

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.2

EDN: UGJFSX

doi: 10.17072/1994-9952-2025-4-406-414



Биопленки углеводородокисляющих бактерий антропогенно нарушенных почв г. Когалыма

А. С. Коробейникова¹, Д. М. Голубев¹, А. К. Тарасюк¹, О. С. Глинская¹,
Д. В. Уткин¹, О. В. Нечаева², Е. В. Глинская¹

¹ Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского, Саратов, Россия

² Саратовский государственный технический университет им. Ю. А. Гагарина, Саратов, Россия

Автор, ответственный за переписку: Дмитрий Михайлович Голубев, dimagolubev2018@yandex.ru

Аннотация. Определены биологические свойства и условия формирования биопленок углеводородокисляющими бактериями для их дальнейшего применения в очистке от нефтезагрязнений и рекультивации антропогенно нарушенных почв. Объектом исследования явились углеводородокисляющие микроорганизмы, выделенные из проб почв г. Когалыма: *Bacillus alcalophilus* WS-3027B, *B. funiculus* LY-2403G, *B. halodurans* MH-3011N, *B. niacini* TC-8101S, *B. psychrodurans* LV-1106E, *Curtobacterium flaccumfaciens* AE-0851V. Для выявления способности бактерий образовывать биопленки использовали метод определения степени формирования биопленок в стационарной фазе роста путем окрашивания кристаллическим фиолетовым по методу O'Toole et al. Обнаружено, что среди нефтеокисляющих микроорганизмов штаммы *B. alcalophilus* WS-3027B и *C. flaccumfaciens* AE-0851V характеризуются плотной продукцией биопленки, штаммы *B. halodurans* MH-3011N, *B. niacini* TC-8101S, *B. funiculus* LY-2403G, *B. psychrodurans* LV-1106E – умеренной продукцией биопленки. Установлены оптимальные условия образования биопленок исследуемыми микроорганизмами. Проведенное изучение биопленкообразования углеводородокисляющих бактерий открывает перспективы использования данных штаммов в качестве активных деструкторов нефтепродуктов при биоремедиации загрязненных почв.

Ключевые слова: биопленки, углеводородокисляющие микроорганизмы, почва, нефтяное загрязнение, биоремедиация

Для цитирования: Биопленки углеводородокисляющих бактерий антропогенно нарушенных почв г. Когалыма / А. С. Коробейникова, Д. М. Голубев, А. К. Тарасюк, Д. В. Уткин, О. В. Нечаева, Е. В. Глинская // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2025. Вып. 4. С. 406–414. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2025-4-406-414>.

Благодарности: авторы выражают благодарность кандидату географических наук, начальнику Отдела минералогических исследований Управления комплексных исследований керна (г. Когалым) Центра исследования керна и пластовых флюидов Филиала ООО «ЛУКОЙЛ-Инжиниринг» «ПермНИПИнефть» Михаилу Владимировичу Решетникову за отбор образцов почв.

MICROBIOLOGY

Original article

Biofilms of hydrocarbon-oxidizing bacteria from anthropogenic disturbed soils in Kogalym

A. S. Korobeynikova¹, D. M. Golubev¹, A. K. Tarasyuk¹, O. S. Glinskaya¹,
D. V. Utkin¹, O. V. Nechaeva², E. V. Glinskaya¹

¹ Saratov National Research State University named after N.G. Chernyshevsky, Saratov, Russia

² Saratov State Technical University named after Yuri Gagarin, Saratov, Russia

Corresponding author: Dmitry M. Golubev, dimagolubev2018@yandex.ru

Abstract. The article is devoted to the determination of the biological properties and conditions of biofilm formation by hydrocarbon-oxidizing bacteria for their further use in oil pollution treatment and remediation of anthropogenic disturbed soils. The object of the study is hydrocarbon-oxidizing microorganisms isolated from soil samples from Kogalym: *Bacillus alcalophilus* WS-3027B, *B. funiculus* LY-2403G, *B. halodurans* MH-

3011N, *B. niacini* TC-8101S, *B. psychrodurans* LV-1106E, *Curtobacterium flaccumfaciens* AE-0851V. Biofilm formation activities were evaluated by the crystal violet staining method for assessing biofilm formation degree in the stationary phase according to O'Toole et al. Among the hydrocarbon-oxidizing microorganisms, *B. alcalophilus* WS-3027B and *C. flaccumfaciens* AE-0851V were found to form dense biofilms, while *B. halodurans* MH-3011N, *B. niacini* TC-8101S, *B. funiculus* LY-2403G, and *B. psychrodurans* LV-1106E exhibited moderate biofilm production. Optimal conditions for the formation of biofilms by the studied microorganisms have been established. The conducted study of biofilm formation of hydrocarbon-oxidizing bacteria opens up prospects for the use of these strains as active destructors of petroleum products in the bioremediation of contaminated soils.

Keywords: soils, oil pollution, reclamation, agrochemical properties, phytotoxicity, ecological functions

For citation: Korobeynikova A. S., Golubev D. M., Tarasyuk A. K., Utkin D. V., Nechaeva O. V., Glinskaya E. V. [Biofilms of hydrocarbon-oxidizing bacteria from anthropogenic soils in Kogalym]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 4 (2025): pp. 405-414. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2025-4-406-414>.

Acknowledgments: the authors express their gratitude to Mikhail V. Reshetnikov, Candidate of Geographical Sciences, Head of the Department of Mineralogical Research (Kogalym) of the Department of Integrated Core Research (Kogalym) of the Center for Core and Reservoir Fluids Research of the Branch of «LUKOIL-Engineering» «PermNIPIneft» company, for soil sampling.

Введение

Нефть является наиболее востребованным энергетическим ресурсом и основой мирового экономического прогресса и процветания, однако, попадая в окружающую среду, она оказывает негативное воздействие, подвергая риску как качество жизни человечества, так и биосферу в целом [Luo et al., 2024]. Разливы нефти пагубно сказываются на плодородии почвы и приводят к потере сельскохозяйственных угодий [Ajona, Vasanthi, 2021]. Вследствие этого требуется применение современных стратегий в проведении очистительных мероприятий для удаления нефти и нефтепродуктов из почв [Tauyeb et al., 2024; Плешакова и др., 2025].

Углеводородные компоненты нефти, благодаря своей химической стабильности и высокой устойчивости к различным биологическим превращениям, являются опасными загрязнителями окружающей среды, трудности удаления их из почвы связаны со сложностью состава и гидрофобностью [Adeniji, Okoh, Okoh, 2017; Vu, Mulligan, 2022; Hegazy et al., 2024].

Физико-химические подходы к удалению разлитой нефти, несмотря на свое частое применение, обычно оказываются непрактичными как с экономической, так и экологической точки зрения [Rosenberg, 1993]. Поэтому биоремедиация, осуществляемая с помощью микроорганизмов, является наиболее подходящим вариантом очистки почвы от нефти и нефтепродуктов [Ajona, Vasanthi, 2021]. Этот метод основан на способности микроорганизмов вовлекать углеводороды в процессы метаболизма, используя их в качестве источника углерода и энергии и приводя к их минерализации с образованием углекислого газа, воды и безвредных соединений [Bala et al., 2022].

Многие бактерии, обитающие в почве, способны образовывать на поверхности клеточной стенки слизистый слой, защищающий их от действия неблагоприятных факторов окружающей среды (механического повреждения, высушивания, осмотического стресса и т.д.). Кроме того, за счет слизиобразования колонии микроорганизмов прочно удерживаются на твердой поверхности, способны к агрегации и образованию биопленок [Сопрунова, Нгуен Виет Тьен, 2010]. Биопленка представляет собой слой иммобилизованных клеточных полимеров, состоящих из полисахаридов, белков, нуклеиновых кислот, липидов и гумуса [Gupta, Thakur, 2016]. Именно благодаря биопленкам бактерии получают ряд преимуществ, таких как способность к адгезии, возможность обмена метаболитами и устойчивость к стрессам окружающей среды [Santos et al., 2018]. Исследование бактериальных биопленок и условий их формирования позволит глубже изучить экологию микроорганизмов и поможет в разработке биопрепаратов, направленных на очищение загрязненных углеводородами нефти почв [Verma et al., 2023; van Hoogstraten et al., 2024]. Оптимальная температура образования биопленки для большей части бактериальных организмов – в пределах от 20 до 30°C. Снижение температуры ниже 9–10°C резко ухудшает условия деятельности микроорганизмов [Прикладная экобиотехнология, 2012]. Кроме того, pH среды также оказывает влияние на формирование биопленки [Hostaka, Ciznár, Stefkovicová, 2010; Спирина, Русакова, 2021]. Способность углеводородоокисляющих бактерий к образованию биопленок в почвах с различными значениями pH (кислыми, нейтральными, щелочными) в широком диапазоне температур является важным фактором при разработке препаратов для биоремедиации почв от нефтезагрязнений.

Цель исследования – определить биологические свойства и условия формирования биопленок углеводородоокисляющими бактериями.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования явились 6 штаммов углеводородокисляющих бактерий (*Bacillus alcalophilus* WS-3027B, *B. funiculus* LY-2403G, *B. niacini* TC-8101S, *B. psychrodurans* LV-1106E, *B. halodurans* MH-3011N, *Curtobacterium flaccumfaciens* AE-0851V), выделенных из проб почв, отобранных на территории г. Когалыма Ханты-Мансийского автономного округа (ХМАО) Тюменской обл.

Город Когалым расположен в зоне вечной мерзлоты. Климат г. Когалыма, находящийся под непосредственным влиянием Арктики, характеризуется как резко континентальный (субарктический) с суровой продолжительной зимой и коротким теплым летом. Температура почвы на глубине 20 см составляет в среднем 8–9°C [График температуры: эл. ресурс]. Почва на территории г. Когалыма относится к группе дистрик-гистосолей – торфяно-болотных почв верховых болот, характеризующихся кислой средой [Клебанович, 2015; Почвы Когалыма: эл. ресурс; Дистрик-гистосоль: эл. ресурс].

В связи с этим представляет интерес изучение способности к формированию биопленок у представителей указанных выше видов при данных климатических и эдафических факторах.

Для оценки степени формирования биопленок использовали агаровые бактериальные культуры в стационарной фазе роста. Бактерии выращивали на ГРМ-агаре pH 7.2 (ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, Оболенск) при температуре 28°C в течение 24 ч. Бактериальные взвеси готовили в 0.9% растворе хлорида натрия в концентрации, соответствующей 10 единицам отраслевого стандартного образца мутности (ОСО 42-28-59-85П (10 МЕ), ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России), эквивалентной концентрации 1.1×10^8 КОЕ/мл *Bacillus* sp. [СО мутности...: эл. ресурс]. Взвеси микроорганизмов переносили в ГРМ-бульон (ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, Оболенск) с pH, равной 3, 5, 7, 8 и 9, до конечной концентрации 5×10^7 КОЕ/мл. Культуры микроорганизмов в бульоне вносили по 200 мкл в лунки полистироловых 96-луночных плоскодонных планшетов для культивирования клеток и тканей (Jet Bio-Filtration, Китай, РУ № ФСЗ 2012/12495 от 02.06.2020 г.) и инкубировали при температурах 6, 28, 37, 42°C без встряхивания в течение 72 ч. В лунки отрицательного контроля вносили 200 мкл ГРМ-бульона pH 7.2. Далее из лунок планшетов отбирали среду с планктонными клетками, лунки промывали в течение 2–3 мин стерильным физиологическим раствором в объеме 200 мкл. Физиологический раствор полностью удаляли из лунок и высушивали планшеты в течение 20 мин. Окраску биопленок на поверхности лунок проводили по методу O'Toole, основанному на способности красителя кристаллического фиолетового связываться с клетками и внеклеточным матриксом биопленок [O'Toole, Kaplan, Kolter, 2000]. Для этого в лунки планшетов вносили по 200 мкл отфильтрованного 0.2% раствора кристаллического фиолетового в 96% этиловом спирте и инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре. Краситель удаляли из лунок. Несвязавшийся краситель отмывали троекратно водопроводной водой. Планшеты высушивали 30 мин. Затем в лунки добавляли 96% раствор этанола в объеме 200 мкл для элюции связанного с биопленкой красителя. Растворитель отбирали, помещали в чистые плоскодонные планшеты и измеряли оптическую плотность при длине волны 595 нм. В качестве контроля использовали лунки, инкубированные с чистой средой, подвергнутые аналогичным манипуляциям.

Количественную оценку образования биопленки в каждой лунке проводили по формуле [Adeniji, Okoh, Okoh, 2017]:

$$OD_{\text{отн}} = OD_{\text{абс}} / OD_{\text{с}},$$

где $OD_{\text{отн}}$ – относительная оптическая плотность красителя, $OD_{\text{абс}}$ – абсолютная оптическая плотность красителя, $OD_{\text{с}}$ – оптическая плотность (OD) отрицательного контроля + $3sd$.

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

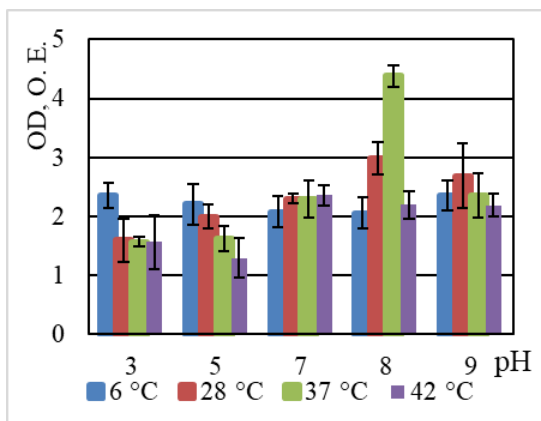
Статистическую обработку полученных данных осуществляли с применением общепринятых статистических методов [Урбах, 1975; Лакин, 1990] в программе Microsoft Office Excel (Microsoft, США).

Результаты и их обсуждение

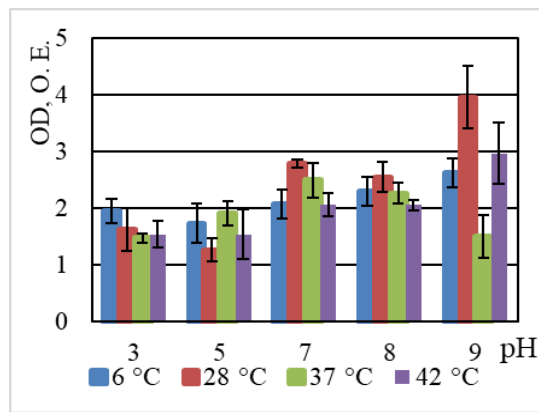
Полученные результаты представлены на рисунке и в таблице.

По нашим данным, максимальная продукция биопленки наблюдается у всех штаммов в температурном оптимуме их роста: *B. halodurans* MH-3011N – при 37°C, *B. niacini* TC-8101S – 30°C, *B. alcalophilus* WS-3027B – 30°C, *B. funiculus* LY-2403G – 22°C, *B. psychrodurans* LV-1106E – 22°C, *C. flaccumfaciens* AE-0851V – 30°C [Bacterial Diversity: эл. ресурс]. Среди изучаемых углеводородокисляющих микроорганизмов 2 штамма – *Bacillus alcalophilus* WS-3027B и *C. flaccumfaciens* AE-0851V – характеризуются плотной продукцией биопленки по (Stepanovic, Vuković, Hola [2007]), остальные 4 штамма – *B. halodurans* MH-3011N, *B. niacini* TC-8101S, *B. funiculus* LY-2403G, *B. psychrodurans* LV-1106E характеризуются умеренной продукцией биопленки (см. таблицу). Для большинства исследованных штаммов максимальная продукция биопленки наблюдалась при нейтральных и щелочных показателях среды. Это согласуется с литературными данными об адаптации гало- и алкалофильных бактерий к высоким значениям pH, к кото-

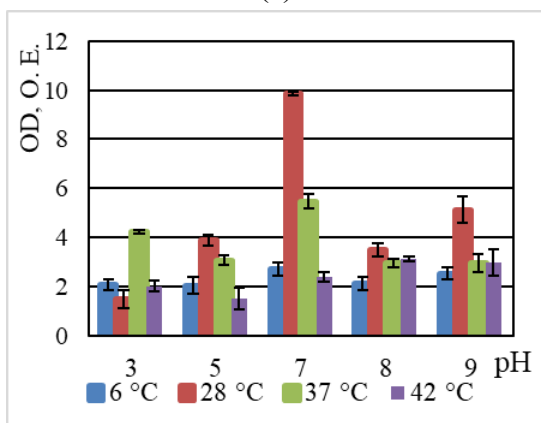
рым относятся *B. halodurans* MH-3011N, *B. alcalophilus* WS-3027B, к высоким значениям pH [Irwin, 2020; *Alkalihalobacillus*: эл. ресурс].



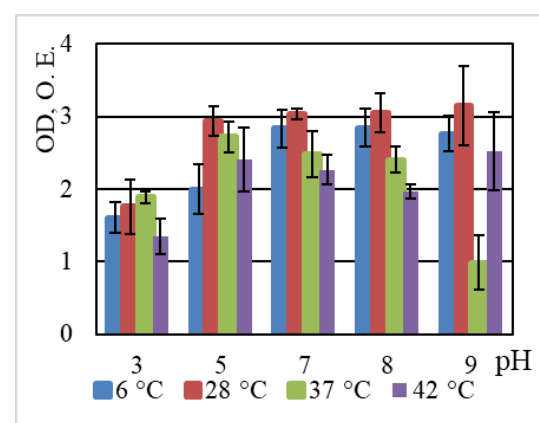
(а)



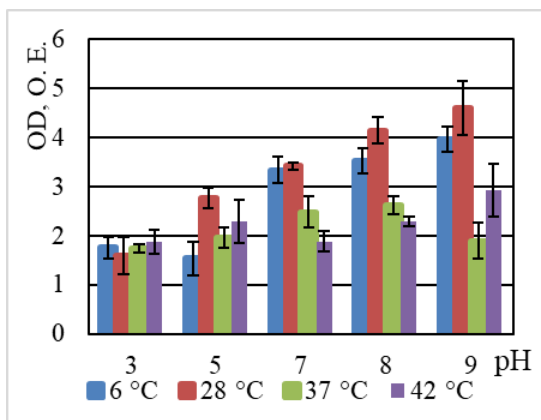
(б)



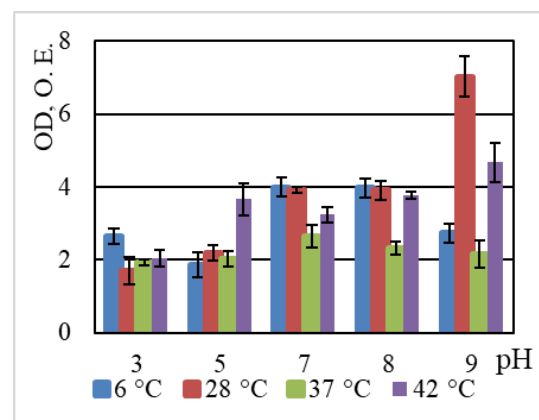
(в)



(г)



(д)



(е)

Способность к биопленкообразованию штаммами:

B. halodurans MH-3011N (а), *B. niacini* TC-8101S (б), *B. alcalophilus* WS-3027B (в),
B. funiculus LY-2403G (г), *B. psychrodurans* LV-1106E (д), *C. flaccumfaciens* AE-0851V (е)

Biofilm-forming capability of the strains:

B. halodurans MH-3011N (а), *B. niacini* TC-8101S (б), *B. alcalophilus* WS-3027B (в),
B. funiculus LY-2403G (д), *B. psychrodurans* LV-1106E (е), *C. flaccumfaciens* AE-0851V (е)]

Условия биопленкообразования микроорганизмами
[Conditions of biofilm formation by microorganisms]

Штамм	Характеристика
<i>B. halodurans</i> MH-3011N	Наибольшая продукция биопленки наблюдается в щелочной среде (pH 8) при температуре 37°C. При кислых pH (pH=3.5) максимальная продукция биопленки наблюдается при температуре 6°C. Продукция биопленки умеренная.
<i>B. niacini</i> TC-8101S	Наибольшая продукция биопленки наблюдается в щелочной среде (pH 9) при температуре 28°C. При кислых pH (pH=3) максимальная продукция биопленки наблюдается при температуре 6°C. Продукция биопленки умеренная.
<i>B. alcalophilus</i> WS-3027B	Наибольшая продукция биопленки наблюдается в нейтральной среде (pH 7) и в щелочной среде (pH 9) при температуре 28°C. Штамм характеризуется плотной продукцией биопленки (OD ₆₀₀ >4).
<i>B. funiculus</i> LY-2403G	Равномерная продукция биопленки наблюдается в широком диапазоне pH (от 5 до 9) при температуре 28 и 6°C. Продукция биопленки умеренная.
<i>B. psychrodurans</i> LV-1106E	Наибольшая продукция биопленки наблюдается в щелочной среде (pH 9) при температуре 28 и 6°C. Продукция биопленки умеренная.
<i>C. flaccumfaciens</i> AE-0851V	Наибольшая продукция биопленки наблюдается в щелочной среде (pH 9) при температуре 28°C. При кислых pH (pH 3) максимальная продукция биопленки наблюдается при температуре 6°C. Штамм характеризуется плотной продукцией биопленки (OD ₆₀₀ >4).

В то же время представляет интерес поиск штаммов, сохраняющих способность к формированию биопленки в экстремальных условиях субарктического пояса при низких температурах и кислой среде подзолистых почв, подзолов и верховых торфяников для практического использования при биоремедиации почв от нефтезагрязнений углеводородами. Установлено, что в кислых средах у всех штаммов сохранялась умеренная продукция биопленки.

Максимальная продукция биопленки у большинства штаммов наблюдалась при оптимальной температуре роста 28°C. Однако ряд штаммов сохраняли умеренную продукцию биопленки при низких температурах в кислых и слабокислых средах – условиях, имитирующих вечную мерзлоту. Следовательно, наиболее подходящими видами для биоремедиации почв г. Когалыма с учетом биопленкообразования и экологических условий (кислые почвы, низкие температуры) оказались *B. halodurans* MH-3011N, *B. niacini* TC-8101S, *C. flaccumfaciens* AE-0851V (таблица). В то же время вид *C. flaccumfaciens* AE-0851V в качестве свободноживущих бактерий длительно не сохраняется в почве, т. к. не образует спор [*Curtobacterium flaccumfaciens*: эл. ресурс].

Заключение

Таким образом, проведена оценка эффективности биопленкообразования 6 штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов родов *Bacillus* и *Curtobacterium*, выделенных из проб почв г. Когалыма. Установлено, что штаммы углеводородокисляющих бактерий способны к максимальной продукции биопленки в оптимальных для своего роста условиях. В то же время отмечено, что представители *B. halodurans* MH-3011N, *B. niacini* TC-8101S, *C. flaccumfaciens* AE-0851V характеризуются умеренной способностью к пленкообразованию при низких температурах и кислых значениях pH среды, что свидетельствует о перспективности их использования при разработке биопрепаратов для биоремедиации почв от нефтезагрязнений в условиях субарктического пояса.

Полученные в результате исследования данные можно использовать для комплексного подхода при биоремедиации урбосистем и прогнозирования состояния антропогенно нарушенных территорий. Проведенное изучение биопленкообразования углеводородокисляющих бактерий, выделенных из проб почв г. Когалыма, открывает перспективы использования представителей данных видов в качестве активных деструкторов нефтепродуктов.

Список источников

1. График температуры грунта за 2022–2023 годы. Ханты-Мансийский авт. окр. Когалым // Климатический справочник Когалым. URL: https://climate-energy.ru/weather/2017/temp/kogalym_t_grunt_2017.php?ysclid=lsebpl6yar847311406 (дата обращения: 17.02.2024).
2. Дистрик-гистосоль // Китайско-русский словарь. URL: <https://www.zhonga.ru/chinese-russian/%E9%85%B8%E6%80%A7%E6%9C%89%E6%9C%BA%E5%9C%9F/7r2u2?mobile=false> (дата обращения: 17.02.2024).
3. Клебанович Н.В. Почвы мира в системе WRB: практикум для студентов. Минск, 2015. 41 с.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая шк., 1990. 350 с.
5. Почвы Когалыма // Доморост. URL: <https://old.domorost.ru/maps/country/rossiya/region/hanty-mansijskij-avtonomnyj-okrug/district/kogalym/type/soil> (дата обращения: 17.02.2024).
6. Плешакова Е.В. и др. Геохимическая и микробиологическая индикация техногенной трансформации почв города Балаково (Саратовская область) // Трансформация экосистем. 2025. Т. 8, № 3(30). С. 99–117. DOI: 10.23859/estr-240514. EDN: MWDLQH.
7. Прикладная эколобиотехнология / А.Е. Кузнецов, Н.Б. Градова, С.В. Лушников и др. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. Т. 1. 638 с.
8. СО мутности бактериальных взвесей (ОСО 42-28-85 + ОСО 42-28-86) // Лабораторная диагностика. URL: <https://www.ld.ru/laboratory/item-663491.html?ysclid=lsqb8f5jm44552925345> (дата обращения: 17.02.2024).
9. Сопрунова О.Б., Нгуен Виет Тьен. Перспективы использования слизееобразующих бактерий в нефтяной отрасли // Юг России: экология, развитие. 2010. Т. 5, № 4. С. 91–93.
10. Спирина А.А., Русакова М.В. Влияние параметров окружающей среды на образование биопленок // Материалы XIII Междунар. студ. науч. конф. «Студенческий научный форум». 2021. URL: <https://scienceforum.ru/2021/article/2018024230?ysclid=lsqb8w8qdy45047624> (дата обращения: 17.02.2024).
11. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. М.: Медицина, 1975. 297 с.
12. Adeniji A.O., Okoh O.O., Okoh A.I. Analytical methods for the determination of the distribution of total petroleum hydrocarbons in the water and sediment of aquatic systems: A review // Journal of Chemistry. 2017. Vol. 2017. Art. 13. DOI: 10.1155/2017/5178937.
13. Ajona M., Vasanthi P. Bio-remediation of crude oil contaminated soil using recombinant native microbial strain // Environmental Technology & Innovation. 2021. Vol. 23. Art. 101635. DOI: 10.106/j.eti.2021.101635.
14. *Alkalihalobacillus alcalophilus* // BacDive. URL: <https://bacdive.dsmz.de/strain/572> (дата обращения: 17.02.2024).
15. Bacterial Diversity Metadatabase BacDive // BacDive. URL: <https://bacdive.dsmz.de> (дата обращения: 17.02.2024).
16. Bala S. et al. Recent strategies for bioremediation of emerging pollutants: a review for a green and sustainable environment // Toxics. 2022. Vol. 10, № 8. Art. 484. DOI: 10.3390/toxics10080484.
17. *Curtobacterium flaccumfaciens* // BacDive. URL: <https://bacdive.dsmz.de/strain/7309> (дата обращения: 17.02.2024).
18. Gupta A., Thakur I.S. Study of optimization of wastewater contaminant removal along with extracellular polymeric substances (EPS) production by a thermotolerant *Bacillus* sp. ISTVK1 isolated from heat shocked sewage sludge // Bioresource Technology. 2016. Vol. 213. P. 21–30. DOI: 10.1016/j.biotech.2016.02.040.
19. Hegazy G.E. et al. Isolation and characterization of *Candida tropicalis* B: a promising yeast strain for biodegradation of petroleum oil in marine environments // Microbial Cell Factories. 2024. Vol. 23, № 1. Art. 20. DOI: 10.1186/s12994-023-02292-y.
20. Hostacká A., Ciznár I., Stefkovicová M. Temperature and pH affect the production of bacterial biofilm // Folia Microbiologica. 2010. Vol. 55. P. 75–78. DOI: 10.1007/s12223-010-0012-y.
21. Irwin J.A. Overview of extremophiles and their food and medical applications // Physiological and biotechnological aspects of extremophiles. Academic Press, 2020. P. 65–87. DOI: 10.1016/B978-0-12-818322-9.00006-X.
22. Luo Q. et al. Bioremediation of diesel oil polluted seawater by a hydrocarbon-degrading bacterial consortium with oleophilic nutrients // Regional Studies in Marine Science. 2024. Vol. 71. Art. 103412. DOI: 10.21203/rs.3.rs-2637014/v1.
23. O'Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development // Annual Review of Microbiology. 2000. Vol. 54. P. 49–79. DOI: 10.1146/annurev.micro.54.1.49.
24. Rosenberg E. Exploiting microbial growth on hydrocarbons – new markets // Trends in Biotechnology. 1993. Vol. 11, № 10. P. 419–424.

25. Santos A.L.S. et al. What are the advantages of living in a community? A microbial biofilm perspective! // *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2018. Vol. 113, № 9. Art. 180212. DOI: 10.1590/0074-02760180212.
26. Stepanović S., Vuković D., Hola V. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci // *APMIS*. 2007. Vol. 115. P. 891–899. DOI: 10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x.
27. Tayyeb S.R. et al. Microbial community response to biostimulation and bioaugmentation in crude oil-polluted sediments of the Persian Gulf: A microcosm simulation study // *Environmental Research*. 2024. Vol. 249. Art. 118197. DOI: 10.106/j.envres.2024.118197.
28. van Hoogstraten S.W.G. et al. Molecular imaging of bacterial biofilms – a systematic review // *Critical Reviews in Microbiology*. 2024. P. 971–992. DOI: 10.1080/1040841X.2023.2223704.
29. Verma R.K. et al. Role of microbial biofilms in bioremediation: Current perspectives // *Microbial Inoculants*. 2023. P. 253–276. DOI: 10.1016/B978-0323-99043-100001-3.
30. Vu K.A., Mulligan C.N. Remediation of oil-contaminated soil using Fe/Cu nanoparticles and biosurfactants // *Environmental Technology*. 2022. Vol. 44, № 22. P. 3446–3458. DOI: 10.1080/09593330.2022.2061381.

References

1. *Grafik temperatury grunta za 2022-2023 gody* [Graph of ground temperature for 2022-2023. Khanty-Mansiysk Autonomous Okrug. Kogalym. Kogalym Climate Reference Book]. Available at: https://climate-energy.ru/weather/2017/temp/kogalym_t_grunt_2017.php?ysclid=lsebp6yar847311406 (accessed 17.02.2024). (In Russ.).
2. *Distrik-giistosol'. Kitajsko-russkij slovar'* [District-histosol. Chinese-Russian Dictionary]. Available at: <https://www.zhong.ru/chinese-russian/%E9%85%B8%E6%80%A7%E6%9C%89%E6%9C%BA%E5%9C%9F/7r2u2?mobile=false> (accessed 17.02.2024). (In Russ.).
3. Klebanovich N.V. *Počvy mira v sisteme WRB* [The soils of the world in the WRB system: a workshop for students of specialty 1-56 02 02]. Minsk, BSU Publ., 2015. 41 p. (In Russ.).
4. Lakin G.F. *Biometrija* [Biometrics]. Moscow, Vysšaja škola Publ., 1990. 350 p. (In Russ.).
5. *Počvy Kogalyma* [The soils of Kogalym. Domorost]. Available at: <https://old.domorost.ru/maps/country/rossiya/region/hanty-mansijskij-avtonomnyj-okrug/district/kogalym/type/soil> (accessed 17.02.2024). (In Russ.).
6. Pleshakova E.V. et al. [Geochemical and microbiological indication of technogenic transformation of soils in the city of Balakovo (Saratov region)]. *Transformacija ekosistem*. V. 8, No. 3(30) (2025): pp. 99-117. (In Russ.). DOI: 10.23859/estr-240514. EDN: MWDLQH.
7. Kuznetsov A.E., Gradova N.B., Lushnikov S.V. et al. *Prikladnaja ekobiotehnologija* [Applied ecobiotechnology]. Moscow, BINOM. Laboratorija znaniy Publ., 2012, V. 1. 638 p. (In Russ.).
8. *CO mutnosti bakterijnyh vzvesej* [Standard turbidity samples of bacterial suspensions (CCA 42-28-85 + CCA 42-28-86). Laboratory diagnostics]. Available at: <https://www.ld.ru/laboratory/item-663491.html?ysclid=lsq8f5jm44552925345> (accessed 17.02.2024). (In Russ.).
9. Soprunova O.B., Nguyen Viet Thien. [Prospects for the use of mucus-forming bacteria in the oil industry]. *Jug Russii: ekologija, razvitie*. V. 5, No. 4 (2010): pp. 91-93. (In Russ.).
10. Spirina A.A., Rusakova M.V. [Influence of environmental parameters on biofilm formation]. *Materialy XIII Meždunarodnoj studenčeskoj naučnoj konferencii* [Materials of the XIII International Student Scientific Conference "Student Scientific Forum - 2021"]. Available at: <https://scienceforum.ru/2021/article/2018024230?ysclid=lsqb8w8qdy45047624> (accessed 17.02.2024). (In Russ.).
11. Urbach V.Y. *Statističeskij analiz v biologičeskich i medicinskih issledovanijach* [Statistical analysis in biological and medical research]. Moscow, Medicina Publ., 1975. 297 p.
12. Adeniji A.O., Okoh O.O., Okoh A.I. Analytical methods for the determination of the distribution of total petroleum hydrocarbons in the water and sediment of aquatic systems: A review. *Journal of Chemistry*. V. 2017 (2017). Art. 13. DOI: 10.1155/2017/5178937.
13. Ajona M., Vasanthi P. Bio-remediation of crude oil contaminated soil using recombinant native microbial strain. *Environmental Technology & Innovation*. V. 23 (2021). Art. 101635. DOI: 10.106/j.eti.2021.101635.
14. *Alkalihalobacillus alcalophilus*. BacDive. Available at: <https://bacdive.dsmz.de/strain/572> (accessed 17.02.2024).
15. Bacterial Diversity Metadatabase BacDive. BacDive. Available at: <https://bacdive.dsmz.de> (accessed 17.02.2024).
16. Bala S. et al. Recent strategies for bioremediation of emerging pollutants: a review for a green and sustainable environment. *Toxics*. V. 10, No. 8 (2022). Art. 484. DOI: 10.3390/toxics10080484.
17. *Curtobacterium flaccumfaciens*. BacDive. Available at: <https://bacdive.dsmz.de/strain/7309> (accessed 17.02.2024).

18. Gupta A., Thakur I.S. Study of optimization of wastewater contaminant removal along with extracellular polymeric substances (EPS) production by a thermotolerant *Bacillus* sp. ISTVK1 isolated from heat shocked sewage sludge. *Bioresource Technology*. V. 213 (2016): pp. 21-30. DOI: 10.1016/j.biotech.2016.02.040.
19. Hegazy G.E. et al. Isolation and characterization of *Candida tropicalis* B: a promising yeast strain for biodegradation of petroleum oil in marine environments. *Microbial Cell Factories*. V. 23, No. 1 (2024). Art. 20. DOI: 10.1186/s12994-023-02292-y.
20. Hostacká A., Ciznár I., Stefkovicová M. Temperature and pH affect the production of bacterial biofilm. *Folia Microbiologica*. V. 55 (2010): pp. 75-78. DOI: 10.1007/s12223-010-0012-y.
21. Irwin J. A. Overview of extremophiles and their food and medical applications. In: Physiological and biotechnological aspects of extremophiles. Academic Press, 2020, pp. 65-87. DOI: 10.1016/B978-0-12-818322-9.00006-X.
22. Luo Q. et al. Bioremediation of diesel oil polluted seawater by a hydrocarbon-degrading bacterial consortium with oleophilic nutrients. *Regional Studies in Marine Science*. V. 71 (2024). Art. 103412. DOI: 10.21203/rs.3.rs-2637014/v1.
23. O'Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Annual Review of Microbiology*. V. 54 (2000): P. 49-79. DOI: 10.1146/annurev.micro.54.1.49.
24. Rosenberg E. Exploiting microbial growth on hydrocarbons – new markets. *Trends in Biotechnology*. V. 11, No. 10 (1993): pp. 419-424.
25. Santos A.L.S. et al. What are the advantages of living in a community? A microbial biofilm perspective! *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. V. 113, No. 9 (2018). Art. 180212. DOI: 10.1590/0074-02760180212.
26. Stepanović S., Vuković D., Hola V. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*. V. 115 (2007): pp. 891-899. DOI: 10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x.
27. Tayyeb S.R. et al. Microbial community response to biostimulation and bioaugmentation in crude oil-polluted sediments of the Persian Gulf: A microcosm simulation study. *Environmental Research*. V. 249 (2024). Art. 118197. DOI: 10.106/j.envres.2024.118197.
28. van Hoogstraten S.W.G. et al. Molecular imaging of bacterial biofilms – a systematic review. *Critical Reviews in Microbiology*. (2024): pp. 971-992. DOI: 10.1080/1040841X.2023.2223704.
29. Verma R.K. et al. Role of microbial biofilms in bioremediation: Current perspectives. In: Microbial Inoculants, 2023, pp. 253-276. DOI: 10.1016/B978-0323-99043-100001-3.
30. Vu K.A., Mulligan C.N. Remediation of oil-contaminated soil using Fe/Cu nanoparticles and biosurfactants. *Environmental Technology*. V. 44, No. 22 (2022): pp. 3446-3458. DOI: 10.1080/09593330.2022.2061381.

Статья поступила в редакцию 03.11.2025; одобрена после рецензирования 06.11.2025; принята к публикации 02.12.2025.

The article was submitted 03.11.2025; approved after reviewing 06.11.2025; accepted for publication 02.12.2025.

Информация об авторах

Анастасия Сергеевна Коробейникова – korobeinikovaanastasija@yandex.ru, магистрант кафедры микробиологии и физиологии растений;

Дмитрий Михайлович Голубев – dimagolubev2018@yandex.ru, магистрант кафедры микробиологии и физиологии растений;

Анна Константиновна Тарасюк – annatarasyuk011201@gmail.com, аспирант, инженер кафедры микробиологии и физиологии растений;

Ольга Сергеевна Глинская – glinskayolya@gmail.com, студент кафедры романо-германской филологии и переводоведения;

Денис Валерьевич Уткин – twoduck@yandex.ru, д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии и физиологии растений;

Ольга Викторовна Нечаева – olgav.nechaeva@rambler.ru, д-р биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии отдела молекулярной микробиологии и биоинформатики; профессор кафедры медицинской микробиологии им. акад. З.В. Ермольевой;

Елена Владимировна Глинская – elenavg-2007@yandex.ru, канд. биол. наук, доцент кафедры микробиологии и физиологии растений.

Information about the authors

Anastasia S. Korobeynikova – korobeinikovaanastasija@yandex.ru, master's student of the Department of Microbiology and Plant Physiology;

Dmitry M. Golubev – dimagolubev2018@yandex.ru, master's student of the Department of Microbiology and Plant Physiology;

Anna K. Tarasyuk – annatarasyuk011201@gmail.com, postgraduate student, Laboratory assistant at the Department of Microbiology and Plant Physiology;

Olga S. Glinskaya – glinskayolya@gmail.com, student, Department of Romance and Germanic Philology and Translation Studies;
Denis V. Utkin – twoduck@yandex.ru, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Microbiology and Plant Physiology;
Olga V. Nechaeva – olgav.nechaeva@rambler.ru, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology; Professor of the Department of Medical Microbiology named after Academician Z.V. Ermolyeva;
Elena V. Glinskaya – elenavg-2007@yandex.ru, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Microbiology and Plant Physiology.

Вклад авторов:

Коробейникова А. С. – сбор материала; выделение и определение видов бактерий; анализ материала; проведение работы и анализ полученных результатов; интерпретация результатов; первичная обработка данных; написание работы; составление текста статьи.
Голубев Д. М. – анализ материала; проведение работы и анализ полученных результатов; написание работы; составление текста статьи.
Тарасюк А. К. – анализ материала; проведение работы и анализ полученных результатов; написание работы; составление текста статьи.
Глинская О. С. – написание работы; составление текста статьи.
Уткин Д. В. – разработка концепции работы; создание идеи исследования и составление плана работы; анализ материала; проведение работы и анализ полученных результатов; интерпретация результатов; первичная обработка данных; написание работы; составление текста статьи; внесение корректуры в обработанные текстовые данные по результатам эксперимента.
Нечаева О. В. – разработка концепции работы; создание идеи исследования и составление плана работы; внесение корректуры в обработанные текстовые данные по результатам эксперимента.
Глинская Е. В. – разработка концепции работы; создание идеи исследования и составление плана работы; сбор материала; выделение и определение видов бактерий; анализ материала; проведение работы и анализ полученных результатов; внесение корректуры в обработанные текстовые данные по результатам эксперимента.

Contribution of the authors:

Korobeynikova A. S. – collection of material; isolation and identification of bacterial species; analysis of the material, carrying out work and result analysis; result interpretation; interpretation of the results; primary data processing; writing the work; drafting the text of the article.
Golubev D. M. – analysis of the material; carrying out the work and analyzing the results obtained; writing the work; drafting the text of the article.
Tarasyuk A. K. – analysis of the material; carrying out the work and analyzing the results obtained; writing the work; drafting the text of the article.
Glinskaya O. S. – writing the work; drafting the text of the article.
Utkin D. V. – development of a work concept; creation of a research idea and drawing up a work plan; analysis of the material; carrying out work and analyzing the results; interpretation of the results; primary data processing; writing a paper; drafting an article; correcting the processed text data based on the results of the experiment.
Nechaeva O. V. – development of a work concept; creation of a research idea and preparation of a work plan; correction of processed text data based on the results of the experiment.
Glinskaya E. V. – development of a work concept; creation of a research idea and preparation of a work plan; collection of material; isolation and identification of bacterial species; analysis of the material; carrying out work and analyzing the results obtained; correction of processed text data based on the results of the experiment.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interests.