

Оригинальная статья

УДК 579.26:579.222

<https://doi.org/10.35885/1684-7318-2022-2-216-231>

БИОРЕМЕДИАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ АБОРИГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ЧЕРНОЗЕМА ЮЖНОГО

Д. М. Успанова¹, Ю. И. Мурзина², А. С. Коробейникова²,
А. М. Петерсон², Е. В. Глинская^{2✉}, К. А. Арефьев¹, О. В. Нечаева¹

¹ Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А.
Россия, 410054, г. Саратов, ул. Политехническая, д. 77

² Саратовский национальный исследовательский государственный университет
имени Н. Г. Чернышевского
Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Поступила в редакцию 17.02.2022 г., после доработки 22.03.2022 г., принята 24.03.2022 г.

Аннотация. В ходе проведенных исследований были выделены основные группы почвенных микроорганизмов чернозема южного, установлена устойчивость изолятов к действию нефти в диапазоне концентраций 15 – 25%, возможность использования ее в качестве источника углерода, способность почвенной микробиоты к биодеструкции нефти в загрязненной почве, а также устойчивость бактерий к низким температурам, высоким концентрациям NaCl, кислото- и щелочеустойчивость. Из образцов незагрязненной почвы подтипа чернозем южный было выделено 15 родов гетеротрофных бактерий, отнесенных к 31 виду. Оценка динамики численности микроорганизмов, выделенных из лабораторно загрязненных почв, показала, что в результате воздействия нефти происходило значительное снижение численности микроорганизмов – к 180 сут. эксперимента выделялись 10 видов бактерий, относящихся к 3 родам: *Bacillus*, *Micrococcus* и *Serratia*. Среди выделенных бактерий устойчивость к действию поллютанта в концентрации 25% установлена для *B. coagulans*, *B. mojavensis*, *B. megaterium*, *M. luteus*, а также для музейного штамма *B. pumilus* KM. При культивировании исследуемых штаммов бактерий на безуглеродной среде М9 с добавлением нефти 15 и 20% установлена их способность использовать нефтяные углеводороды в качестве единственного источника углерода, однако при повышении концентрации до 25% данную способность сохраняли только *M. luteus*, *B. mojavensis* и *B. pumilus* KM. Присутствие в образцах почвы углеводородокисляющих бактерий способствовало снижению массовой концентрации нефти на 42% в течение 180 суток. Наиболее значимое уменьшение концентрации нефтепродукта происходило в период с 10-х по 30-е сутки и составило 25%, что, вероятно, связано с возрастанием численности гетеротрофных бактерий. Способность к росту при температуре +4°C установлена для представителей рода *Bacillus*, в том числе и для музейного штамма *B. pumilus* KM, в условиях кислой среды (pH 5) сохраняли жизнеспособность.

✉ Для корреспонденции. Кафедра микробиологии и физиологии растений Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского.

ORCID и e-mail адреса: Успанова Динара Марзагалеевна: <https://orcid.org/0000-0002-3745-9494>, dinarka_-14@mail.ru; Мурзина Юлия Игоревна: <https://orcid.org/0000-0003-2049-7264>, yuliya.murzina.2000@mail.ru; Коробейникова Анастасия Сергеевна: <https://orcid.org/0000-0002-3157-693X>, korobeinikovaanastasija@yandex.ru; Петерсон Александра Михайловна: <https://orcid.org/0000-0003-2896-5739>, alexandra.peterson@yandex.ru; Глинская Елена Владимировна: <https://orcid.org/0000-0002-1675-5438>, elenavg-2007@yandex.ru; Арефьев Кирилл Алексеевич: <https://orcid.org/0000-0003-0717-1921>, ka.arefiev64@mail.ru; Нечаева Ольга Викторовна: <https://orcid.org/0000-0003-3331-1051>, olgav.nechaeva@rambler.ru.

© Успанова Д. М., Мурзина Ю. И., Коробейникова А. С., Петерсон А. М., Глинская Е. В., Арефьев К. А., Нечаева О. В., 2022

способность 4 штамма бацилл, в щелочной среде (рН 9) – 7 штаммов бацилл, а также *M. luteus* и *S. plymuthica*. Исследуемые штаммы бактерий росли на ГРМ-агаре с концентрацией NaCl 7%, способность к росту при концентрации NaCl 15% сохранял только музейный штамм *B. pumillus* КМ. Полученные результаты открывают перспективы использования углеводородокисляющих бактерий с высоким адаптивным потенциалом в качестве потенциальных деструкторов нефти, способных осуществлять ее биодegradацию, в том числе при низких температурах, в условиях высокой засоленности и в широком диапазоне рН среды.

Ключевые слова: нефть, аборигенные штаммы бактерий, адаптация бактерий, биодеструкция

Для цитирования. Успанова Д. М., Мурзина Ю. И., Коробейникова А. С., Петерсон А. М., Глинская Е. В., Арефьев К. А., Нечаева О. В. Биоремедиационный потенциал аборигенных микроорганизмов чернозема южного // Поволжский экологический журнал. 2022. № 2. С. 216 – 231. <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2022-2-216-231>

ВВЕДЕНИЕ

Нефть и нефтепродукты относятся к группе приоритетных загрязнителей, масштабное попадание которых в окружающую природную среду способствует нарастанию экологической нестабильности во всем мире (Барабанщиков, Сердюкова, 2016; Елинский и др., 2020). По химическому составу нефть является смесью сложных углеводородов, содержащих широкий спектр примесей, которые характеризуются кумулятивной способностью, оказывая токсическое действие на живые организмы, способны вызывать мутации и стимулировать канцерогенез (Оруджев, Джафарова, 2017). Наиболее подвержена нефтяному загрязнению почва, в которую углеводороды попадают в ходе добычи, транспортировки, различных технологических схем переработки. Проникая в почву, нефть распределяется по ее профилю, приводя к изменению агрохимических свойств, нарушению дыхательной и ферментативной функции (Galitskaya et al., 2021; Melekhina et al., 2021).

Почвенная микробиота проявляет вариабельную чувствительность к действию поллютанта, которая неодинакова для различных физиологической групп микроорганизмов, а также зависит от состава нефтепродуктов и длительности воздействия (Алимбетова и др., 2016; Polyak et al., 2018). С одной стороны, компоненты нефти могут оказывать токсическое действие на микроорганизмы, а с другой – выступать в качестве источника углеродного питания. Уровень токсического воздействия зависит от преобладающих фракций нефтепродукта и убывает в ряду ароматические углеводороды > циклопарафины > олефины > парафины (Новоселова и др., 2014). Присутствие углеводородов нефти в почве приводит к увеличению количества азотфиксаторов, аммонификаторов, денитрификаторов и снижению актиномицетов и целлюлозоразлагающих бактерий (Кириенко, Имранова, 2015; Михайлова и др., 2016; Alotaibi et al., 2018). Особую группу составляют углеводородокисляющие бактерии (УОБ), в отношении которых нефтепродукты оказывают стимулирующее действие, приводя к возрастанию их численности и длительному сохранению на загрязненных территориях (Гоголева, Немцева, 2012; Mikolasch et al., 2019). УОБ выделяются из почв с хроническим нефтяным загрязнением и преимущественно представлены сапрофитами, относящимися к родам *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*,

Pseudomonas и др. Им принадлежит определяющая роль в процессах биodeградации нефтепродуктов в почве (Шапино и др., 2018; Коршунова и др., 2019; Сафаров и др., 2019; Al-Hawash et al., 2018; Puustinen et al., 2020).

Ликвидация нефтяных загрязнений может осуществляться различными способами, однако применение биотехнологических методов является наиболее эффективным и экономически выгодными (ГОСТ Р 57447-2017; Франк и др., 2020; Плеханова, Холкин, 2021). В последнее время для проведения реабилитационных мероприятий предпочтение отдается аборигенным штаммам УОБ, для активации которых используют два подхода: биостимуляцию *in situ* и биостимуляцию *in vitro* с последующей реинтродукцией (Thara et al., 2012). В первом случае создаются оптимальные условия для УОБ непосредственно на месте загрязнения путем внесения необходимых макро- и микроэлементов, аэрации и др., а во втором случае проводится их биостимуляция в лабораторных условиях с последующим внесением на загрязненные территории. Для большинства УОБ оптимальными условиями для роста и размножения являются температура +28°C, значения pH близкие к нейтральным (6.7 – 7.4) и содержание NaCl в среде до 2%. Однако в условиях окружающей среды эти показатели значительно отличаются от оптимальных. Поэтому в случае техногенных аварий, возникающих в ходе нефтедобычи, эффективность естественной биоремедиации может быть достаточно низкой.

Целью работы являлось изучение адаптивных способностей микроорганизмов-нефтедеструкторов к действию физико-химических факторов окружающей среды.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в период с 2016 по 2021 г. Объектом исследования являлась почва подтипа чернозем южный, который широко распространен в Правобережье Саратовской области, здесь на его долю приходится более 10% площади (Болдырев, 1997). Отбор проб почвы проводили в стерильные контейнеры согласно рекомендациям и доставляли в лабораторию в течение суток (ГОСТ 17.4.3.01-2017, ГОСТ 17.4.4.02-2017). В качестве поллютанта использовали нефть Соколовогорского нефтяного месторождения (Волго-Уральский нефтяной бассейн, Саратов, Россия). Нефти данного месторождения легкие, маловязкие, малосернистые (класс I), малосмолистые, выход светлых фракций – высокий, парафиновые (вид П2) (Требин и др., 1980).

Навески подготовленных образцов почвы по 500 г помещали в контейнеры. В опытную пробу вносили нефть в количестве 10% от массы почвы и измеряли массовую долю нефтепродуктов в почвенной вытяжке. В качестве контрольной использовали почву без добавления загрязнителя. Образцы почвы помещали в климатостат КС-200 (СКТБ, Россия) при температуре 20°C. Уровень влажности поддерживали на постоянном уровне, осуществляя полив образцов деионизированной водой.

Для выделения гетеротрофных и углеводородокисляющих микроорганизмов и изучения их устойчивости к действию поллютанта использовали соответствующие питательные среды: ГРМ-агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия), ГРМ-агар и среда М9

БИОРЕМЕДИЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ АБОРИГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

с добавлением 15, 20 и 25% нефти. Для определения количественных показателей микроорганизмов почвы применяли методы последовательных разведений и поверхностного высева на плотные питательные среды (Практикум по микробиологии, 2005). Посевы инкубировали в термостате при температуре +28°C в течение 1 – 3 суток, далее осуществляли количественный учет выросших колоний. Высевы проводили на 1-, 10-, 30-, 60- и 180-е сутки с момента внесения поллютанта в почву.

Идентификацию изолированных штаммов микроорганизмов осуществляли на основании изучения фенотипических свойств по определителю бактерий Берджи (Bergey's Manual, 2007).

Определение массовой доли нефтепродуктов в образцах почвы проводили по стандартной методике с помощью ИК-спектрометрии (ПНД Ф 14.1.272-2012). Измерения осуществляли сразу после внесения поллютанта в почву и через 10, 30, 60 и 180 суток после загрязнения.

Исследование адаптивных способностей осуществляли в отношении выделенных УОБ, а также музейного штамма *B. pumillus* КМ из коллекции кафедры микробиологии и физиологии растений Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, для которого ранее проведенные исследования позволили установить углеводородокисляющую активность (Успанова и др., 2020).

Способность микроорганизмов адаптироваться к нефтезагрязнению изучали путем их высева на ГРМ-агар, содержащий 15, 20 и 25% нефти. Возможность микроорганизмов использовать углеводороды нефти в качестве единственного источника углерода определяли на безуглеродной среде М9, в которую добавляли 15, 20 и 25 % поллютанта.

Для выявления устойчивости бактерий к низким температурам посевы культивировали при +4°C. Солетолерантность определяли на ГРМ-агаре с концентрацией NaCl 7, 10 и 15 %, кислото- и щелочеустойчивость – на ГРМ-агаре (рН 5 и 9).

Статистическая обработка материала включала методы описательной статистики. Согласованность варьирования обилия бактерий от массовой доли нефти в почве анализировали с помощью коэффициента корреляции Пирсона. Корреляцию считали значимой при $p \leq 0.05$. Статистическую обработку данных выполняли в пакетах программ MS Excel 2000 (Microsoft Corp.) и Statistica 6.0 (Statsoft Inc., OK, USA).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

С целью отбора аборигенных штаммов, устойчивых к нефти и способных к ее биодеструкции, представляло интерес оценить видовой состав гетеротрофных бактерий в контрольной и опытной пробах почвы. В ходе микробиологического исследования чистой почвы подтипа чернозем южный было выделено 15 родов гетеротрофных бактерий, которые были отнесены к 31 виду. Видовое разнообразие гетеротрофных бактерий в почве, загрязненной нефтью, к 180-м сут. эксперимента снизилось на 68 % и составило 10 видов бактерий, относящихся к 3 родам (рис. 1).

Большая часть выделенных бактерий (8 видов) принадлежала к роду *Bacillus*. Согласно данным литературы, благодаря способности к спорообразованию пред-

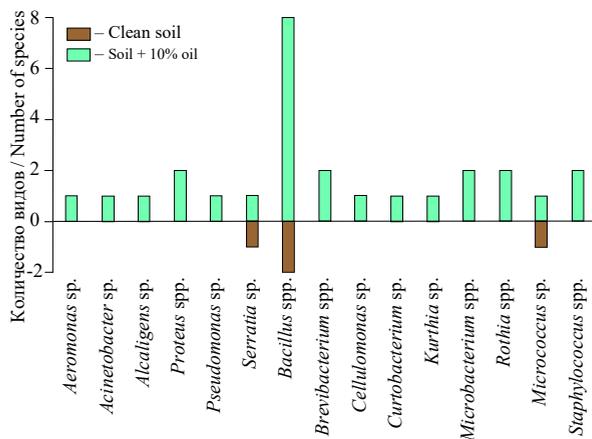


Рис. 1. Количество видов бактерий, выделенных из образцов почвы чернозема южного

Fig. 1. Number of bacterial species selected from soil samples of the southern chernozem

таты согласуются с литературными данными, согласно которым бактерии этих родов являются одними из наиболее устойчивых к нефтезагрязнению (Федорова и др., 2009; Баландина, Еремченко, 2018; Obayori, Salam, 2010; Rajasekar et al., 2011).

Изучение динамики численности гетеротрофных и УОБ в контрольной и опытной пробах почвы чернозема южного проводили на 1-, 10-, 30-, 60- и 180-е сутки. Параллельно осуществляли оценку эффективности деградации нефти аборигенными штаммами по изменению содержания поллютанта в опытном образце (рис. 2).

На 1-е сутки лабораторного эксперимента было выявлено общее снижение показателей численности исследуемых групп бактерий. Так, количество гетеротрофных бактерий снизилось на 33%, а УОБ – на 22% по сравнению с контрольной пробой. Снижение количества аборигенных микроорганизмов, вероятно, обуслов-

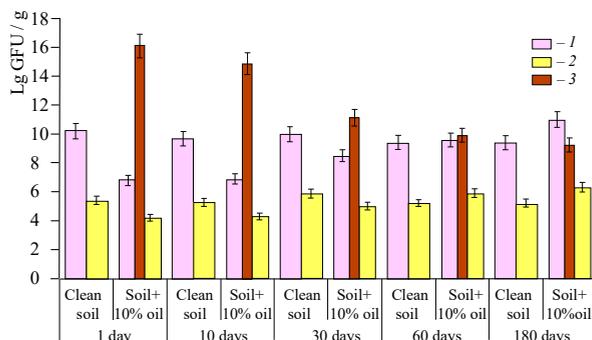


Рис. 2. Динамика изменения численности почвенных микроорганизмов в зависимости от концентрации нефти в почве: 1 – heterotrophic bacteria, 2 – hydrocarbon – oxidizing bacteria, 3 – массовая доля нефтепродуктов

Fig. 2. Abundance dynamics of soil microorganisms as depends on the oil concentration in the soil: 1 – heterotrophic bacteria, 2 – hydrocarbon–oxidizing bacteria, 3 – mass fraction of petroleum products

лено неспособностью почвенной микробиоты к быстрой адаптации к присутствию поллютанта в почве (Zakaria et al., 2021).

На 10-е и 30-е сутки после внесения нефти в почву численность исследуемых групп микроорганизмов также была ниже контрольных значений.

На 60-е сутки происходило постепенное восстановление количественных показателей почвенной микробиоты. Численность гетеротрофных бактерий достоверно не отличалась от аналогичных значений в контрольном образце почвы. Количество УОБ в почве, загрязненной нефтью, было выше на 13 % по сравнению с контролем. Полученные результаты согласуются с данными других авторов о том, что нефть оказывает стимулирующее действие на рост микроорганизмов и биологическую активность почвы, поскольку выступает в роли доступного органического субстрата (Геннадиев и др., 2015).

На заключительном этапе эксперимента (180-е сутки) происходило дальнейшее увеличение количественных показателей представителей почвенной микрофлоры: численность гетеротрофных бактерий в загрязненной нефтью почве по сравнению с контрольной пробой была выше на 17%, а УОБ – на 22%. Высокие показатели численности гетеротрофных бактерий, скорее всего, связаны с их способностью использовать углеводороды нефти в качестве источника углеродного питания.

С помощью корреляционного анализа на основе расчета коэффициента корреляции Пирсона были обнаружены средние коэффициенты положительной линейной корреляции между численностью гетеротрофных и углеводородокисляющих микроорганизмов в контрольном образце почвы ($r = -0.64$, $p = 0.048$). В опытном образце почвы, загрязненной нефтью, наблюдался очень высокий коэффициент положительной линейной корреляции между исследуемыми группами почвенных микроорганизмов ($r = 0.99$, $p = 0.035$).

Оценку эффективности биodeградации нефти аборигенными штаммами микроорганизмов почвы чернозем южный оценивали по изменению содержания поллютанта в опытном образце. Исходная концентрация нефти в загрязненной почве составила 14.3 г/кг. На 10-е сутки эксперимента наблюдалось снижение массовой доли нефтепродукта на 7%, на 30-е сутки – на 30 %, на 60-е сутки – на 38%, на 180-е сутки – на 42% по сравнению с начальными значениями. Максимальное снижение массовой доли нефтепродуктов наблюдалось в период с 10-х по 30-е сутки (25%), что, вероятно, связано с резким увеличением численности гетеротрофных бактерий в этот период. Статистический анализ показал очень высокий коэффициент отрицательной линейной корреляции между численностью почвенных гетеротрофных и углеводородокисляющих бактерий и показателем массовой доли нефти в почве, для обеих групп микроорганизмов коэффициент Пирсона составил $r = -0.95$ при $p = 0.041$, что свидетельствует о значительном вкладе углеводородокисляющих бактерий чернозема южного в процесс деградации поллютанта.

На следующем этапе работы представляло интерес изучить диапазон выживаемости выделенных гетеротрофных бактерий, а также музейного штамма *B. pumilus* КМ к действию более высоких концентраций нефти в среде. Было установлено, что *B. halmapalus*, *B. mojavensis*, *B. coagulans*, *B. niacini*, *B. pumilus*,

B. megaterium, *M. luteus*, *S. plymuthica*, *B. pumilus* КМ росли на ГРМ-агаре, содержащем 15- и 20%-ную концентрацию нефти, причем при концентрации 15% видимый рост появлялся уже через сутки, а при концентрации 20% – к концу первой недели культивирования (табл. 1). Наибольшую чувствительность к действию поллютанта проявили два вида бактерий: *B. circulans* и *B. simplex*, рост которых отсутствовал даже при минимальных концентрациях нефти в питательной среде. При действии 25%-ной концентрации поллютанта сохраняли свою жизнеспособность *B. coagulans*, *B. mojavensis*, *B. megaterium*, *M. luteus* и *B. pumilus* КМ, однако видимый рост бактерий наблюдался только на 10-е сутки культивирования.

Таблица 1. Способность гетеротрофных бактерий к размножению на ГРМ-агаре с различным содержанием нефти

Table 1. Ability of heterotrophic bacteria to reproduction on the GRM-agar with different oil concentrations

Исследуемые штаммы бактерий / The studied bacterial strains	Концентрация нефти в среде, % / The oil concentration in the medium, %		
	15	20	25
<i>Bacillus circulans</i>	–	–	–
<i>B. coagulans</i>	+	+	+
<i>B. halmopalus</i>	+	+	–
<i>B. megaterium</i>	+	+	+
<i>B. mojavensis</i>	+	+	+
<i>B. niacini</i>	+	+	–
<i>B. pumilus</i>	+	+	–
<i>B. simplex</i>	–	–	–
<i>Micrococcus luteus</i>	+	+	+
<i>Serratia plymuthica</i>	+	+	–
<i>B. pumilus</i> КМ	+	+	+

Примечание. + – есть видимый рост, прочерк – отсутствие видимого роста.

Note. + – there is a visible growth, dash – no visible growth.

С целью изучения биоремедиационного потенциала изолированных штаммов микроорганизмы культивировали на среде М9, в которой единственным источником углерода служили углеводороды нефти. Способность выделенных микроорганизмов использовать нефть в качестве единственного источника углерода проводили на безуглеродной среде М9 с добавлением нефти. Установлено, что при 15%-ной концентрации нефти в среде использовать ее в качестве источника углерода были способны 6 видов бактерий: *B. mojavensis*, *B. coagulans*, *B. pumilus*, *B. megaterium*, *M. luteus* и *B. pumilus* КМ. При увеличении концентрации нефти до 25% возможность ее использования сохранили три вида бактерий – *M. luteus*, *B. mojavensis* и *B. pumilus* КМ (табл. 2).

Таким образом, при концентрации нефти не более 10% от массы почвы наиболее перспективными нефтедеструкторами могут быть *B. mojavensis*, *B. coagulans*, *B. pumilus*, *B. megaterium*, *M. luteus* и *B. pumilus* КМ, при увеличении концентрации поллютанта его успешная деструкция возможна с помощью *B. mojavensis*, *M. luteus* и музейного штамма *B. pumilus* КМ.

БИОРЕМЕДИАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ АБОРИГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Таблица 2. Способность гетеротрофных бактерий к использованию нефти в качестве единственного источника углерода на среде М9

Table 2. Ability of heterotrophic bacteria to utilize oil as the only carbon source on the M9 medium

Исследуемые штаммы бактерий / The studied bacterial strains	Концентрация нефти в среде, % / The oil concentration in the medium, %		
	15	20	25
<i>Bacillus circulans</i>	–	–	–
<i>B. coagulans</i>	+	–	–
<i>B. halmapalus</i>	–	–	–
<i>B. megaterium</i>	+	–	–
<i>B. mojavensis</i>	+	+	+
<i>B. niacini</i>	–	–	–
<i>B. pumilus</i>	+	–	–
<i>B. simplex</i>	–	–	–
<i>Micrococcus luteus</i>	+	+	+
<i>Serratia plymuthica</i>	–	–	–
<i>B. pumilus</i> КМ	+	+	+

Примечание. + – есть видимый рост, прочерк – отсутствие видимого роста.

Note. + – there is a visible growth, dash – no visible growth.

Оценка устойчивости выделенных микроорганизмов к действию неблагоприятных факторов окружающей среды показала, что к росту при температуре +4°C были способны только представители рода *Bacillus*, в том числе музейный штамм *B. pumillus* КМ (табл. 3). Способностью к росту при значении pH среды 5 обладали 3 штамма бацилл, выделенных из образца почвы, а также музейный штамм *B. pumilus* КМ, а при pH 9 – 9 штаммов, среди которых 7 штаммов бацилл (в том числе и музейный штамм) и *M. luteus* и *S. plymuthica*. Все выделенные гетеротрофы росли на ГРМ-агаре с концентрацией NaCl 7%, однако повышение концентрации соли до 10% ингибировало рост двух видов бацилл, а также *M. luteus* и *S. plymuthica*. Способностью к росту при концентрации NaCl 15% характеризовался только музейный штамм *B. pumillus* КМ.

Таблица 3. Показатели выживаемости гетеротрофных бактерий при действии негативных физико-химических факторов

Table 3. Survival rates of heterotrophic bacteria under the influence of negative physicochemical factors

Исследуемый штамм / The studied strain	Рост / Growth			Рост на ГРМ-агаре с NaCl / Growth on GRM-agar with NaCl		
	при +4°C / at +4°C	при pH 5 / at pH 5	при pH 9 / at pH 9	7%	10%	15%
1	2	3	4	5	6	7
<i>Bacillus circulans</i>	+	–	+	+	+	–
<i>B. coagulans</i>	–	+	+	+	–	–
<i>B. halmapalus</i>	–	–	–	+	+	–
<i>B. megaterium</i>	+	–	+	+	+	–
<i>B. mojavensis</i>	+	+	+	+	+	–

Окончание табл. 3
Table 3. Continuation

1	2	3	4	5	6	7
<i>B. niacini</i>	–	–	–	+	–	–
<i>B. pumilus</i>	+	–	+	+	+	–
<i>B. simplex</i>	+	–	+	+	+	–
<i>Micrococcus luteus</i>	–	+	+	+	–	–
<i>Serratia plymuthica</i>	–	–	+	+	–	–
<i>B. pumilus</i> КМ	+	+	+	+	+	+

Примечание. + – есть видимый рост, прочерк – отсутствие видимого роста.

Note. + – there is a visible growth, dash – no visible growth.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время при разработке биопрепаратов для реабилитации антропогенно загрязненных территорий предпочтение отдается аборигенным штаммам микроорганизмов, выделенных из почв с хроническим загрязнением, которые в результате естественного отбора приобрели селективные преимущества устойчивости к действию поллютантов. Среди аборигенных штаммов бактерий, выделенных из образца почвы чернозем южный, лабораторно загрязненного нефтью, наибольшую устойчивость к негативному действию физико-химических факторов и высоким концентрациям поллютанта проявили *B. mojaviensis*, *M. luteus* и музейный штамм *B. pumillus* КМ. Высокий адаптивный потенциал *B. pumillus* КМ, вероятно, связан с тем, что он является аборигенным штаммом, выделенным из почв, которые в течение длительного времени подвергались нефтяному загрязнению, что способствовало формированию у него соответствующих механизмов устойчивости.

Полученные результаты позволяют повышать эффективность реабилитационных мероприятий антропогенно нарушенных природных территорий путем формирования ассоциаций аборигенных штаммов бактерий с учетом степени их устойчивости к факторам окружающей среды и концентрации нефти в нефтезагрязненных почвах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Алимбетова А. В., Саданова А. К., Мукашева Т. Д. Влияние нефтяного загрязнения на микробиоту почвы // Современные тенденции развития науки и технологий. 2016. Т. 12, № 1. С. 55 – 57.

Баландина А. В., Еремченко О. З. Динамика численности микроорганизмов в нефтезагрязненной дерново-карбонатной почве в процессе ремедиации // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. 2018. № 3. С. 301 – 307.

Барабаничиков Д. А., Сердюкова А. Ф. Экологические проблемы нефтяной промышленности России // Молодой ученый. 2016. № 26. С. 727 – 731.

Болдырев В. А. Основные закономерности почвенного покрова Саратовской области. Саратов : Изд-во Саратовского университета, 1997. 16 с.

Геннадиев А. Н., Пиковский Ю. И., Цибарт А. С., Смирнова М. А. Углеводороды в почвах : происхождение, состав, поведение (обзор) // Почвоведение. 2015. № 10. С. 1195 – 1209.

БИОРЕМЕДИЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ АБОРИГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Гоголева О. А., Немцева Н. В. Угледородооксиляющие микроорганизмы природных экосистем // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2012. № 2. С. 1 – 7.

ГОСТ Р 57447-2017 Наилучшие доступные технологии. Рекультивация земель и земельных участков, загрязненных нефтью и нефтепродуктами. М. : Стандартинформ, 2017. 32 с.

ГОСТ 17.4.4.02-2017 Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа. М. : Стандартинформ, 2018. 12 с.

ГОСТ 17.4.3.01-2017 Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб. М. : Стандартинформ, 2018. 10 с.

Елинский В. И., Ахмедов Р. М., Иванова Ю. А. Проблема загрязнения окружающей среды при нефтедобыче : актуальные вопросы // Вестник Московского университета МВД России. 2020. № 7. С. 118 – 122.

Кириенко О. А., Имранова Е. Л. Влияние загрязнения почвы нефтепродуктами на состав микробного сообщества // Вестник Тихоокеанского государственного университета. 2015. № 3 (38). С. 79 – 86.

Кориунова Т. Ю., Четвериков С. П., Бакаева М. Д., Кузина Е. В., Рафикова Г. Ф., Четверикова Д. В., Логинов О. Н. Микроорганизмы в ликвидации последствий нефтяного загрязнения (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2019. Т. 55, № 4. С. 338 – 349.

Михайлова А. А., Попова Л. Ф., Наквасина Е. Н. Эколого-биологические особенности загрязнения нефтепродуктами почв Архангельска. Архангельск : Северный (Арктический) федеральный университет им. М. В. Ломоносова, 2016. 150 с.

Новоселова Е. И., Киреева Н. А., Гарипова М. И. Роль ферментативной активности почв в осуществлении ею трофической функции в условиях нефтяного загрязнения // Вестник Башкирского университета. 2014. Т. 19, № 2. С. 474 – 479.

Оруджев Р. А., Джафарова Р. Э. Особенности токсического действия углеводородов нефти на организм человека // Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2017. Т. 16, № 4. С. 8 – 15.

Плеханова А. В., Холкин Е. Г. Эколого-экономическое обоснование рекультивации нефтезагрязненных почв биотехнологическим методом // Актуальные вопросы энергетики. 2021. Т. 3, № 1. С. 89 – 93.

ПНД Ф 14.1.272-2012 Количественный химический анализ вод. Методика (метод) измерений массовой концентрации нефтепродуктов в пробах сточных вод методом ИК-спектрофотометрии с применением концентратометров серии КН / Фед. служба по надзору в сфере природопользования. М., 2017. 29 с.

Практикум по микробиологии : учебное пособие / под ред. А. И. Нетрусова. М. : Академия, 2005. 608 с.

Сафаров А. Х., Водопьянов В. В., Ягафарова Г. Г., Дусаева Я. М., Акчурина Л. Р. Прогнозирование биодegradации тяжелой нефти ассоциацией аборигенных нефтедеструктурирующих микроорганизмов // Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов. 2019. Т. 330, № 12. С. 111 – 118. <https://doi.org/10.18799/24131830/2019/12/2407>

Требин Г. Ф., Чарыгин Н. В., Обухова Т. М. Нефти месторождений Советского Союза : справочник. М. : Недра, 1980. 584 с.

Успанова Д. М., Нечаева О. В., Шуришалова Н. Ф., Каменева В. В., Бычков А. Р. Изучение эффективности использования сапрофитного штамма бактерий *Bacillus pumilus* для утилизации ксенобиотиков I – II класса опасности // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2020. Т. 20, вып. 2. С. 200 – 206. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2020-20-2-200-206>

Федорова О. С., Рязанова Т. В., Кириенко И. А., Машанов А. И. Эффективность деструкции нефтепродуктов иммобилизованной микрофлорой при разных уровнях загрязненности почвы // Вестник КрасГАУ. 2009. № 5. С. 81 – 85.

Франк Ю. А., Никитчук К. Л., Сатсга А. А., Лукьянова Е. А., Ивасенко Д. А., Косов А. В., Герасимчук А. Л., Евсеева Н. С. Повышение эффективности ремедиации нефтезагрязненных почв в природно-климатических условиях севера Томской области и сопредельных регионов с применением аборигенных микроорганизмов // Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов. 2020. Т. 331, № 9. С. 130 – 139. <https://doi.org/10.18799/24131830/2020/9/2815>

Шатицко Т. Н., Дольникова Г. А., Немцева Н. В., Санджиева Д. А., Лобакова Е. С. Идентификация и физиологическая характеристика консорциума углеводород окисляющих бактерий нефти и нефтепродуктов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2018. № 4. С. 107 – 113. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-107-113>

Al-Hawash A. B., Dragh M. A., Li S., Alhujaily A., Abbood H. A., Zhang X., Ma F. Principles of microbial degradation of petroleum hydrocarbons in the environment // Egyptian Journal of Aquatic Research. 2018. Vol. 44, iss. 2. P. 71 – 76. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2018.06.001>

Alotaibi H. S., Usman A. R., Abduljabbar A. S. Carbon mineralization and biochemical effects of short-term wheat straw in crude oil contaminated sandy soil // Applied Geochemistry. 2018. Vol. 88. P. 276 – 287. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2017.02.017>

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. New York : Springer, 2007. Vol. 2. 1136 p.

Fagbemi O., Sanusi A. Chromosomal and plasmid mediated degradation of crude oil by *Bacillus coagulans*, *Citrobacter koseri* and *Serratia ficaria* isolated from the soil // African Journal of Biotechnology. 2017. Vol. 16, № 21. P. 1242 – 1253. <https://doi.org/10.5897/AJB2017.15960>

Galitskaya P., Biktasheva L., Blagodatsky S., Selivanovskaya S. Response of bacterial and fungal communities to high petroleum pollution in different soils // Scientific Reports. 2021. Vol. 11. Article number 164. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80631-4>

Melekhina E. N., Belykh E. S., Markarova M. Y., Taskaeva A. A., Rasova E. E., Baturina O. A., Kabilov M. R., Velegzhaninov I. O. Soil microbiota and microarthropod communities in oil contaminated sites in the European Subarctic // Scientific Reports. 2021. Vol. 11. Article number 19620. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98680-8>

Mikolasch A., Donath M., Reinhard A., Herzer C., Zayadan B., Urich T., Schauer F. Diversity and degradative capabilities of bacteria and fungi isolated from oil-contaminated and hydrocarbon-polluted soils in Kazakhstan // Applied Microbiology and Biotechnology. 2019. Vol. 103, iss. 17. P. 7261 – 7274. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10032-9>

Obayori S. O., Salam L. B. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons: Role of plasmids // Scientific Research and Essays. 2010. Vol 5, № 25. Article number 043841B22474. <https://doi.org/10.5897/SRE.9000022>

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 – A field study // International Biodeterioration & Biodegradation. 2018. Vol. 126. P. 57 – 68. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.10.004>

Puustinen J., Jurgensen K. S., Strandberg T., Suortti A. M. Bioremediation of oil-contaminated soil from service stations // Environmental Pollution. 2020. Vol. 107. P. 245 – 254.

Rajasekar A., Balasubramanian R., Kuma J. V. M. Role of hydrocarbon degrading bacteria *Serratia marcescens* ACE2 and *Bacillus cereus* ACE 4 on corrosion of carbon steel API 5LX // Industrial and Engineering Chemistry Research. 2011. Vol. 50, iss. 17. P. 10041 – 10046. <https://doi.org/10.1021/ie200709q>

БИОРЕМЕДИАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ АБОРИГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Thapa B., Kumar A., Ghimire A. A review on bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in soil // Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology. 2012. Vol. 8, № 1. P. 164 – 170. <https://doi.org/10.3126/kuset.v8i1.6056>

Zakaria N. N., Gomez Fuentes C., Abdul Khalil K., Convey P., Roslee A. F. A., Zulkharnain A., Sabri S., Shaharuddin N. A., Cárdenas L., Ahmad S. A. Statistical optimisation of diesel biodegradation at low temperatures by an antarctic marine bacterial consortium isolated from non-contaminated seawater // Microorganisms. 2021. Vol. 9, iss. 6. Article number 1213. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061213>

Bioremediation potential of native microorganisms of the southern chernozem

D. M. Uspanova¹, Yu. I. Murzina², A. S. Korobeinikova², A. M. Peterson²,
E. V. Glinskaya^{2✉}, K. A. Arefiev¹, O. V. Nechaeva¹

¹ Yuri Gagarin State Technical University of Saratov
77 Politechnicheskaya St., Saratov 410054, Russia

² Saratov State University
83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Received: 17 February 2022 / revised: 22 March 2022 / accepted: 24 March 2022

Abstract. In the course of the conducted studies, main groups of soil microorganisms in the southern chernozem were identified. The resistance of isolates to the action of oil in the concentration range of 15–25%, the possibility of using it as a carbon source, the ability of soil microbiota to biodegrade oil in contaminated soil and the resistance of bacteria to low temperatures, high NaCl concentrations, acid and alkali resistance were established. 15 genera (31 species) of heterotrophic bacteria were isolated from uncontaminated soil samples of the southern chernozem subtype. Our assessment of the abundance dynamics of microorganisms isolated from laboratory contaminated soils showed that as a result of oil exposure, there was a significant decrease in the numbers of microorganisms: by the 180th day of our experiment, 10 bacteria species belonging to 3 genera were isolated, namely: *Bacillus*, *Micrococcus* and *Serratia*. Among the isolated bacteria, resistance to the action of the pollutant at a concentration of 25% was established for *B. coagulans*, *B. mojavensis*, *B. megaterium*, *M. luteus*, as well as for the museum strain of *B. pumilus* CM. By cultivating the studied bacterial strains on a carbon-free medium M9 with 15 and 20% oil added, their ability to use petroleum hydrocarbons as the only carbon source was established; however, when the concentration increased to 25%, only *M. luteus*, *B. mojavensis* and *B. pumilus* KM retained this ability. The presence of hydrocarbon-oxidizing bacteria in soil samples contributed to the 42% decrease in the oil mass concentration in 180 days. The most significant decrease in the concentration of petroleum products occurred in the period from the 10th to the 30th day and amounted to 25%, which is probably due to the increase in the numbers of heterotrophic bacteria. The ability to grow at a temperature of +4°C was established for representatives of the genus *Bacillus*, including the museum strain of *B. pumillus* CM, 4 strains of bacilli remained viable in an acidic environment (pH 5), 7 strains of bacilli and *M. luteus* and *S. plymuthica* remained viable in an alkaline environment (pH 9). The studied bacterial strains were growing on a GRM-agar with a NaCl concentration of 7%, the ability to grow at a NaCl concentration of 15% was preserved only by the museum strain of *B. pumillus* KM. The obtained results open the prospects for the use of hydrocarbon-oxidizing bacteria with a high adaptive potential as potential oil destructors capable of biodegradation at low temperatures, in conditions of high salinity and in a wide range of pH of the medium.

Keywords: oil, native bacterial strains, bacterial adaptation, biodestruction

✉ Corresponding author. Department of Microbiology and Plant Physiology of Saratov State University, Russia.

ORCID and e-mail addresses: Dinara M. Uspanova: <https://orcid.org/0000-0002-3745-9494>, dinarka_14@mail.ru; Yulia I. Murzina: <https://orcid.org/0000-0003-2049-7264>, yuliya.murzina.2000@mail.ru; Anastasija S. Korobeinikova: <https://orcid.org/0000-0002-3157-693X>, korobeinikovaanastasija@yandex.ru; Alexandra M. Peterson: <https://orcid.org/0000-0003-2896-5739>, alexandra.peterson@yandex.ru; Elena V. Glinskaya: <https://orcid.org/0000-0002-1675-5438>, elenavg-2007@yandex.ru; Kirill A. Arefiev: <https://orcid.org/0000-0003-0717-1921>, ka.arefiev64@mail.ru; Olga V. Nechaeva: <https://orcid.org/0000-0003-3331-1051>, olgav.nechaeva@rambler.ru.

For citation: Uspanova D. M., Murzina Yu. I., Korobeinikova A. S., Peterson A. M., Glin-skaya E. V., Arefiev K. A., Nechaeva O. V. Bioremediation potential of native microorganisms of the southern chernozem. *Povolzhskiy Journal of Ecology*, 2022, no. 2, pp. 216–231 (in Russian). <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2022-2-216-231>

REFERENCES

- Alimbetova A. V., Sadanova A. K., Mukasheva T. D. Effect of oil pollution on soil micro-biota. *Modern Trends in the Development of Science and Technology*, 2016, vol. 12, no. 1, pp. 55–57 (in Russian).
- Balandina A. V., Eremchenko O. Z. Dynamics of the number of microorganisms in oil-contaminated soddy-calcareous soil during remediation. *Bulletin of the Perm University, Series: Biology*, 2018, no. 3, pp. 301–307 (in Russian).
- Barabanshchikov D. A., Serdyukova A. F. Ecological problems of the Russian oil industry. *Young Scientist*, 2016, no. 26, pp. 727–731 (in Russian).
- Boldyrev V. A. *Osnovnye zakonomernosti pochvennogo pokrova Saratovskoi oblasti* [Basic Patterns of the Soil Cover of the Saratov Region]. Saratov, Izdatel'stvo Saratovskogo universiteta, 1997. 16 p. (in Russian).
- Gennadiev A. N., Pikovskii Y. I., Tsibart A. S., Smirnova M. A. Hydrocarbons in soils: Origin, composition, and behavior (review). *Eurasian Soil Science*, 2015, vol. 48, no. 10, pp. 1076–1089.
- Gogoleva O. A., Nemtseva N. V. Hydrocarbon-oxidizing microorganisms of natural ecosys-tems. *Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2012, no. 2, pp. 1–7 (in Russian).
- GOST R 57447-2017 Best Available Techniques. Reclamation of Land and Land Contami-nated With Oil and Oil Products*. Moscow, Standartinform Publ., 2017. 32 p. (in Russian).
- GOST 17.4.3.01-2017 Nature Protection (SSOP). Soils. General Requirements for Sampling*. Moscow, Standartinform Publ., 2018. 12 p. (in Russian).
- GOST 17.4.4.02-2017 Protection of Nature. Soils. Methods for Taking and Preparing Sam-ples for Chemical, Bacteriological, Helminthological Analysis*. Moscow, Standartinform Publ., 2018. 10 p. (in Russian).
- Elinsky V. I., Akhmedov R. M., Ivanova Yu. A. The problem of environmental pollution during oil production: Topical issues. *Bulletin of the Moscow University of the Ministry of Internal Affairs of Russia*, 2020, no. 7, pp. 118–22 (in Russian).
- Kirienko O. A., Imranova E. L. The influence of soil pollution with oil products on the com-position of the microbial community. *Vestnik Tikhookeanskogo gosudarstvennogo universiteta*, 2015, no. 3 (38), pp. 79–86 (in Russian).
- Korshunova T. Yu., Chetverikov S. P., Bakaeva M. D., Kuzina E. V., Rafikova G. F., Chetverikova D. V., Loginov O. N. Microorganisms in the aftermath of oil pollution (review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2019, vol. 55, no. 4, pp. 338–349 (in Russian).
- Mikhailova A. A., Popova L. F., Nakvasina E. N. *Ekologo-biologicheskie osobennosti zagriazneniia nefteproduktami pochv Arkhangel'ska* [Ecological and Biological Features of Oil Pollution of Soils in Arkhangelsk]. Arkhangelsk, Northern (Arctic) Federal University Publ., 2016. 150 p. (in Russian).
- Novoselova E. I., Kireyeva N. A., Garipova M. I. Role of enzymatic activity of soils in the discharge of the trophic function in oil pollution. *Bulletin of Bashkir University*, 2014, vol. 19, no. 2, pp. 474–479 (in Russian).
- Orujov R. A., Jafarova R. A. The peculiarities of the toxic effect of petroleum hydrocarbons of the human organism. *Vestnik of Vitebsk State Medical University*, 2017, vol. 16, no. 4, pp. 8–15 (in Russian). <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2017.4.8>

Plekhanova A. V., Kholkin E. G. Ecological and economic substantiation of the reclamation of oil-contaminated soils by a biotechnological method. *Actual Problems of Energy*, 2021, vol. 3, no. 1, pp. 89–93 (in Russian).

PND F 14.1.272-2012 Methodology (method) for Measuring the Mass Concentration of Oil Products in Wastewater Samples by IR Spectrophotometry Using Concentrators of the KN Series. Moscow, Federal Service for Supervision of Environmental Management Publ., 2017. 29 p. (in Russian).

Praktikum po mikrobiologii: uchebnoe posobie. Pod red. A. I. Netrusova [A. I. Netrusov, ed. Microbiology Workshop: Textbook]. Moscow, Academy Publ., 2005. 608 p. (in Russian).

Safarov A. Kh., Vodopyanov V. V., Yagafarova G. G., Dusaeva Ya. M., Akchurina L. R. Prediction of heavy oil biodegradation by the association of native oil-degrading microorganisms. *Bulletin of the Tomsk Polytechnic University. Engineering of Georesources*, 2019, vol. 330, no. 12, pp. 111–118 (in Russian). <https://doi.org/10.18799/24131830/2019/12/2407>

Trebin G. F., Charygin N. V., Obukhova T. M. *Nefti mestorozhdenii Sovetskogo Soiuza: spravochnik* [Oil fields of the Soviet Union: Handbook]. Moscow, Nedra Publ., 1980. 584 p. (in Russian).

Uspanova D. M., Nechaeva O. V., Shurshalova N. F., Kameneva V. V., Bychkov A. R. Studying the effectiveness of using a saprophytic strain of bacteria *Bacillus pumilus* for the utilization of xenobiotics of I–II hazard class. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2020, vol. 20, iss. 2, pp. 200–206 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2020-20-2-200-206>

Fedorova O. S., Ryazanova T. V., Kirienko I. A., Mashanov A. I. Efficiency of destruction of oil products by immobilized microflora at different levels of soil pollution. *Bulliten KrasSAU*, 2009, no. 5, pp. 81–85 (in Russian).

Frank Yu. A., Nikitchuk K. L., Sapega A. A., Lukyanova E. A., Ivasenko D. A., Kosov A. V., Gerasimchuk A. L., Evseeva N. S. Increasing the efficiency of remediation oil-contaminated soils in the natural and climatic conditions of the north of the Tomsk region and adjacent regions with the use of native microorganisms. *Bulletin of the Tomsk Polytechnic University. Engineering of Georesources*, 2020, vol. 331, no. 9, pp. 130–138 (in Russian). <https://doi.org/10.18799/24131830/2020/9/2815>

Shapiro T. N., Dolnikova G. A., Nemtseva N. V., Sandzhieva D. A., Lobakova E. S. Identification and physiological characteristics of a consortium of hydrocarbon oxidizing bacteria in oil and oil products. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2018, no. 4, pp. 107–113 (in Russian). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-107-113>

Al-Hawash A. B., Dragh M. A., Li S., Alhujaily A., Abbood H. A., Zhang X., Ma F. Principles of microbial degradation of petroleum hydrocarbons in the environment. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 2018, vol. 44, iss. 2, pp. 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2018.06.001>

Alotaibi H. S., Usman A. R., Abduljabbar A. S. Carbon mineralization and biochemical effects of short-term wheat straw in crude oil contaminated sandy soil. *Applied Geochemistry*, 2018, vol. 88, pp. 276–287. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2017.02.017>

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. New York, Springer, 2007, vol. 2. 1136 p.

Fagbemi O., Sanusi A. Chromosomal and plasmid mediated degradation of crude oil by *Bacillus coagulans*, *Citrobacter koseri* and *Serratia ficaria* isolated from the soil. *African Journal of Biotechnology*, 2017, vol. 16, no. 21, pp. 1242–1253. <https://doi.org/10.5897/AJB2017.15960>

Galitskaya P., Biktasheva L., Blagodatsky S., Selivanovskaya S. Response of bacterial and fungal communities to high petroleum pollution in different soils. *Scientific Reports*, 2021, vol. 11, article number 164. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80631-4>

Melekhina E. N., Belykh E. S., Markarova M. Y., Taskaeva A. A., Rasova E. E., Baturina O. A., Kabilov M. R., Velegzhaninov I. O. Soil microbiota and microarthropod communities in oil con-

taminated sites in the European Subarctic. *Scientific Reports*, 2021, vol. 11, article number 19620. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98680-8>

Mikolasch A., Donath M., Reinhard A., Herzer C., Zayadan B., Urich T., Schauer F. Diversity and degradative capabilities of bacteria and fungi isolated from oil-contaminated and hydrocarbon-polluted soils in Kazakhstan. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, vol. 103, iss. 17, pp. 7261–274. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10032-9>

Obayori S. O., Salam L. B. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons: Role of plasmids. *Scientific Research and Essays*, 2010, vol. 5, no. 25, article number 043841B22474. <https://doi.org/10.5897/SRE.9000022>

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 – A field study. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2018, vol. 126, pp. 57–68. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.10.004>

Puustinen J., Jurgensen K. S., Strandberg T., Suortti A. M. Bioremediation of oil-contaminated soil from service stations. *Environmental Pollution*, 2020, vol. 107, pp. 245–254.

Rajasekar A., Balasubramanian R., Kuma J. V. M. Role of hydrocarbon degrading bacteria *Serratia marcescens* ACE2 and *Bacillus cereus* ACE 4 on corrosion of carbon steel API 5LX. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 2011, vol. 50, iss. 17, pp. 10041–10046. <https://doi.org/10.1021/ie200709q>

Thapa B., Kumar A., Ghimire A. A review on bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in soil. *Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology*, 2012, vol. 8, no. 1, pp. 164–170. <https://doi.org/10.3126/kuset.v8i1.6056>

Zakaria N. N., Gomez Fuentes C., Abdul Khalil K., Convey P., Roslee A. F. A., Zulkharnain A., Sabri S., Shaharuddin N. A., Cárdenas L., Ahmad S. A. Statistical optimisation of diesel biodegradation at low temperatures by an antarctic marine bacterial consortium isolated from non-contaminated seawater. *Microorganisms*, 2021, vol. 9, iss. 6, article number 1213. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061213>