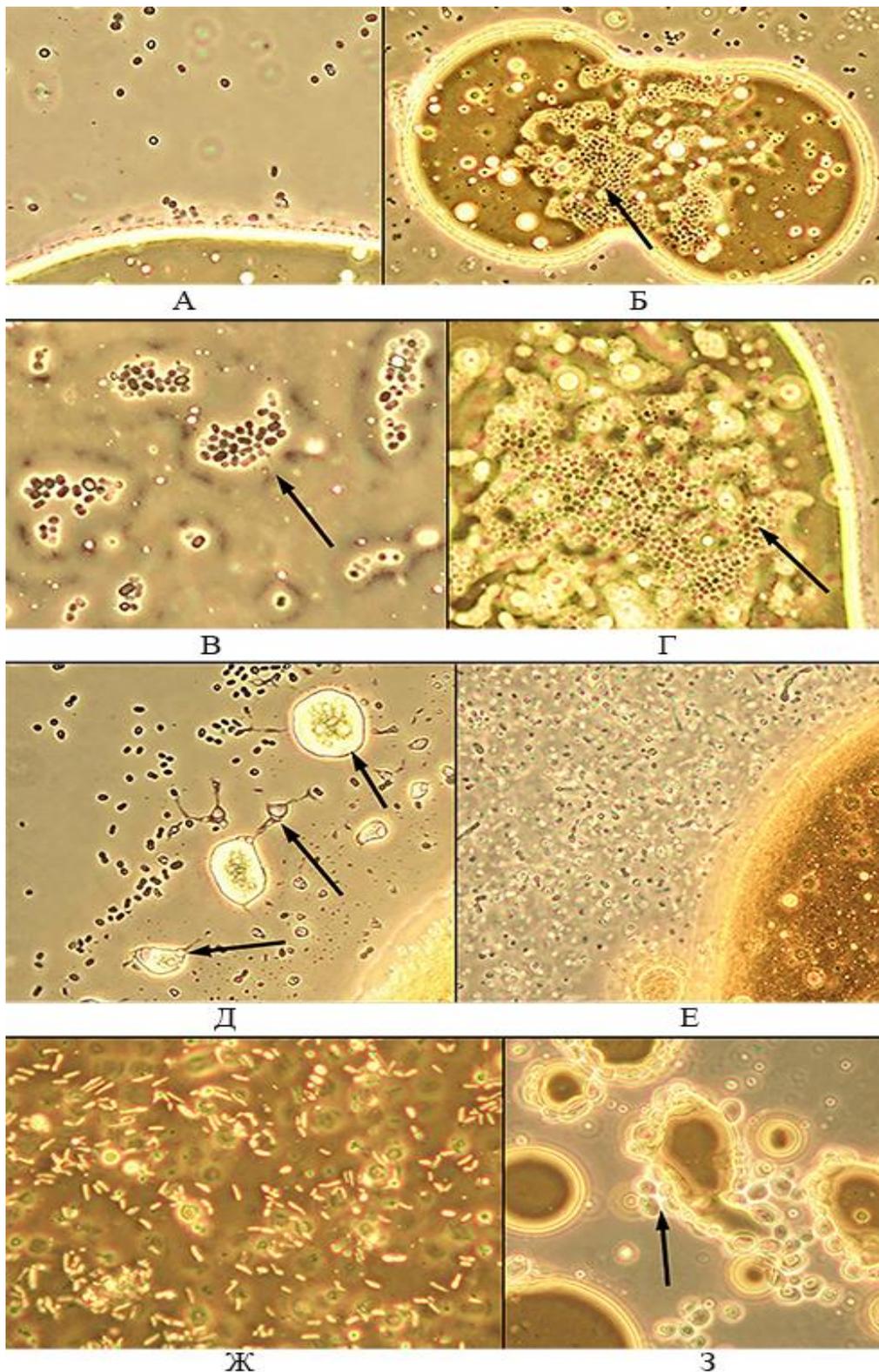


Рис. 2. Планктонные и сорбированные клетки нефтедеструкторов на поверхности микрокапель нефтяной эмульсии при культивировании в жидкой среде 8Е с нефтью (фазовый контраст, $\times 2500$)

В результате адгезии гидрофобные клетки микроорганизмов способны связываться с капельками нефти и подниматься с ними вверх к границе раздела фаз «вода – воздух», после чего нижний слой культуральной жидкости становится, практически, прозрачным, и лишь при встряхивании наблюдается равномерное распределение эмульсии. Разрушение

сплошности нефтяной пленки и ее утилизация микроорганизмами может осуществляться как за счет контакта в результате сорбции клеток на поверхности капель нефти, так и за счет поглощения сольоблизированных капель, сформированных в результате синтеза биосурфактантов, которые, в свою очередь, могут как продуцироваться в окружающую среду, так и фиксироваться на поверхности клеточных стенок или располагаться внутриклеточно. Для биодegradации нефти микроорганизмами эмульгирование имеет решающее значение, поскольку оно увеличивает площадь раздела фаз «нефть – вода» и скорость растворения нефтяных соединений: по мере уменьшения размера капель увеличивается скорость биодеструкции. Биомасса бактерий *Rhodococcus sp.* Sp-116 и *Acinetobacter sp.* Sp-18 или их биоэмульгирующие агенты, демонстрирующие различные типы эмульгации нефти, могут быть использованы как для целей биоремедиации, очистки нефтезагрязненного оборудования, удаления нефти из загрязненных сорбентов для их вторичного применения, так и для повышения нефтеотдачи пластов в результате десорбции от породы, поскольку являются биосовместимыми, безвредными, биоразлагаемыми.

Важно, что в результате выполненной работы обнаружены штаммы, способные к деструкции трудно утилизируемой высоковязкой нефти тяжелого типа, пригодные для совместного взаимодополняющего применения при создании комплексных бактериальных препаратов.

Сделана попытка учета концентрации клеток в суспензиях при культивировании штаммов-деструкторов в жидкой среде 8Е. К сожалению, по причине объединения большого количества клеток, утилизирующих нефть, в сорбированном виде в конгломераты, этот учет не может быть точным, будет заниженным, и, в основном, относится к клеткам планктонным, находящимся в суспензии в свободном состоянии. Тем не менее, полученные данные (табл. 2) позволяют в некотором приближении оценить количество жизнеспособных клеток в полученных суспензиях на разных этапах культивирования.

Пояснения к рисунку 2: А – сорбция клеток деструктора на поверхности микрокапли нефти; Б, В, Г – развитие биопленки клеток деструкторов на каплях нефтяной суспензии; Д – активная утилизация нефти, стрелками указаны уменьшающиеся капли эмульсии и их остатки; Е – резко возросшая концентрация планктонных клеток штамма *Acinetobacter sp.* Sp-18 к окончанию срока культивирования; Ж – клетки нефтедеструктора *Rhodococcus sp.* Sp-116, сорбированные на поверхности микрокапли нефтяной суспензии; З – клетки нефтедеструктора *Yarrowia lipolytica* Y-979, утилизирующие нефтяную суспензию.

Снижение титра клеток к концу культивирования (10 сут.) может быть связано с исчерпанием необходимых компонентов питательной среды и легкоутилизируемых компонентов нефти, накоплением собственных метаболитов, угнетающих дальнейший рост культуры. Для наиболее активных штаммов титр жизнеспособных планктонных клеток к концу длительного культивирования в ограниченном объеме оказался достаточно высоким, достигая $1-5 \times 10^{7-8}$ КОЕ/мл суспензии (табл. 2).

Таблица 2

**Титр жизнеспособных клеток при культивировании штаммов-деструкторов
в жидкой среде 8E с нефтью**

Штамм	Время культивирования (сут.) / титр клеток (КОЕ/мл)		Штамм	Время культивирования (сут.) / титр клеток (КОЕ/мл)	
	5	10		5	10
Sp-1	$5,0 \times 10^6$	$4,3 \times 10^7$	Sp-90	$3,0 \times 10^6$	$3,3 \times 10^5$
Sp-16	$5,6 \times 10^6$	$3,7 \times 10^7$	Sp-109	$2,5 \times 10^5$	$4,0 \times 10^3$
Sp-18	$2,3 \times 10^6$	$2,2 \times 10^8$	Sp-116	$4,3 \times 10^6$	$8,2 \times 10^7$
Sp-22	$5,6 \times 10^6$	$3,3 \times 10^7$	Sp-126	нет данных	$2,0 \times 10^3$
Sp-67	$3,1 \times 10^6$	$2,3 \times 10^7$	Sp-138-1	$2,3 \times 10^4$	$5,3 \times 10^4$

Следует отметить, что часть штаммов нефтедеструкторов Sp-1, Sp-2, Sp-16, Sp-18, Sp-109, Sp-116 и др. (табл. 3), являются психротолерантными бактериями, способными к росту при пониженных температурах, что исключительно важно для применения в северных регионах при биорекультивации нефтезагрязненных территорий.

Таблица 3

Способность исследуемых штаммов к росту при разном температурном режиме

Штамм	Температура культивирования, °C			Штамм	Температура культивирования, °C		
	6-9	20-22	37		6-9	20-22	37
Sp-1	++	++	++	Sp-73	-	+++	+
Sp-2	++	++	++	Sp-90	-	++++	++++
Sp-16	++	++++	+++	Sp-104	-	++++	++++
Sp-18	++	++++	+++	Sp-109	++	++++	++++
Sp-22	++	++++	++++	Sp-110	++	++++	++++
Sp-38	-	++	-	Sp-116	++	++++	±
Sp-56	-	++++	+++	Sp-120	-	++++	++++
Sp-59	-	++++	++++	Sp-126	-	+++	++
Sp-60	-	++++	+++	Sp-138	++	+++	+++
Sp-67	-	++++	+++	Sp-138-1	++	++++	+++

Обозначение: «++++» – обильный рост культуры, «+++» – активный рост, «++» – умеренный рост, «+» – слабый рост, «±» – следовый рост, «-» – отсутствие роста.

Использование в биопрепаратах аборигенных культур, свойственных для экосистем данного географического района и адаптированных к существующим климатическим условиям в целях рекультивации позволяет исключить интродукцию посторонних штаммов, нарушающих структуру данного биоценоза.

Из аэрозолей Арктики изолированы высокоэффективные бактерии и дрожжи, утилизирующие трудно усвояемую вязкую нефть с различным механизмом биоэмульгации за короткий период времени. Источником формирования аэрозолей являлись территории севера Западной Сибири. Исследуемые в настоящей работе микроорганизмы, выделенные из арктических атмосферных аэрозолей, могут быть применены для создания консорциумов микроорганизмов, способных ассимилировать более широкий спектр углеводов нефти для применения на проблемных территориях Сибири и Арктики. Применение аборигенных

микробных культур для биоремедиации обеспечивает сохранность северных биогеоценозов от интродукции посторонними штаммами, которые могут нарушить их структуру.

Работа выполнена в рамках ГЗ 11/21.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности: организаторам арктической экспедиции и команде УНУ самолета-лаборатория Ту-134 «Оптик» – за возможность участия в уникальном эксперименте; Буряк Г.А. – за расчет обратных траекторий движения атмосферного воздуха; Охлопковой О.В. – за отбор проб арктических атмосферных аэрозолей для микробиологического анализа.

Литература

1. Аветов Н.А., Шишконокова Е.А. Загрязнение нефтью почв таежной зоны Западной Сибири // Бюллетень Почвенного института им. В.В. Докучаева. 2011. №68. С. 45–55. <https://doi.org/10.19047/0136-1694-2011-68-45-55>
2. Андреева И.С., Емельянова Е.К., Олькин С.Е., Резникова И.К., Загребельный С.Н., Репин В.Е. Утилизация углеводов психротолерантными штаммами-деструкторами // Прикладная биохимия и микробиология. 2007. Т. 43. №2. С. 223–228.
3. Андреева И.С., Сафатов А.С., Пучкова Л.И., Емельянова Е.К., Буряк Г.А., Олькин С.Е., Резникова И.К., Охлопкова О.В. Культивируемые микроорганизмы в высотных пробах аэрозолей воздуха севера Сибири в ходе самолетного зондирования атмосферы // Вестник Нижневартовского государственного университета. 2019. №2. С. 3–11.
4. Борисова Е.А., Красноперова С.А. Разработка предложений по рекультивации шламовых амбаров на предприятии ОАО «Сургутнефтегаз» // Нефтяная провинция. 2019. №4(20). С. 352–367. <https://doi.org/10.25689/NP.2019.4.352-367>
5. Быкова М.В., Пашкевич М.А. Проблема промышленного загрязнения почв нефтепродуктами // Тенденции развития науки и образования. 2020. №67-1. С. 82–86. <https://doi.org/10.18411/lj-11-2020-22>
6. Горбаев А.В. Применение бактерий *Rhodococcus erythropolis* для получения из нефтешламов искусственного грунта технического в условиях Восточной Сибири // Вестник Евразийской науки. 2021. Т. 13. №6. URL: <https://esj.today/PDF/39NZVN621.pdf>
7. Запезалов В.Н. Содержание рекультивационных работ при строительстве и эксплуатации объектов нефтегазового комплекса (на примере Самотлорского месторождения нефти в Ханты-мансийском автономном округе Тюменской области) // Московский экономический журнал. 2022. Т. 7. №1. С. 88–99. https://doi.org/10.55186/2413046X_2022_7_1_41
8. Калюжин В.А. Использование аборигенных видов микроорганизмов при комплексных работах по очистке территорий от последствий разливов нефти // Вестник Томского государственного университета. 2009. №327. С. 200–201.
9. Климов О.В., Казьмин С.П. Экологический мониторинг загрязнения природной среды в районах разработки нефтяных месторождений Западной Сибири // Труды

Сибирского регионального научно-исследовательского гидрометеорологического института. 2021. №107. С. 147–160.

10. Коршунова Т.Ю., Кузина Е.В., Рафикова Г.Ф., Логинов О.Н. Бактерии рода *Pseudomonas* для очистки окружающей среды от нефтяного загрязнения // Экобиотех. 2020. Т. 3. №1. С. 18–32. <http://doi.org/10.31163/2618-964X-2020-3-1-18-32>

11. Логинова О.О., Данг Т.Т., Белоусова Е.В., Грабович М.Ю. Использование штаммов рода *Acinetobacter* для биоремедиации нефтезагрязненных почв на территории Воронежской области // Вестник ВГУ. 2011. №2. С. 127–133.

12. Лыонг Т.М., Нечаева И.А., Петриков К.В., Пунтус И.Ф., Понаморев О.Н. Бактерии нефтедеструкторы рода *Rhodococcus* – потенциальные продуценты биосурфактантов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2016. №1. С. 50–60.

13. Лыонг Т.М., Нечаева И.А., Понаморев О.Н. Методы скрининга биосурфактант-продуцирующих бактерий (мини обзор) // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. 2019. С. 98–111. <https://doi.org/10.24411/2071-6176-2019-10405>

14. Окмянская В.М. К вопросу о рекультивации нарушенных земель на примере месторождения Ямало-ненецкого автономного округа // International Agricultural Journal. 2022. Т. 65. №6. С. 1068–1083. https://doi.org/10.55186/25876740_2023_7_2_14

15. Пырченкова И.А., Гафаров А.Б., Пунтус И.Ф., Филонов А.Е., Боронин А.М. Выбор и характеристика активных психротрофных микроорганизмов-деструкторов нефти // Прикладная биохимия и микробиология. 2006. Т. 42. №3. С. 298–305.

16. Рогова Н.С. Причины неэффективности рекультивации нефтезагрязненных земель в Западной Сибири // Геоэкология. Инженерная геология, гидрогеология, геокриология. 2020. №1. С. 82–85. <https://doi.org/10.31857/S0869780920010172>

17. Рогозина Е.А., Андреева О.А., Жаркова С.И., Мартынова Д.А. Сравнительная характеристика отечественных биопрепаратов, предлагаемых для очистки почв и грунтов от загрязнения нефтью и нефтепродуктами // Нефтегазовая геология. Теория и практика. 2010. Т. 5. №3. С. 1–18.

18. Яппаров А.Х., Дегтярева И.А., Хидиятуллина А.Я. Использование эффективных аборигенных углеводородокисляющих микроорганизмов при биологической рекультивации нефтезагрязненных территорий РТ // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. 2009. Т. 199. С. 218–222.

19. Cappelletti M., Presentato A., Piacenza E., Firrincieli A., Turner R.J., Zannoni D. Biotechnology of *Rhodococcus* for the production of valuable compounds // Applied Microbiology and Biotechnology. 2020. Vol. 104. P. 8567–8594. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10861-z>

20. Cooper D.G., Goldenberg B.G. Surface active agents from two *Bacillus* species // Appl. Environ. Microbiol. 1987. Vol. 53. №2. P. 224–229.

21. Emelyanova E., Andreeva I., Zagrebel'ny S., Repin V. Psychrotolerant oil-degrading microorganisms for Bioremediation // Environmental Engineering and Management Journal. 2006. Vol. 5. №2. P. 169–179. <https://doi.org/10.30638/eemj.2006.013>

22. Kumari B. Singh S.N., Singh D.P. Characterization of two biosurfactant producing strains in crude oil degradation // *Process Biochemistry*. 2012. №47. P. 2463–2471. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.10.010>
23. Robertson L.W., Hansen L.G. PCBs: Recent advances in environmental toxicology and health effects. University press of Kentucky, 2015. 496 p.
24. Toren A., Navon-Venezia S., Ron E.Z., Rosenberg E. Emulsifying activities of purified Alasan proteins from *Acinetobacter radioresistens* KA53 // *Journal of Applied & Environmental Microbiology*. 2001. Vol. 67(3). P. 1102–1106. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.3.1102-1106.2001>
25. Tuo B.-H. Biodegradation characteristics and bioaugmentation potential of a novel quinoline-degrading strain of *Bacillus* sp. isolated from petroleum-contaminated soil // *Bioresource Technology*. 2012. №107. P. 55–60. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.114>
26. Varjani S.J., Upasani V.N. A new look on factors affecting microbial degradation of petroleum hydrocarbon pollutants. // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2017. Vol. 120. P. 71–83. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.02.006>
27. Vinothini C., Sudhakar S., Ravikumar R. Biodegradation of petroleum and crude oil by *Pseudomonas putida* and *Bacillus cereus* // *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2015. Vol. 4. №1. P. 318–329.

References

1. Avetov, N.A., & Shishkonakova, E.A. (2011). Zagriaznenie nef'tiu poch v taezhnoizony Zapadnoi Sibiri. *Biulleten' Pochvennogo instituta im. V.V. Dokuchaeva*, (68), 45-55. <https://doi.org/10.19047/0136-1694-2011-68-45-55> (in Russ.).
2. Andreeva, I.S., Emel'ianova, E.K., Ol'kin, S.E., Reznikova, I.K., Zagrebel'nyi, S.N., & Repin, V.E. (2007). Utilizatsiia uglevodorodov psikhrotolerantnymi shtammami-destruktorami. *Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologiya*, 43(2), 223-228. (in Russ.).
3. Andreeva, I.S., Safatov, A.S., Puchkova, L.I., Emel'ianova, E.K., Buriak, G.A., Ol'kin, S.E., Reznikova, I.K., & Okhlopko, O.V. (2019). Kul'tiviruemye mikroorganizmy v vysotnykh probakh aerolei vozdukh severa Sibiri v khode samoletnogo zondirovaniia atmosfery. *Vestnik Nizhnevartovskogo gosudarstvennogo universiteta*, (2), 3-11. (in Russ.).
4. Borisova, E.A., & Krasnoperova, S.A. (2019). Razrabotka predlozhenii po rekul'tivatsii shlamovykh ambarov na predpriatii OAO "Surgutneftegaz". *Neftianaiia provintsiiia*, 4(20), 352-367. <https://doi.org/10.25689/NP.2019.4.352-367> (in Russ.).
5. Bykova, M.V., & Pashkevich, M.A. (2020). Problema promyshlennogo zagriazneniia pochv nefteproduktami. *Tendentsii razvitiia nauki i obrazovaniia*, (67-1), 82-86. <https://doi.org/10.18411/lj-11-2020-22> (in Russ.).
6. Gorbaev, A.V. (2021). Primenenie bakterii *Rhodococcus erythopolis* dlia polucheniia iz nefteshlamov iskusstvennogo grunta tekhnicheskogo v usloviakh Vostochnoi Sibiri. *Vestnik Evraziiskoi nauki*, 13(6). URL: <https://esj.today/PDF/39NZVN621.pdf> (in Russ.).
7. Zapevalov, V.N. (2022). Soderzhanie rekul'tivatsionnykh rabot pri stroitel'stve i ekspluatatsii ob'ektov neftegazovogo kompleksa (na primere Samotlorskogo mestorozhdeniia nef'ti

v Khanty-mansiiskom avtonomnom okruge Tiimenskoi oblasti). *Moskovskii ekonomicheskii zhurnal*, 7(1), 88-99. https://doi.org/10.55186/2413046X_2022_7_1_41 (in Russ.).

8. Kaliuzhin, V.A. (2009). Ispol'zovanie aborigennykh vidov mikroorganizmov pri kompleksnykh rabotakh po ochildke territorii ot posledstviia razlivov nefii. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta*, (327), 200-201. (in Russ.).

9. Klimov, O.V., & Kaz'min, S.P. (2021). Ekologicheskii monitoring zagriazneniia prirodnoi sredy v raionakh razrabotki nefiianyykh mestorozhdenii Zapadnoi Sibiri. *Trudy Sibirskogo regional'nogo nauchno-issledovatel'skogo gidrometeorologicheskogo instituta*, (107), 147-160. (in Russ.).

10. Korshunova, T.Iu., Kuzina, E.V., Rafikova, G.F., & Loginov, O.N. (2020). Bakterii roda *Pseudomonas* dlia ochildki okruzhaiushchei sredy ot nefiianogo zagriazneniia. *Ekobiotekh*, 3(1), 18-32. <http://doi.org/10.31163/2618-964X-2020-3-1-18-32> (in Russ.).

11. Loginova, O.O., Dang, T.T., Belousova, E.V., & Grabovich, M.Iu. (2011). Ispol'zovanie shtammov roda *Acinetobacter* dlia bioremediatsii neftezagriaznennykh pochv na territorii Voronezhskoi oblasti. *Vestnik VGU*, (2), 127-133. (in Russ.).

12. Lyong T.M., Nechaeva I.A., Petrikov K.V., Puntus I.F., & Ponamoreva O.N. (2016). Bakterii neftestruktorov roda *Rhodococcus* – potentsial'nye produksenty biosurfaktantov. *Izvestiia vuzov. Prikladnaia khimiia i biotekhnologii*, (1), 50-60. (in Russ.).

13. Lyong, T.M., Nechaeva, I.A., & Ponamoreva, O.N. (2019). Metody skringa biosurfaktant-produksiruiushchikh bakterii (mini obzor). *Izvestiia Tul'skogo gosudarstvennogo universiteta. Estestvennye nauki*, 98-111. <https://doi.org/10.24411/2071-6176-2019-10405>. (in Russ.).

14. Okmianskaia, V.M. (2022). K voprosu o rekul'tivatsii narushennykh zemel' na primere mestorozhdeniia Iamalno-nenetskogo avtonomnogo okruga. *International Agricultural Journal*, 65(6), 1068-1083. https://doi.org/10.55186/25876740_2023_7_2_14. (in Russ.).

15. Pyrchenkova, I.A., Gafarov, A.B., Puntus, I.F., Filonov, A.E., & Boronin, A.M. (2006). Vybor i kharakteristika aktivnykh psikhrotrofnykh mikroorganizmov-destruktorov nefii. *Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologii*, 42(3), 298-305. (in Russ.).

16. Rogova, N.S. (2020). Prichiny neeffektivnosti rekul'tivatsii neftezagriaznennykh zemel' v Zapadnoi Sibiri. *Geoekologii. Inzhenernaia geologii, gidrogeologii, geokriologii*, (1), 82-85. <https://doi.org/10.31857/S0869780920010172>. (in Russ.).

17. Rogozina, E.A., Andreeva, O.A., Zharkova, S.I., & Martynova, D.A. (2010). Sravnitel'naia kharakteristika otechestvennykh biopreparatov, predlagaemykh dlia ochildki pochv i gruntov ot zagriazneniia nefi'iu nefteproduktami. *Neftegazovaia geologii. Teorii i praktika*, 5(3), 1-18. (in Russ.).

18. Iapparov, A.Kh., Degtiareva, I.A., & Khidiiatullina, A.Ia. (2009). Ispol'zovanie effektivnykh aborigennykh uglevodorodokisliaiushchikh mikroorganizmov pri biologicheskoi rekul'tivatsii neftezagriaznennykh territorii RT. *Uchenye zapiski KGAVM im. N.E. Baumana*, (199), 218-222. (in Russ.).

19. Cappelletti, M., Presentato, A., Piacenza, E., Firrincieli, A., Turner, R.J., & Zannoni, D. (2020). Biotechnology of *Rhodococcus* for the production of valuable compounds. *Applied Microbiology and Biotechnology*, (104), 8567–8594. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10861-z>
20. Cooper, D.G., Goldenberg, B.G. (1987). Surface active agents from two *Bacillus* species. *Appl. Environ. Microbiol*, 53(2), 224-229.
21. Emelyanova, E., Andreeva, I., Zagrebel'ny, S., & Repin, V. (2006). Psychrotolerant oil-degrading microorganisms for Bioremediation. *Environmental Engineering and Management Journal*, 5(2), 169-179. <https://doi.org/10.30638/eemj.2006.013>
22. Kumari, B. Singh, S.N., & Singh, D.P. (2012). Characterization of two biosurfactant producing strains in crude oil degradation. *Process Biochemistry*, (47), 2463-2471. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.10.010>
23. Robertson, L.W., & Hansen, L.G. (2015). PCBs: Recent advances in environmental toxicology and health effects. University press of Kentucky, 496 p.
24. Toren, A., Navon-Venezia, S., Ron, E.Z., & Rosenberg, E. (2001). Emulsifying activities of purified Alasan proteins from *Acinetobacter radioresistens* KA53. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 67(3). 1102-1106. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.3.1102-1106.2001>
25. Tuo, B.-H. (2012). Biodegradation characteristics and bioaugmentation potential of a novel quinoline-degrading strain of *Bacillus* sp. isolated from petroleum-contaminated soil. *Bioresource Technology*, (107), 55-60. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.114>
26. Varjani, S.J., & Upasani ,V.N. (2017). A new look on factors affecting microbial degradation of petroleum hydrocarbon pollutants. *International Biodeterioration & Biodegradation*, (120), 71-83. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.02.006>
27. Vinothini, C., Sudhakar, S., & Ravikumar, R. (2015). Biodegradation of petroleum and crude oil by *Pseudomonas putida* and *Bacillus cereus*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(1), 318-329.

Дата поступления: 31.05.2023

Дата принятия: 05.09.2023

© Андреева И.С., Емельянова Е.К., Малинкин А.А., Ребус М.Е., Сафатов А.С., 2023