

УДК 579.26:631.46(470.44)

**СПОСОБНОСТЬ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ ТЕХНОГЕННО
НАРУШЕННЫХ ПОЧВ Г. БАЛАКОВО (САРАТОВСКАЯ ОБЛАСТЬ)
К ПЛЕНКООБРАЗОВАНИЮ**

Голубев Д.М. (СГУ), Уткин Д.В. (СГУ), Каневский М.В. (СГУ), Глинская Е.В. (СГУ)
Научный руководитель – кандидат биологических наук, доцент Глинская Е.В.
(СГУ)

Введение. Вследствие значительного экологического ущерба, наносимого окружающей среде в процессе добычи и переработки углеводородов, требуется создание новых технологий для очистки загрязнённых территорий. Для биотехнологий, которые применяют в нефтяной отрасли, большое значение имеют микроорганизмы. Благодаря способности эмульгировать и окислять нефть углеводородоокисляющие бактерии являются потенциальными агентами для восстановления нарушенных почв [1].

Ключевая роль в деградации углеводородов нефти принадлежит этапу формирования бактериальных биопленок. Изучение процессов агрегации микробных сообществ и образования биопленочных структур является важным фактором на пути к успешному созданию биопрепарата, направленного на очистку загрязненных почв.

Следует учитывать, что климатическая специфика региона и физико-химический состав почвенного покрова оказывают значительное влияние на интенсивность образования микробных биопленок, а значит, и на результативность биоремедиационных мероприятий [2].

Целью исследования стало выявление способности штаммов углеводородоокисляющих бактерий техногенно нарушенных почв г. Балаково (Саратовская область) к пленкообразованию при различных абиотических факторах среды.

Основная часть. В исследовании использовали штаммы углеводородоокисляющих бактерий, выделенные из 34 почвенных проб урбанозёмов, индустриозёмов, культурозёмов и природных почв г. Балаково в летний период 2023 г.: *Acinetobacter lwoffii* R44, *Bacillus circulans* E75, *B. horikoshii* P22, *B. lentimorbius* J64, *B. pumilus* S35, *Mammaliicoccus lentus* T18, *Ochrobactrum gallinifaecis* I59, *Paeniglutamibacter psychrophenicus* W48 [3].

Чтобы получить биопленки исследуемых штаммов углеводородоокисляющих бактерий, применяли культуральные планшеты. Бактерии культивировали в 200 мкл ГРМ-бульона при температуре 37 °С без встряхивания. По завершении культивирования бактерий из лунок планшета аккуратно извлекали среду вместе с планктонными клетками. Оставшиеся клетки удаляли путем промывания лунок с биопленками стерильным физиологическим раствором в течение 2-3 минут, используя тот же объем жидкости, что и при культивировании. Буфер полностью удаляли и сушили в течении 20 мин. В лунку планшета вносили 200 мкл отфильтрованного 0,1-0,2 % раствора генциан фиолетового в 96% спирте и выдерживали при температуре 28 °С в течение 10-15 минут. Затем краситель удаляли из лунок, а несвязанную часть раствора смывали водопроводной водой. После этого планшеты помещали на фильтровальную бумагу дном кверху и просушивали в течение получаса. В сухие лунки добавляли 200 мкл 95%-го раствора этанола, после чего отобранный растворитель переносили в чистые плоскодонные планшеты и измеряли оптическую плотность на длине волны 595 нм [4].

В качестве контроля использовали бесклеточные лунки, инкубированные с чистой средой, подвергнутые всем манипуляциям с окрашиванием.

Анализ результатов проводили по стандартной шкале: 4 и выше – плотная продукция биопленок, 2-4 – умеренная продукция биопленок, меньше 2 – слабая продукция биопленок или отсутствует [5]. Результаты исследования влияния температуры на образование биопленок показали, что максимальная продукция биопленки всех изучаемых штаммов микроорганизмов наблюдается при температуре 37 °С.

Анализ оценки влияния pH на формирование биопленки показал, что плотную

продукцию наблюдали у следующих штаммов: *B. circulans* E75 и *P. psychrophenicus* W48 в кислой среде, у *A. lwoffii* R44 и *B. pumilus* S35 в щелочной среде, у *M. lentus* T18 в нейтральной среде. Умеренный синтез наблюдали у штаммов *B. horikoshii* P22 и *O. gallinifaecis* I59 в щелочной среде, у *B. lentimorbius* J64 в кислой среде.

Выводы. Максимальную продукцию биопленок у всех исследуемых штаммов прослеживали при температурах 28 и 37 °С. Наибольшая продукция биопленки у штаммов *B. circulans* E75, *B. lentimorbius* J64 и *P. psychrophenicus* W48 наблюдалась в кислой среде (pH 5), у *M. lentus* T18 – в нейтральной среде (pH 7), у *A. lwoffii* R44, *B. pumilus* S35, *B. horikoshii* P22 и *O. gallinifaecis* I59 – в щелочной среде (pH 9).

Полученные в результате комплексного исследования данные можно использовать как для прогнозирования состояния антропогенно нарушенных территорий, так и для биоремедиационных мероприятий урбосистем, в частности, для создания биопрепарата, направленного на очистку территорий от углеводородного загрязнения.

Список использованных источников:

1. Pleshakova E. V., Glinskaya E. V., Korobeynikova A. S., Golubev D. M., Sheudzhen A. Sh., Reshetnikov M. V. Microbiological Assessment of the State of Urban Soils of the Oil and Gas Region on the Example of the Territory of Kogalym // Biological Bulletin. 2023. Vol. 50. N.10. P. 2846-2856.
2. Qiao Y. et al. Bacterial specialists playing crucial roles in maintaining system stability and governing microbial diversity in bioremediation of oil-polluted sediments under typical deep-sea condition // Bioresource Technology. – 2024. – Vol. 413. – P. 131498.
3. Голубев Д.М., Тарасюк А.К., Глинская Е.В. Антибиотикорезистентность углеводородокисляющих бактерий антропогенно нарушенных почв г. Балаково (Саратовская область) // Энергосбережение и инновационные технологии в топливно-энергетическом комплексе: Материалы Национальной с международным участием научно-практической конференции студентов, аспирантов, учёных и специалистов 18-20 декабря 2024 года, Тюмень: Тюменский индустриальный университет. – Т. 2. – С. 121-123.
4. Марданова, А. М. Биопленки: основные принципы организации и методы исследования / А. М. Марданова, Д. А. Кабанов. – Казань: К(П)ФУ, 2016. – 42 с.
5. Ярец, Ю. И. Новый метод анализа бактериальной биопленки / Ю. И. Ярец, Н. И. Шевченко // Наука и инновации. – 2016. – Т. 10, № 164. – С. 64–68.