

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.26: 579.222

doi: 10.17072/1994-9952-2023-3-242-249

Особенности деструкции дизельного топлива штаммом *Rhodococcus* sp. NDT23 в условиях повышенной солености

Алексей Владимирович Назаров^{1✉, 2}, Анна Александровна Пьянкова³,
Екатерина Сергеевна Корсакова^{4, 5}

^{1, 3, 4} Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

^{2, 5} Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

^{1✉, 2} nazarov@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4753-4061>

³ annpjankva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2210-783x>

^{4, 5} camomille-08@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6907-7562>

Аннотация. Исследован процесс биодеструкции дизельного топлива (ДТ) в условиях повышенной солености среды с помощью галотолерантного штамма *Rhodococcus* sp. NDT23, выделенного из загрязненного ДТ образца почвы, отобранной на расстоянии 3 м от солеотвала предприятия ПАО «Уралкалий» (г. Соликамск, Пермский край, Россия). На основе анализа гена 16S рРНК показано, что штамм NDT23 филогенетически близок *Rhodococcus fascians* DSM 20669^T и *Rhodococcus cercidiphylli* YIM 65003^T (сходство 100%). Установлено наличие у штамма NDT23 гена алкан-1-монооксигеназы (*alkB*), имеющего наибольшее сходство (99.10–100%) с *alkB*-генами родококков, выделенных из почвы и тканей растений. Выявлено положительное влияние NaCl в концентрации 50 г/л на биодеструкцию длинноцепочечных (C₁₄–C₂₀) углеводов в составе ДТ, обусловленное увеличением гидрофобности клеточной стенки родококков.

Ключевые слова: дизельное топливо, деструкция, *Rhodococcus*, хлорид натрия, засоление

Для цитирования: Назаров А. В., Пьянкова А. А., Корсакова Е. С. Особенности деструкции дизельного топлива штаммом *Rhodococcus* sp. NDT23 в условиях повышенной солености // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2023. Вып. 3. С. 242–249. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-242-249>.

Благодарности: работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: АААА-А19-119112290009-1.

MICROBIOLOGY

Original article

Peculiarities of diesel fuel degradation by strain *Rhodococcus* sp. NDT23 under high salinity conditions

Alexey A. Nazarov^{1✉, 2}, Anna A. Pyankova³, Ekaterina S. Korsakova^{4, 5}

^{1, 3, 4} Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm, Russia

^{2, 5} Perm State University, Perm, Russia

^{1✉, 2} nazarov@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4753-4061>

³ annpjankva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2210-783x>

^{4, 5} camomille-08@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6907-7562>

Abstract. Degradation of diesel fuel by the halotolerant strain *Rhodococcus* sp. NDT23 under increased salinity conditions was studied. The strain NDT23 was isolated from diesel-contaminated soil sample which collected at a distance of 3 m from the salt dump of the plant of PJSC Uralkali (Solikamsk, Perm region, Russia). On the basis of 16S rRNA gene analysis it was shown that the strain NDT23 is phylogenetically close to *Rhodococcus fascians* DSM 20669^T and *Rhodococcus cercidiphylli* YIM 65003^T (100% similarity). The presence of alkane-1-monoxygenase (*alkB*) gene in the strain NDT23 was found to have the highest similarity (99.10–100%) with *alkB* genes of *Rhodococcus* strains isolated from soil and plant tissues. The ability of the strain NDT23 to degrade diesel fuel (DF) in the medium without salt and at concentrations up to 100 g/L NaCl was detected. A positive effect of NaCl at a concentration of 50 g/L on the degradation of DT by the studied strain was revealed. Moreover, the presence of NaCl in the medium improved the biodegradation of long-chain hydrocarbons (C₁₄-

C₂₀) by the strain NDT23 to a greater extent than short-chain hydrocarbons (C₉-C₁₃). It is shown that such an increase in the degradation activity of the strain NDT23 is due to an increase in the hydrophobicity of their cell walls in the presence of NaCl in the medium.

Keywords: diesel fuel, degradation, *Rhodococcus*, sodium chloride, salinity

For citation: Nazarov A. V., Pyankova A. A., Korsakova E. S. [Peculiarities of diesel fuel degradation by strain *Rhodococcus* sp. NDT23 under high salinity conditions]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 3 (2023): pp. 242-249. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-3-242-249>.

Acknowledgments: the work was carried out within the state task (AAAA-A19-119112290009-1).

Введение

В настоящее время нефтепродукты являются наиболее распространенными и опасными загрязнителями окружающей среды. Одним из перспективных биотехнологических направлений очистки окружающей среды от органических загрязнителей является биодеструкция с помощью микроорганизмов [Abatenh et al., 2017; Xu et al., 2018; Tarfeen et al., 2022]. Для разработки методов очистки загрязненных природных объектов большое значение имеют исследования деструкции нефтепродуктов микроорганизмами. В ряде случаев эффективность данного метода ограничивается экстремальными условиями среды, в частности высоким засолением [Abed, Al-Kharusi, Al-Hinai, 2015; Edbeib, Wahab, Huyop, 2016; Khalid et al., 2021]. Актинобактерии рода *Rhodococcus* характеризуются способностью к биодegradации самых разнообразных углеводов, а также устойчивостью к экстремальным условиям среды, что обуславливает их потенциал в использовании в качестве биопрепаратов для очистки загрязненной среды от нефтепродуктов [Brzeszcz, Kaszycki, 2018]. Особенностью нефтепродуктов как загрязнителей является сложный состав. Так, в дизельном топливе (ДТ) обнаружены тысячи соединений с числом атомов углерода от 8–12 до 25–27, преимущественно – насыщенные углеводороды. Влияние засоления на биодegradацию ДТ, в том числе отдельных углеводородных фракций представителями рода *Rhodococcus* изучено недостаточно [Brzeszcz, Kaszycki, 2018].

Цель работы – исследование особенностей деструкции дизельного топлива галотолерантным штаммом *Rhodococcus* sp. NDT23 в условиях повышенной солености.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали штамм *Rhodococcus* sp. NDT23 из коллекции лаборатории микробиологии техногенных экосистем «ИЭГМ УрО РАН», выделенный из загрязненной ДТ дерново-подзолистой почвы с техногенным хлоридно-сульфатным натриево-кальциевым засолением. Образец почвы был отобран на расстоянии 3 м от солеотвала (г. Соликамск, Пермский край, Россия). Координаты участка отбора проб: широта 59°38'00.1", долгота 056°45'13.2". Концентрация ДТ в почве составляла 5.7%, pH – 7.6, содержание водорастворимых солей – 1.3%.

Для культивирования бактерий использовали минеральную среду Раймонда (МСР) следующего состава (г/л): NH₄NO₃ – 2.0, MgSO₄ × 7H₂O – 0.2, K₂HPO₄ – 2.0, Na₂HPO₄ – 3.0, CaCl₂ × 6H₂O – 0.01, Na₂CO₃ – 0.1, дополненную 1% раствором MnSO₄ × 2H₂O – 2 мл/л и 1% раствором FeSO₄ × 7H₂O – 1 мл/л среды [Raymond, 1961]. Для приготовления богатой среды Раймонда (БСР) в МСР добавляли 5 г/л триптона («VWR Life Science Amresco», США) и 2.5 г/л дрожжевого экстракта («Biospringer», Франция) в качестве ростовых субстратов. Для приготовления плотной среды вносили агар («Helicon», Россия) до конечной концентрации 15 г/л.

Морфологические и физиологические признаки бактерий определяли при выращивании на агаризованной БСР с добавлением 30 г/л NaCl. Культивирование проводили в термостате при температуре 28°C. Характеристики роста штамма при разных значениях pH определяли при концентрации 30 г/л NaCl в буферных системах, приготовленных на основе БСР. Штаммы культивировали на агаризованной среде БСР при pH 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0. Для оценки роста при разных температурах штамм культивировали в диапазоне температур от 4 до 40 °C. Рост учитывали на седьмой день культивирования. [Методы ..., 1983].

Рост бактерий на МСР с ДТ оценивали при культивировании в жидких средах без добавления NaCl и с содержанием 30, 50, 70, 100 г/л NaCl. ДТ вносили в МСР до конечной концентрации 1 г/л. Инокулятом служила культура, выращенная при 28°C на агаризованной БСР с 30 г/л NaCl. Биомассу бактерий ресуспендировали в МСР, содержащей 30 г/л NaCl. Полученную суспензию бактериальных клеток (ОП₆₀₀=1.0) добавляли в 100 мл среды в количестве 1% об./об.

Для оценки роста штамма на БСР без добавления NaCl и с содержанием 30, 50, 70, 100 г/л NaCl инокулят культуры готовили как описано выше.

Культивирование штамма осуществляли в колбах объемом 250 мл на термостатируемом шейкере Environmental Shaker Incubator ES-20/60 («BioSan», Латвия) при температуре 28°C и скорости вращения

140 об/мин. Рост бактериальных клеток оценивали при определении оптической плотности культуральной жидкости (OP_{600}) на спектрофотометре UV-Visible BioSpec-mini («Shimadzu», Япония) при длине волны 600 нм в кювете с длиной оптического пути 1 см. Удельную скорость роста (μ , ч⁻¹) рассчитывали по стандартной формуле

$$\mu = (\ln B_2 - \ln B_1) / (t_2 - t_1),$$

где B_1 и B_2 – оптические плотности культуры в моменты времени t_1 и t_2 , соответственно [Нетрусов, 2005].

Через 14 сут. культивирования бактерий в МСР измеряли остаточную концентрацию ДТ в среде в хлороформенных экстрактах на газовом хроматографе Agilent 7890В («Agilent», США) с трехквadrupольным масс-спектрометром Agilent 7010В («Agilent», США) и кварцевой колонкой RESTEK RTx-5MS («Restek», США). В качестве газа-носителя использовали гелий, скорость потока составляла 1 мл/мин, температура испарителя 260°C. Программирование подъема температуры от 130°C (3-минутная экспозиция), нагрев до 280°C со скоростью 10°C/мин. Анализ хроматограмм проводили с помощью программы MSD Productivity ChemStation («Agilent», США). Содержание углеводов оценивали по площадям пиков в сравнении с площадью пиков контрольного образца ДТ, а также хлороформенных растворов индивидуальных углеводов.

Гидрофобность клеточной поверхности (Н, %) определяли с использованием МATH-теста [Rosenberg, 1984; Maneerat, Dikit, 2007].

Для амплификации гена *alkB*, кодирующего алкан-1-монооксигеназу, использовали вырожденные праймеры TS2S и Deg1RE [Smits et al., 1999]. В качестве положительного контроля использовали ДНК штамма *Rhodococcus wratislaviensis* KT112-7, в геноме которого содержится *alkB* (GenBank CP072193). Амплификацию осуществляли на приборе C1000 Touch™ Thermal Cycler («Bio-Rad Laboratories», США) согласно условиям [Smits et al., 1999]. Определение нуклеотидной последовательности гена *alkB* проводили с использованием набора реактивов Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit v. 3.1 («Applied Biosystems», США) на автоматическом секвенаторе Genetic Analyser 3500XL («Applied Biosystems», США) согласно рекомендациям производителя. Анализ нуклеотидной последовательности осуществляли с применением программ Sequence Scanner v 2.0 и MEGA 6.0 (<http://www.megasoftware.net>). Поиск гомологичных последовательностей проводили в международной базе данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение

Штамм NDT23 при культивировании на агаризованной БСР формировал округлые колонии оранжевого цвета диаметром 2–4 мм с ровным краем, гладкой поверхностью, выпуклым профилем, блестящей поверхностью, однородной структурой и мягкой консистенцией. Клетки штамма грамположительные, каталазо-положительные, оксидазо-отрицательные, имеют цикл развития «палочки-кокки». Исследуемый штамм рос при температуре 4–37°C, pH 5.0–9.0. На основе анализа фрагмента гена 16S рРНК (937 п.н.) установлено, что штамм NDT23 проявлял сходство на уровне 100% со штаммами *Rhodococcus fascians* DSM 20669^T и *Rhodococcus cercidiphylli* YIM 65003^T. Нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК штамма NDT23 депонирована в базе данных GenBank под номером ON527782.

Как видно из данных, приведенных в табл. 1, штамм NDT23 способен к росту в жидкой МСР с ДТ в качестве единственного источника углерода и энергии.

Таблица 1

Параметры роста клеток *Rhodococcus* sp. NDT23 в БСР и МСР с дизельным топливом при различных концентрациях хлорида натрия
[Growth parameters of the *Rhodococcus* sp. strain NDT23 in NRM and MRM with diesel fuel at different concentrations of sodium chloride]

Параметры роста	Рост штамма в БСР				Рост штамма в МСР с ДТ (1 г/л)			
	Концентрация NaCl, г/л							
	0	30	50	70	0	30	50	70
Удельная скорость роста (ч ⁻¹)	0.052 ±0.002	0.058 ±0.003	0.047 ±0.002	0.019 ±0.002	0.030 ±0.004	0.017 ±0.003	0.007 ±0.002	0.003 ±0.001
Максимальное значение OP_{600}	2.03	2.1	2.17	2.04	0.98	1.08	0.92	0.69
Лаг-фаза роста (ч)	48	48	72	100	46	46	96	263

Амплификация гена алкан-1-монооксигеназы (*alkB*), ключевого фермента аэробной деградации *n*-алканов (компонентов ДТ), с использованием вырожденных праймеров TS2S и Deg1RE [Smits et al., 1999] приводила к наработке ПЦР-продукта ожидаемого размера (около 550 п.н.). Сравнительный анализ последовательности гена *alkB* штамма *Rhodococcus* sp. NDT23 с гомологичными последовательностями

из базы данных GenBank показал наибольшее (99.10–100%) сходство с *alkB*-генами штаммов рода *Rhodococcus*, выделенных из почвы и тканей растений (рис. 1).

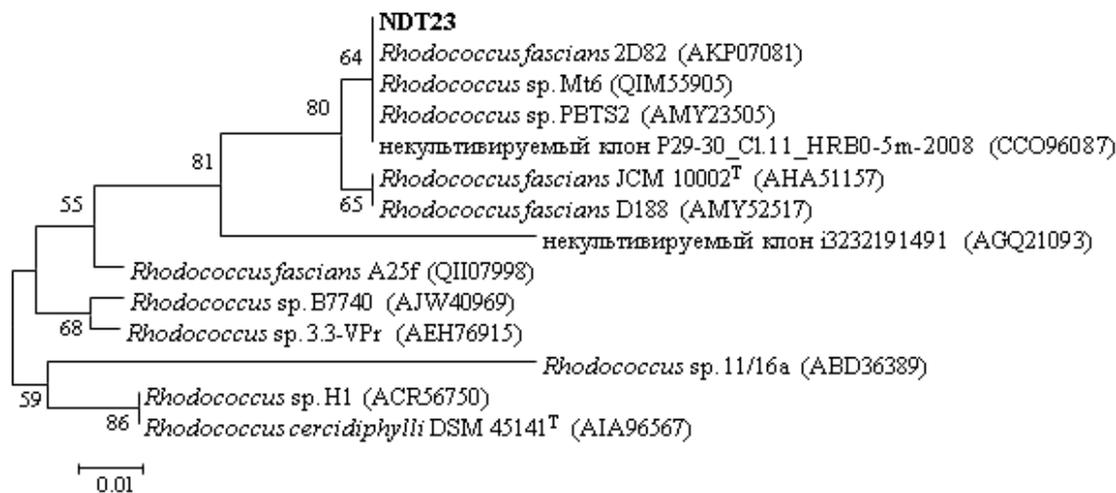


Рис. 1. Положение *alkB*-гена *Rhodococcus* sp. NDT23 на филогенетическом дереве, построенном на основании сравнительного анализа транслированных аминокислотных последовательностей *alkB*-генов с использованием метода «neighbor-joining». Эволюционные расстояния рассчитаны с использованием метода «p-distance».

Цифрами показана статистическая достоверность порядка ветвления, установленная с помощью «bootstrap»-анализа 1 000 альтернативных деревьев (приведены значения выше 50%). Масштаб соответствует 1 аминокислотной замене на каждые 100 аминокислот. В скобках указаны номера в базе данных GenBank

[The position of the *alkB* gene of *Rhodococcus* sp. NDT23 on a phylogenetic tree constructed based on a comparative analysis of the translated amino acid sequences of the *alkB* genes using the “neighbor-joining” method. The evolutionary distances were computed using the “p-distance” method.

The numbers show the statistical significance of the branching order, established using a “bootstrap” test of 1000 alternative trees (values above 50% are given). The scale corresponds to 1 amino acid substitution for every 100 amino acids. Numbers in the GenBank database are given in parentheses]

Штамм NDT23 при культивировании в БСР и МСР способен расти как без NaCl, так и при концентрации соли до 70 г/л (рис. 2А, В). Наибольший рост культуры отмечен в БСР и МСР с ДТ без добавления хлорида натрия и при 30 г/л NaCl. Дальнейшее увеличение концентрации NaCl в обеих средах приводило к замедлению роста культуры. Однако в случае использования среды БСР повышение солёности оказывало меньшее негативное воздействие на рост бактериальных клеток, чем в МСР с ДТ (см. табл. 1). Так, если при концентрации NaCl 70 г/л в БСР удельная скорость роста снижалась в 2.7 раза, максимальная ОП₆₀₀ не изменялась, лаг-фаза роста увеличивалась в 2.1 раза относительно роста штамма в БСР без NaCl, то при росте штамма NDT23 в среде МСР с ДТ при содержании NaCl 70 г/л удельная скорость роста уменьшалась в 10.0 раз, максимальная ОП₆₀₀ – в 1.4 раза, а продолжительность лаг-фазы роста культуры увеличивалась в 5.7 раза.

При культивировании *Rhodococcus* sp. NDT23 на среде с добавлением 30 и 70 г/л NaCl отличия в скорости деструкции ДТ в сравнении с вариантом опыта без добавления NaCl, не обнаружены, в то же время в присутствии 50 г/л NaCl в среде убыль углеводов ДТ увеличивалась в 1.4 раза (рис. 3А). Наименьший (в 3.1 раза ниже в сравнении с культивированием штамма NDT23 в среде без NaCl) уровень утилизации углеводов ДТ выявлен при содержании NaCl в среде 100 г/л, при этом рост бактериальной культуры не обнаруживался (рис. 2В).

Положительное влияние в среде NaCl в количестве 50 г/л на деструкцию ДТ проявлялось вследствие увеличения уровня разложения длинноцепочечных (C₁₄–C₂₀) углеводов, содержание которых в среде снижалось в 1.2–2.5 раза относительно контрольного варианта без добавления NaCl (табл. 2). В то же время положительный эффект повышенной солёности среды на биодegradацию короткоцепочечных (C₉–C₁₃) углеводов не выявлен (табл. 2). Ранее [de Carvalho, 2012] при исследовании деструкции индивидуальных насыщенных (C₁₂–C₁₆) углеводов клетками *Rhodococcus erythropolis* было показано положительное воздействие NaCl в концентрациях до 5% на биодegradацию длинноцепочечных (C₁₂–C₁₆) *n*-алканов при отсутствии аналогичного влияния NaCl в данных концентрациях на биодеструкцию короткоцепочечных (C₆–C₁₁) *n*-алканов. Выявленную закономерность авторы связывали с повышением гидрофобности поверхности бактериальных клеток.

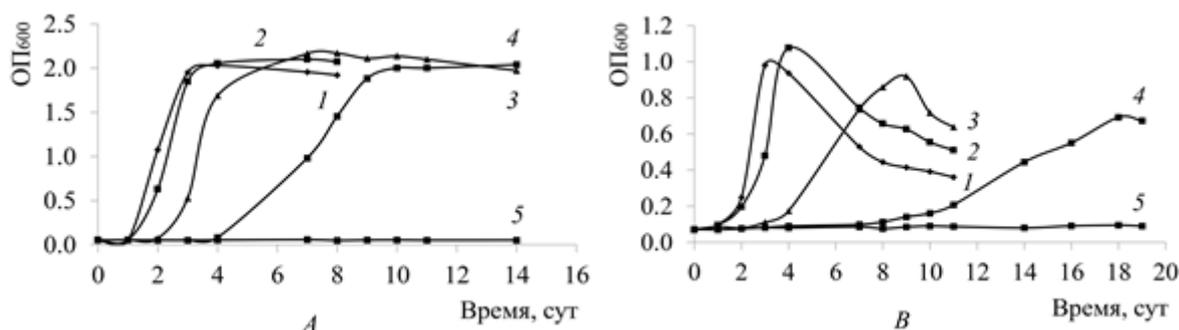


Рис. 2. Рост клеток *Rhodococcus* sp. NDT23 в питательной среде БСР (А) и МСР (В) с дизельным топливом (1 г/л) при различных концентрациях NaCl (г/л):

1 – 0; 2 – 30; 3 – 50; 4 – 70; 5 – 100

[Growth of the *Rhodococcus* sp. strain. NDT23 in NRM (A) and MRM (B) with diesel fuel (1 g/L) at different NaCl concentrations (g/L):

1 – 0; 2 – 30; 3 – 50; 4 – 70; 5 – 100]

Таблица 2

Остаточное содержание (% от начальной концентрации) углеводов ДТ после 14 сут. роста клеток *Rhodococcus* sp. NDT23

[Residual content (% of the initial concentration) of DF hydrocarbons after 14 days of cultivation of the *Rhodococcus* sp. strain NDT23]

Концентрация NaCl в среде, г/л	Количество атомов углерода в углеводороде					
	9	10	11	12	13	14
0	13.0±4.5	17.1±4.7	32.3±3.0	38.8±3.3	65.2±5.9	75.4±4.9
30	10.3±1.8	17.4±4.6	33.5±3.0	41.8±2.1	54.8±5.1	70.5±5.4
50	14.5±2.2	20.4±2.3	33.4±4.6	31.4±4.4	52.8±6.5	65.5±5.9
70	11.4±2.6	26.0±3.1	16.7±3.9	66.6±3.3	61.0±4.9	63.1±4.6
100	63.7±8.1	59.1±5.2	80.1±8.7	93.6±11.6	94.7±16.3	95.1±10.2
Концентрация NaCl в среде, г/л	Количество атомов углерода в углеводороде					
	15	16	17	18	19	20
0	76.7±5.8	80.1±6.9	108.7±8.6	101.5±8.6	106.9±12.6	93.2±7.8
30	56.8±3.6	67.9±9.8	63.2±6.7	60.7±8.2	58.3±9.2	64.5±11.5
50	42.8±5.2	43.8±4.2	44.5±4.1	43.6±5.3	43.2±3.2	41.6±3.2
70	57.7±7.0	57.3±4.2	67.4±5.0	67.9±6.6	52.8±4.9	42.1±6.9
100	98.0±9.4	94.0±9.5	98.5±8.2	97.3±7.2	94.9±9.8	91.6±5.3

Как видно из рис. 3В, с повышением концентрации NaCl в средах БСР и МСР, содержащих ДТ, происходило увеличение гидрофобности поверхности клеток *Rhodococcus* sp. NDT23. Так, гидрофобность бактериальных клеток при культивировании в среде БСР, содержащей 50 и 70 г/л NaCl, увеличивалась в 1.7 и 1.9 раза в сравнении с таковой клеток, выращенных без добавления NaCl. Аналогичное повышение (в 1.3 и 1.6 раза) гидрофобности клеток *Rhodococcus* sp. NDT23 отмечено при культивировании их в среде МСР, содержащей 50 и 70 г/л NaCl, соответственно.

Согласно немногочисленным литературным данным, бактерии характеризуются различными изменениями степени гидрофобности клеточной поверхности под действием засоления. Снижение гидрофобности клеток в условиях засоления выявлено у *Halomonas elongata* [Hart, Vreeland, 1988], *Erythrobacter* sp. [Longang, Buck, Kirkwood, 2016], *Exiguobacterium* sp. [Cao et al., 2020], а увеличение – у представителей рода *Rhodococcus* [Рубцова, Куюкина, Ившина, 2012; Longang, Buck, Kirkwood, 2016] и у почвенных актиномицетов [Zahir et al., 2016]. При этом гидрофобность клеточной поверхности галотолерантных штаммов родококков возрастала с увеличением концентрации NaCl в среде, тогда как гидрофобность клеток *Rhodococcus* spp., не устойчивых к повышенной солености среды, снижалась или не изменялась [Рубцова, Куюкина, Ившина, 2012].

Известно, что степень гидрофобности клеточной стенки играет важную роль в адсорбции микроорганизмами углеводородов и их поглощении, поэтому рост в присутствии углеводородных субстратов сопровождается повышением гидрофобности клеток у многих актинобактерий, в том числе представителей *Dietzia* и *Rhodococcus* [Bredholt et al., 2002; de Carvalho et al., 2007; Hvidstena et al., 2015]. В нашем случае, увеличение гидрофобности клеточной поверхности *Rhodococcus* sp. NDT23 при концентрации 50 г/л NaCl в среде (рис. 3А) способствовало повышению скорости биодеградации длинноцепочечных алканов

(C₁₄–C₂₀) в составе ДТ, которые имеют большую гидрофобность, чем короткоцепочечные углеводороды (C₉–C₁₃) (табл. 2).

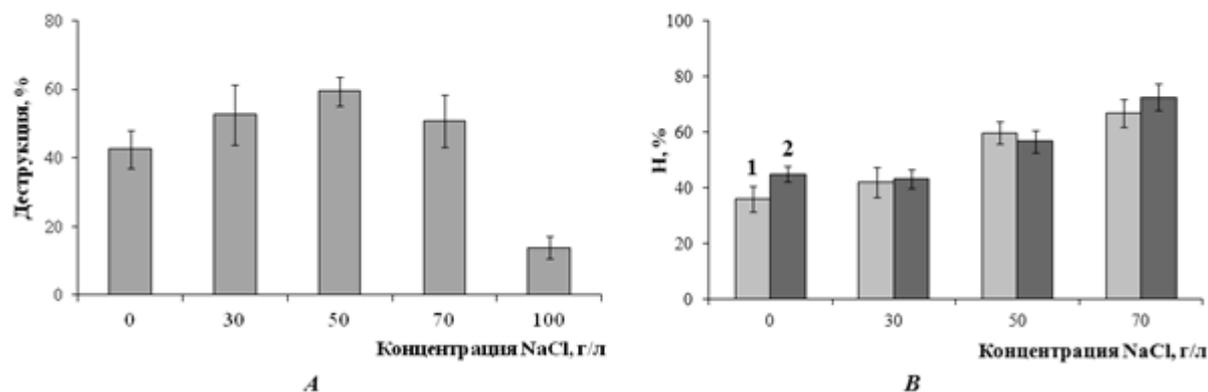


Рис. 3. Влияние различных концентраций NaCl на деструкцию ДТ (А) и гидрофобность клеточной поверхности (Н, %) *Rhodococcus* sp. NDT23 (В) при росте на среде БСР (1) и МСР (2) с добавлением ДТ (1 г/л) через 14 сут. культивирования
 [The influence of different concentrations of NaCl on the destruction of DF (A) and cell surface hydrophobicity (H, %) of *Rhodococcus* sp. NDT23 (B) on NRM (1) and MRM (2) with diesel fuel (1 g/L) after 14 days of cultivation]

Уменьшение скорости биодеструкции ДТ при дальнейшем повышении содержания NaCl в среде до 70 и 100 г/л, очевидно, обусловлено снижением скорости роста и накопления биомассы *Rhodococcus* sp. NDT23 (рис. 2В). Таким образом, в нашей работе показано, что повышенная соленость среды влияет на процесс деструкции родококками углеводородов (C₉–C₂₀) в составе ДТ аналогично биодegradации индивидуальных углеводородов (C₆–C₁₆) клетками *R. erythropolis* [de Carvalho, 2012]. Подтверждено предположение о положительном влиянии солености среды на биодеструкцию углеводородов вследствие повышения гидрофобности клеточной поверхности *Rhodococcus* [de Carvalho, 2012]. Противоположная ситуация отмечена в работе [Сао et al., 2020], в которой при увеличении солености среды происходило снижение гидрофобности клеточной поверхности *Exiguobacterium* sp. N4-1P, что приводило к уменьшению скорости бактериальной деструкции длинноцепочечных алканов, однако, при этом повышалась степень деградация более водорастворимого нафталина.

Заключение

Таким образом, исследованный нами штамм *Rhodococcus* sp. NDT23 способен к эффективному росту на среде с ДТ в присутствии NaCl до 70 г/л и деградации углеводородов ДТ при концентрациях NaCl до 100 г/л. Показано, что с увеличением концентрации NaCl в среде возрастает гидрофобность клеточной поверхности штамма NDT23, что, в свою очередь, приводит к увеличению деструкции ДТ при содержании в среде NaCl в количестве 50 г/л. При этом наличие NaCl в среде в большей степени увеличивало разложение штаммом *Rhodococcus* sp. NDT23 длинноцепочечных углеводородов (C₁₄–C₂₀), чем короткоцепочечных (C₉–C₁₃). Штамм *Rhodococcus* sp. NDT23 может быть использован для разработки биотехнологических методов очистки засоленных экосистем, загрязненных ДТ.

Список источников

1. Методы общей бактериологии: пер. с англ. / под ред. Ф. Герхардта с соавт. М.: Мир, 1983. Т. 1–3.
2. Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии. М.: Академия, 2005. 608 с.
3. Рубцова Е.В., Куюкина М.С., Ившина И.Б. Влияние условий культивирования на адгезивную активность родококков к *n*-гексадекану // Прикладная биохимия и микробиология. 2012. Т. 48, № 5. С. 501–509.
4. Abatenh E. et al. Application of microorganisms in bioremediation-review // J. Env. Microbiol. 2017. Vol. 1(1). P. 2–9.
5. Abed R.M.M., Al-Kharusi S., Al-Hinai M. Effect of biostimulation, temperature and salinity on respiration activities and bacterial community composition in an oil polluted desert soil // Int. Biodeter. Biodegr. 2015. Vol. 98. P. 43–52.
6. Bredholt H. et al. Hydrophobicity development, alkane oxidation, and crude-oil emulsification in a *Rhodococcus* species // Can. J. Microbiol. 2002. Vol. 48(2). P. 295–304.
7. Brzeszcz J., Kaszycki P. Aerobic bacteria degrading both *n*-alkanes and aromatic hydrocarbons: an undervalued strategy for metabolic diversity and flexibility // Biodegrad. 2018. Vol. 29(4). P. 359–407.

8. Cao Y. et al. Microbial eco-physiological strategies for salinity-mediated crude oil biodegradation // *Sci. Total. Environ.* 2020. Vol. 727. P. 1–7.
9. de Carvalho C.C.C.R. Adaptation of *Rhodococcus erythropolis* cells for growth and bioremediation under extreme conditions // *Res. Microbiol.* 2012. Vol. 163. P. 125–136.
10. de Carvalho C.C.C.R. et al. Adaptation of *Rhodococcus erythropolis* cells to high concentrations of toluene // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2007. Vol. 76. P. 1423–1430.
11. Edbeib M.F., Wahab R.A., Huyop F. Halophiles: biology, adaptation, and their role in decontamination of hypersaline environments // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2016. Vol. 32(8). P. 1–23.
12. Gharibzahedi S.M.T., Razavi S.H., Mousavi M. Potential applications and emerging trends of species of the genus *Dietzia*: a review // *Ann. Microbiol.* 2014. Vol. 64. P. 421–429.
13. Hart D.J., Vreeland R.H. Changes in the hydrophobic-hydrophilic cell surface character of *Halomonas elongata* in response to NaCl // *J. Bacteriol.* 1988. Vol. 170. P. 132–135.
14. Hvidsten I. et al. Fatty acids in bacterium *Dietzia* sp: grown on simple and complex hydrocarbons determined as FAME by GC-MS // *Chem. Phys. Lipids.* 2015. Vol. 190. P. 15–26.
15. Khalid F.E. et al. Bioremediation of diesel contaminated marine water by bacteria: a review and bibliometric analysis // *J. Mar. Sci. Eng.* 2021. Vol. 9(2). P. 1–19.
16. Longang A., Buck C., Kirkwood K.M. Halotolerance and effect of salt on hydrophobicity in hydrocarbon-degrading bacteria // *Environ. Technol.* 2016. Vol. 37(9). P. 1133–1140.
17. Maneerat S., Dikit P. Characterization of cell-associated bioemulsifier from *Myroides* sp. SM1, a marine bacterium // *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 2007. Vol. 29(3). P. 769–779.
18. Rosenberg M. Bacterial adherence to hydrocarbons: a useful technique for studying cell surface hydrophobicity // *FEMS Microbiol. Lett.* 1984. Vol. 22. P. 289–295.
19. Smits T.H.M. et al. Molecular screening for alkane hydroxylase genes in gram-negative and gram-positive strains // *Environmental Microbiology.* 1999. Vol. 1(4). P. 307–317.
20. Tarfeen N. et al. Microbial remediation: a promising tool for reclamation of contaminated sites with special emphasis on heavy metal and pesticide pollution: a review // *Proces.* 2022. Vol. 10. P. 1–27.
21. Xu X. et al. Petroleum hydrocarbon-degrading bacteria for the remediation of oil pollution under aerobic conditions: a perspective analysis // *Front. Microbiol.* 2018. Vol. 9. P. 1–11.
22. Zahir H. et al. Effect of salinity on the adhesive power actinomycetes in soil // *J. Mater. Environ Sci.* 2016. Vol. 7(9). P. 3327–3333.

References

1. Gerhardt F., ed. *Metody obščej bakteriologii* [Methods of general bacteriology]. Moscow, Mir Publ., 1983. V. 1-3. (In Russ.).
2. Netrusov A.I. *Praktikum po mikrobiologii* [Practicum on microbiology]. Moscow, Akademiya Publ., 2005. 608 p. (In Russ.).
3. Rubtsova E.V., Kuyukina M.S., Ivshina I.B. Effect of cultivation conditions on the adhesive activity of *Rhodococcus* cells towards *n*-hexadecane. *Appl. Biochem. Microbiol.* V. 48(5) (2012): pp. 452-459.
4. Abatenh E., Gizaw B., Tsegaye Z., Wassie M. Application of microorganisms in bioremediation-review. *J. Env. Microbiol.* V. 1(1) (2017): pp. 2-9.
5. Abed R.M.M., Al-Kharusi S., Al-Hinai M. Effect of biostimulation, temperature and salinity on respiration activities and bacterial community composition in an oil polluted desert soil. *Int. Biodeter. Biodegr.* V. 98 (2015): pp. 43-52.
6. Bredholt H., Bruheim P., Potocky M., Eimhjellen K. Hydrophobicity development, alkane oxidation, and crude-oil emulsification in a *Rhodococcus* species. *Can. J. Microbiol.* V. 48(2) (2002): pp. 295-304.
7. Brzeszcz J., Kaszycki P. Aerobic bacteria degrading both *n*-alkanes and aromatic hydrocarbons: an undervalued strategy for metabolic diversity and flexibility. *Biodegrad.* V. 29(4) (2018): pp. 359-407.
8. Cao Y., Zhang B., Zhu Z., Song X., Cai Q., Chen B., Ye X. Microbial eco-physiological strategies for salinity-mediated crude oil biodegradation. *Sci. Total. Environ.* V. 727 (2020): pp. 1-7.
9. de Carvalho C.C.C.R. Adaptation of *Rhodococcus erythropolis* cells for growth and bioremediation under extreme conditions. *Res. Microbiol.* V. 163 (2012): pp. 125-136.
10. de Carvalho C.C.C.R., Fatal V., Alves S.S., da Fonseca M.M.R. Adaptation of *Rhodococcus erythropolis* cells to high concentrations of toluene. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* V. 76 (2007): pp. 1423-1430.
11. Edbeib M.F., Wahab R.A., Huyop F. Halophiles: biology, adaptation, and their role in decontamination of hypersaline environments. *World J. Microbiol. Biotechnol.* V. 32(8) (2016): pp. 1-23.
12. Gharibzahedi S.M.T., Razavi S.H., Mousavi M. Potential applications and emerging trends of species of the genus *Dietzia*: a review. *Ann. Microbiol.* V. 64 (2014): pp. 421-429.
13. Hart D.J., Vreeland R.H. Changes in the hydrophobic-hydrophilic cell surface character of *Halomonas elongata* in response to NaCl. *J. Bacteriol.* V. 170 (1988): pp. 132-135.

14. Hvidsten I., Mjøs S.A., Bødtker G., Barth T. Fatty acids in bacterium *Dietzia* sp: grown on simple and complex hydrocarbons determined as FAME by GC-MS. *Chem. Phys. Lipids*. V. 190 (2015): pp. 15-26.
15. Khalid F.E., Lim Z.S., Sabri S., Gomez-Fuentes C., Zulkharnain A., Ahmad S.A. Bioremediation of diesel contaminated marine water by bacteria: a review and bibliometric analysis. *J. Mar. Sci. Eng.* V. 9(2) (2021): pp. 1-19.
16. Longang A., Buck C., Kirkwood K.M. Halotolerance and effect of salt on hydrophobicity in hydrocarbon-degrading bacteria. *Environ. Technol.* V. 37(9) (2016): pp. 1133-1140.
17. Maneerat S. Dikit P. Characterization of cell-associated bioemulsifier from *Myroides* sp. SM1, a marine bacterium. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* V. 29(3) (2007): pp. 769-779.
18. Rosenberg M. Bacterial adherence to hydrocarbons: a useful technique for studying cell surface hydrophobicity. *FEMS Microbiol. Lett.* V. 22 (1984): pp. 289-295.
19. Smits T.H.M., Röthlisberger M., Witholt B., van Beilen J.B. Molecular screening for alkane hydroxylase genes in gram-negative and gram-positive strains. *Environmental Microbiology*. V. 1(4) (1999): pp. 307-317.
20. Tarfeen N., Nisa K.U., Hamid B., Bashir Z., Yattoo A.M., Dar M.A., Mohiddin F.A., Amin Z., Ahmad R.A., Sayyed R.Z. Microbial remediation: a promising tool for reclamation of contaminated sites with special emphasis on heavy metal and pesticide pollution: a review. *Proces.* V. 10 (2022): pp. 1-27.
21. Xu X., Liu W., Tian S., Wang W., Qi Q., Jiang P., Gao X., Li F., Li H., Yu H. Petroleum hydrocarbon-degrading bacteria for the remediation of oil pollution under aerobic conditions: a perspective analysis. *Front. Microbiol.* V. 9 (2018): pp. 1-11.
22. Zahir H., Hamadi F., Mallouki B., Imzilm B., Latrache H. Effect of salinity on the adhesive power actinomycetes in soil. *J. Mater. Environ Sci.* V. 7(9) (2016): pp. 3327-3333.

Статья поступила в редакцию 18.09.2023; одобрена после рецензирования 02.10.2023; принята к публикации 02.10.2023.

The article was submitted 18.09.2023; approved after reviewing 02.10.2023; accepted for publication 02.10.2023.

Информация об авторах

А. В. Назаров – кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник, доцент кафедры ботаники и генетики растений;

А. А. Пьянкова – младший научный сотрудник;

Е. С. Корсакова – кандидат биологических наук, научный сотрудник, доцент кафедры ботаники и генетики растений.

Information about the authors

A. V. Nazarov – candidate of biological sciences, associate professor, senior researcher, associate professor of the Department of Botany and Plant Genetics;

A. A. Pyankova – junior researcher;

E. S. Korsakova – candidate of biological sciences, researcher, associate professor of the Department of Botany and Plant Genetics.

Вклад авторов:

Назаров А. В. – концепция исследования; экспериментальная работа; статистическая обработка материала; написание исходного текста; итоговые выводы.

Пьянкова А. А. – экспериментальная работа; статистическая обработка материала; написание исходного текста.

Корсакова Е. С. – доработка текста.

Contribution of the authors:

Nazarov A. V. – research concept; experimental work; statistical processing of material; writing the source text; final conclusions.

Pyankova A. A. – experimental work; statistical processing of material; writing the source text.

Korsakova E. S. – text revision.