

Аэробная деградация углеводородов в холодных кислых почвах: геномное профилирование бактерий-деструкторов

© 2026. А. Д. Мошкин¹, м. н. с., О. В. Охлопкова¹, к. б. н., с. н. с.,
Л. С. Адаменко¹, м. н. с., А. В. Глушков¹, м. н. с.,
А. Ю. Алексеев^{1,2}, к. б. н., ведущий научный сотрудник-руководитель лаборатории,
Р. Абдинов³, кандидат наук, с. н. с., А. А. Гаджиев², к. б. н., проректор по науке,
А. М. Шестопалов¹, д. б. н., главный научный сотрудник-директор института,
¹НИИ вирусологии, Федеральный исследовательский центр фундаментальной
и трансляционной медицины,
630060, Россия, г. Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2,
²Дагестанский государственный университет,
367000, Россия, г. Махачкала, ул. Магомета Гаджиева, д. 43а,
³НАО Казахский научно-исследовательский институт Каспийского моря,
130000, Казахстан, г. Актау, микрорайон 4А, зд. 19,
e-mail: alex.moshkin727@gmail.com, ayalekseev@frcftm.ru

Целью данной работы является комплексное изучение микробиоты северных почв в районах вечной мерзлоты, отбор психрофильных и ацидофильных штаммов-деструкторов нефтепродуктов, а также полногеномное секвенирование выделенных бактерий для выявления ключевых генетических детерминант их биodeградационной активности. Проанализированы полногеномные последовательности шести штаммов (*Glutamicibacter creatinolyticus* GAV-1, *Lysinibacillus capsici* 5a-1, *Serratia fonticola* 16a-1/24-1/DEST-2, *Sporosarcina psychrophila* 5b-1), выделенных из нефтезагрязнённых почв (6 образцов). Филогенетическое позиционирование по 16S рРНК подтвердило отнесение изолятов к известным видам и отсутствие выраженной таксономической новизны. Сопоставление протеомов с базой HADEG с использованием Proteinortho/DIAMOND выявило резкое расслоение нефтеокисляющего потенциала: у трёх *S. fonticola* обнаружено по 19 HADEG-генов на геном (алкановые, ароматические и биосурфактантные модули), у *G. creatinolyticus* GAV-1 – 17 генов, отнесённых только к ароматическому катаболизму; у *S. psychrophila* 5b-1 – 4 ароматических гена; у *L. capsici* 5a-1 – 1 ароматический ген. В ароматическом профиле GAV-1 доминировал протокатехуатный орто-путь (7 генов) при наличии дополнительных подпутьей (фенилуксусная кислота, гомопротокатехуат, катехол, толуол). Даже внутри филогенетически «обычных» таксонов формируется существенно различный нефтеокисляющий функционал; *S. fonticola* выступают кандидатами на роль «универсальных» деструкторов, тогда как *G. creatinolyticus*, вероятно, специализирован на переработке ароматических промежуточных метаболитов, а *S. psychrophila* и *L. capsici* могут выполнять вспомогательные функции в консорциумах холодных кислых почв.

Ключевые слова: биоремедиация, нефтезагрязнённые почвы, полногеномное секвенирование, 16S рРНК, аэробная деградация углеводородов, база данных по аэробной деградации углеводородов (HADEG).

Aerobic hydrocarbon degradation in cold acidic soils: genomic profiling of hydrocarbon-degrading bacteria

© 2026. A. D. Moshkin¹ ORCID: 0000-0002-1182-8247, O. V. Ohlopkova¹ ORCID: 0000-0002-8214-7828,
L. S. Adamenko¹ ORCID: 0000-0001-6412-3622, A. V. Glushkov¹ ORCID: 0009-0004-5234-7329,
A. Yu. Alekseev^{1,2} ORCID: 0000-0003-0015-9305, R. Abdinov³ ORCID: 0000-0001-9136-3269,
A. A. Gadzhiev² ORCID: 0000-0002-7359-1951, A. M. Shestopalov¹ ORCID: 0000-0002-9734-0620,
¹Research Institute of Virology, Federal Research Center
of Fundamental and Translational Medicine,
2, Timakova St., Novosibirsk, Russia, 630060,
²Dagestan State University,
43a, Magometa Gadzhieva St., Makhachkala, Russia, 367000,

³Department of Environmental Research,
NPJSC Kazakh Scientific Research Institute of the Caspian Sea,
19, micro district 4A, Aktau, Kazakhstan, 130000,
e-mail: alex.moshkin727@gmail.com, ayalekseev@frcftm.ru

The objective of this work is to conduct a comprehensive study of the microflora of northern soils in permafrost regions, select psychrophilic and acidophilic strains that degrade petroleum products, and perform whole-genome sequencing of the isolated bacteria to identify the key genetic determinants of their biodegradation activity. The whole-genome sequences of six strains (*Glutamicibacter creatinolyticus* GAV-1, *Lysinibacillus capsici* 5a-1, *Serratia fonticola* 16a-1/24-1/DEST-2, *Sporosarcina psychrophila* 5b-1) isolated from oil-contaminated soils (6 samples). Phylogenetic positioning based on 16S rRNA confirmed the classification of the isolates into known species and the absence of significant taxonomic novelty. Comparison of proteomes with the HADEG database using Proteinortho/DIAMOND revealed a sharp stratification of oil-oxidizing potential: three *S. fonticola* strains were found to have 19 HADEG genes per genome (alkane, aromatic, and biosurfactant modules), while *G. creatinolyticus* GAV-1 had 17 genes related only to aromatic catabolism; *S. psychrophila* 5b-1 had 4 aromatic genes; *L. capsici* 5a-1 had 1 aromatic gene. The ortho pathway (7 genes) dominated the aromatic profile of GAV-1, with additional subpathways (phenylacetic acid, homoprotocatechuate, catechol, toluene). Even within phylogenetically "normal" taxa, significantly different oil-oxidizing functions are formed; *S. fonticola* are candidates for the role of "universal" destructors, while *G. creatinolyticus* is likely specialized in the processing of aromatic intermediate metabolites, and *S. psychrophila* and *L. capsici* may perform auxiliary functions in cold acidic soil consortia.

Keywords: bioremediation, oil-contaminated soils, whole-genome sequencing, 16S rRNA, aerobic degradation of hydrocarbons, Hydrocarbon Aerobic Degradation Database (HADEG).

Северные экосистемы, включая районы вечной мерзлоты, представляют собой уникальные и хрупкие экобиотопы, играющие критическую роль в глобальном климатическом балансе и сохранении биоразнообразия. Однако, активная нефтедобыча в арктических и субарктических регионах, таких как Западная Сибирь, Ямало-Ненецкий и Ханты-Мансийский автономные округа, сопровождается неизбежными аварийными разливами нефти, что приводит к долговременному загрязнению почв и водоёмов [1, 2]. Низкие температуры, высокая кислотность (pH до 3,5) и ограниченная биологическая активность в этих условиях существенно замедляют естественные процессы биodeградации углеводородов, делая традиционные методы рекультивации малоэффективными [3, 4]. По оценкам экспертов, ежегодные потери нефти составляют около 5 % от общего объёма добычи, причём значительная часть загрязнений локализуется в районах с экстремальными климатическими условиями. Такие загрязнения не только нарушают локальные экосистемы, но и способствуют накоплению токсичных метаболитов, угрожая здоровью коренных народов и усугубляя глобальные экологические кризисы [5, 6]. В этой связи поиск микроорганизмов, способных утилизировать нефтепродукты в условиях низких температур и высокой кислотности, становится ключевой задачей современной экологической микробиологии и биотехнологии.

Биоремедиация, основанная на использовании микроорганизмов-деструкторов, признана

наиболее экологически безопасным и экономически выгодным методом очистки нефтезагрязнённых территорий. Известно, что эффективность биопрепаратов напрямую зависит от адаптации штаммов к специфическим условиям среды, включая температурный режим, pH и наличие солей [7]. Однако большинство коммерчески доступных препаратов разработаны для умеренных широт и демонстрируют низкую активность в арктических регионах [1, 2, 8].

Психрофильные и ацидофильные микроорганизмы, населяющие почвы вблизи вечной мерзлоты, остаются малоизученными, несмотря на их уникальный метаболический потенциал. Современные исследования подтверждают, что штаммы *Acinetobacter*, *Pseudomonas* и *Bacillus*, выделенные из северных почв, способны деструктировать нефтепродукты при температурах до +4 °C [9]. Однако их устойчивость к экстремально низким значениям pH ($\leq 3,5$) и молекулярные механизмы адаптации до сих пор не исследованы. Кроме того, отсутствие данных полногеномного секвенирования ограничивает понимание генетического базиса их деструктивной активности и адаптационных стратегий [10].

Целью данной работы является комплексное изучение микробиоты северных почв в районах вечной мерзлоты, отбор психрофильных и ацидофильных штаммов-деструкторов нефтепродуктов, а также полногеномное секвенирование выделенных бактерий для выявления ключевых генетических детерминант их биodeградационной активности.

Объекты и методы исследования

В ходе выполнения работы был проведён отбор проб почв в районах с выраженной вечной мерзлотой и высокой естественной кислотностью (рН 3,0–3,5); выделены микроорганизмы, демонстрирующие устойчивость к низким температурам ($\leq 10^\circ\text{C}$) и способность к деградации нефтепродуктов; выполнено полногеномное секвенирование наиболее перспективных штаммов и проведена аннотация генов, связанных с метаболизмом углеводов.

Биологическим материалом послужили образцы нефтезагрязнённого грунта, полученного в ходе экспедиции сотрудников ФИЦ ФТМ к месторождениям нефти в Тазовском районе Ямало-Ненецкого автономного округа. Из почвенных образцов методом культивирования на минимальной питательной среде М9 (рН 3) с единственным источником углерода в виде нефти выделены психроацидофильные перспективные изоляты микроорганизмов – деструкторов нефти. Для определения генетических характеристик выбрано 6 изолятов.

Выделение бактериальной ДНК проводили с использованием набора для выделения геномной ДНК из клеток, тканей и крови (ООО «Биолабмикс», Россия). Для подтверждения наличия бактериальной ДНК производилась ПЦР амплификация гена 16S рРНК с применением специфических праймеров (табл. 1) и набора для ПЦР 5X ScreenMix (ЗАО «Evrogen», Россия).

Секвенирование полноразмерного генома бактерий осуществляли с помощью наборов реагентов компании ООО «БиоЛинк» (Россия): набор для ферментативной фрагментации нуклеиновых кислот; набор реагентов для подготовки NGS библиотек для платформы Illumina. Очистку кДНК проводили на магнитных частицах для очистки ДНК VANTIS DNA Clean Beads («Vazyme», Китай). Геномные библиотеки секвенировали на платформе MiSeq, Illumina с использованием «MiSeq Reagent Kit v3 600-cycle». Для выравнивания полученных прочтений на референсную последовательность использовался алгоритм BWA.

Для дальнейшего анализа использовали полногеномные последовательности шести бактериальных штаммов, выделенных из нефтезагрязнённых образцов грунта: *Glutamicibacter creatinolyticus* GAV-1, *Lysinibacillus capsici* 5a-1, *Serratia fonticola* 16a-1, 24-1 и DEST-2, а также *Sporosarcina psychrophila* 5b-1.

Структурную и функциональную аннотацию геномов выполняли с помощью программного комплекса Bakta с использованием штатной референтной базы данных bakta_db [12]. Для каждого генома строили полный набор предсказанных генов, тРНК, рРНК и других функциональных элементов в формате GFF3, а также соответствующие аминокислотные последовательности белков в формате FАА. Аннотации Bakta использовали для дальнейшего сопоставления с профильными базами данных и для извлечения координат генов 16S рРНК.

Поиск генов, вовлечённых в аэробную деградацию углеводов, проводили на основе специализированной базы HADEG (Hydrocarbon Aerobic Degradation Database, выпуск от 19.11.2023). Аминокислотные последовательности всех предсказанных белков для шести штаммов объединяли в набор протеомов, который совместно с белковой базой HADEG использовали как входные данные для анализа ортологии [13].

Сопоставление протеомов со справочными последовательностями HADEG выполняли с помощью программы Proteinortho в связке с поисковым движком DIAMOND [14, 15]. В качестве параметров использовали пороги идентичности не менее 50 % и покрытия последовательности не менее 50 % (-identity = 50, -coverage = 50), порог связанности кластеров -conn = 0,3. База HADEG была добавлена в анализ как дополнительный «протеом», что позволило идентифицировать ортологичные группы между изучаемыми штаммами и экспериментально охарактеризованными ферментами деградации углеводов.

На основании выходных таблиц Proteinortho и сопроводительных аннотаций HADEG формировали матрицу присутствия

Таблица 1 / Table 1

Праймеры, специфичные к гену 16s рРНК [11] / Primers specific to the 16s rRNA gene [11]

Название Name	Последовательность Sequence	Температура отжига, °C Annealing temperature, °C
949 16S	ACTCCTACGGGAGGCAGCAG	60
966 16S	CGACRRCCATGCANCACCT	60

генов для каждого функционального модуля и под-пути биodeградации. Постобработку данных осуществляли в среде R с использованием пакетов *dplyr*, *tidyr*, *readr*, *ggplot2*, *scales*, *reshape* и *svglite*. Для расчёта сводных таблиц и построения визуализаций адаптировали скрипт *HADEG.R* из открытого репозитория разработчиков базы *HADEG*. В тепловой карте отражено наличие и количество ортологов отдельных ферментов, тогда как на пузырьковой диаграмме отражено число генов по отдельным под-путям деградации алканов и ароматических углеводов.

Для филогенетического анализа использовали последовательности гена 16S рРНК, извлечённые из аннотированных геномов. Координаты генов 16S рРНК определяли по GFF3-файлам *Bakta*, отбирая записи типа *rRNA* с аннотацией продукта «16S ribosomal RNA». По этим координатам вырезали соответствующие нуклеотидные последовательности из геномных FASTA-файлов с помощью утилиты *bedtools getfasta*. Для каждого штамма формировали отдельный FASTA-файл, содержащий консенсусную последовательность 16S рРНК.

Для придания дереву таксономического контекста к набору последовательностей исследуемых штаммов добавляли референсные 16S рРНК близкородственных и типовых штаммов, полученные из базы *GenBank* (NCBI). Совокупный набор последовательностей выравнивали с применением программы *ClustalW* в автоматическом режиме подбора алгоритма с учётом ориентации последовательностей.

Полученное множественное выравнивание очищали от слабо выровненных и сильно вариабельных позиций. На основе выравнивания строили филогенетическое дерево методом максимального правдоподобия с применением пакета *IQ-TREE 2*. Для выбора оптимальной модели эволюции нуклеотидов использовали процедуру автоматического подбора моделей (опция *-m MFP*). Надёжность ветвей оценивали с помощью 1000 итераций бутстрэп-анализа. Дальнейшую визуализацию и аннотирование дерева выполняли в программе *FigTree*. Штаммы, выделенные в данной работе, были дополнительно отмечены цветом и подписью.

Результаты и обсуждение

Анализ последовательностей гена 16S рРНК показал, что все выделенные из хо-

лодных и кислых нефтезагрязнённых почв изоляты укладываются в рамки уже описанных бактериальных таксонов (рис. 1). Три штамма, предварительно отнесённые к виду *S. fonticola* (16a-1, 24-1 и DEST-2), формировали компактную, хорошо поддержанную кладу, группирующуюся с типовыми и близкородственными штаммами *S. fonticola*. Внутригрупповая дивергенция по 16S-последовательности между этими тремя изолятами была минимальной, что указывает на внутривидовой уровень различий при наличии более выраженной вариабельности на уровне функционального генома.

Штамм *Glutamicibacter creatinolyticus* GAV-1 кластеризовался с криоадаптированными представителями рода *Glutamicibacter*. *Lysinibacillus capsici* 5a-1 занимал положение внутри клады *Lysinibacillus*, связанной преимущественно с почвенными и ризосферными нишами. Психрофильный изолят *S. psychrophila* 5b-1 располагался в пределах клады психрофильных представителей рода *Sporosarcina*. Таким образом, все штаммы являются филогенетически «обычными» представителями своих родов, однако происходят из специфической экосистемы холодных и кислых нефтезагрязнённых почв.

Сопоставление протеомов с курированной базой *HADEG* выявило наличие у всех шести штаммов генов, гомологичных экспериментально охарактеризованным ферментам деградации углеводов. Обобщённое распределение числа таких генов по геномам и функциональным категориям представлено на тепловой карте (рис. 2, см. цв. вкладку V).

У всех трёх штаммов *S. fonticola* (16a-1, 24-1 и DEST-2) был обнаружен идентичный набор *HADEG*-генов: по 3 гена, относящихся к алкановым путям (A_Alkanes), 15 генов, связанных с ароматическим катаболизмом (C_Aromatics), и по одному гену, отнесённому к категории биосурфактантов (D_Biosurfactants). В сумме каждый геном содержал по 19 *HADEG*-генов, что делает именно *S. fonticola* наиболее насыщенными по нефтеокисляющему функционалу из исследованных штаммов. На тепловой карте это проявляется в виде высоких значений как в алкановой, так и в ароматической категориях для всех трёх геномов.

Геном *G. creatinolyticus* GAV-1 содержал 17 *HADEG*-генов, причём все они были отнесены к категории C_Aromatics; алкановые и биосурфактантные гены, детектируемые в рамках *HADEG*, в этом геноме не выявлены.

**А. Д. Мошкин, О. В. Охлопкова, Л. С. Адаменко, А. В. Глушков,
А. Ю. Алексеев, Р. Абдинов, А. А. Гаджиев, А. М. Шестопалов
«Аэробная деградация углеводов в холодных кислых почвах:
геномное профилирование бактерий-деструкторов». С.164.**

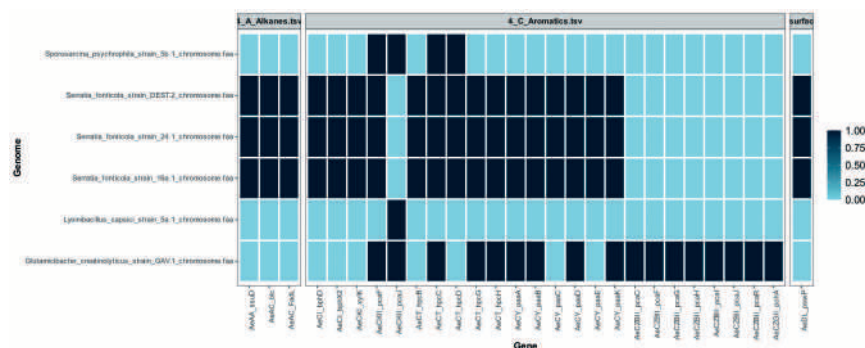


Рис. 2. Тепловая карта распределения числа генов, аннотированных по базе HADEG, по штаммам и функциональным категориям. Цветовая шкала отражает количество генов, отнесённых к соответствующему пути в каждом геноме

Fig. 2. Heatmap of the distribution of the number of genes annotated in the HADEG database by strain and functional category. The color scale reflects the number of genes assigned to the corresponding pathway in each genome

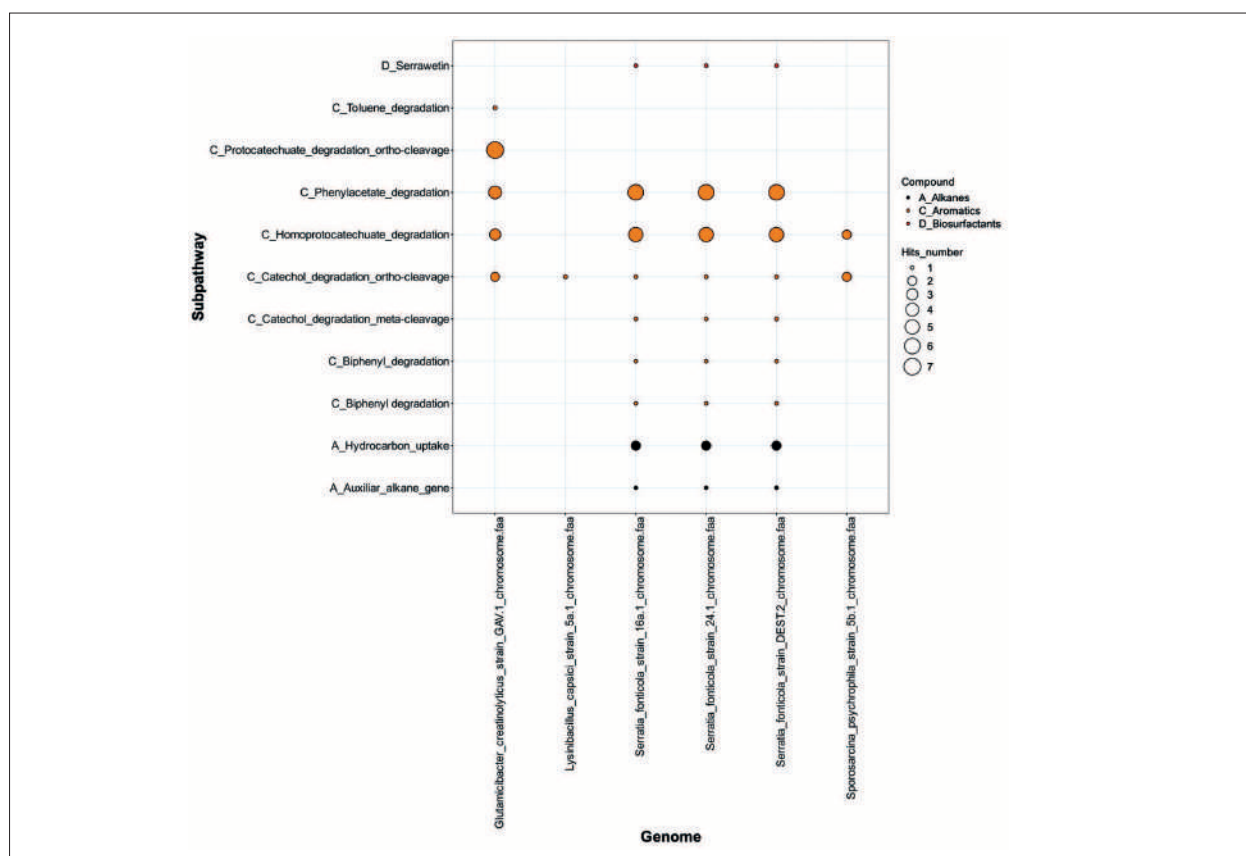


Рис. 3. Пузырьковая диаграмма распределения генов, аннотированных по базе HADEG, по подпутям (Subpathways) и геномам. По оси X – подпути, по оси Y – геномы; размер пузыря пропорционален числу генов, относящихся к соответствующему подпути в данном геноме

Fig. 3. Bubble plot of the distribution of genes annotated with the HADEG database by subpathways and genomes. The x-axis represents subpathways, the y-axis represents genomes; the bubble size is proportional to the number of genes belonging to the corresponding subpathway in a given genome

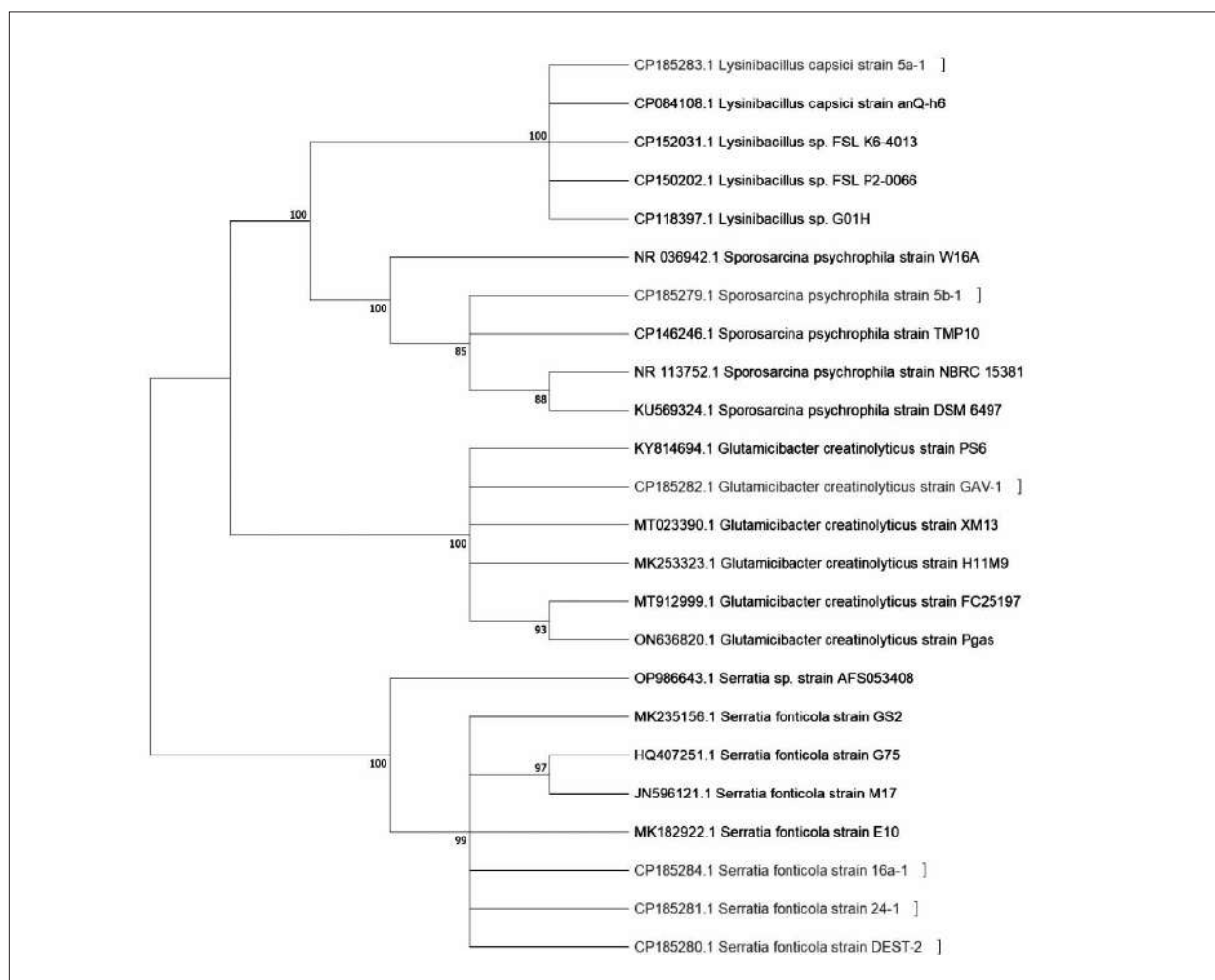


Рис. 1. Филогенетическое дерево, построенное по последовательностям гена 16S рРНК для выделенных штаммов и референсных последовательностей
 Fig. 1. Phylogenetic tree constructed from 16S rRNA gene sequences for isolated strains and reference sequences

У *S. psychrophila* 5b-1 обнаружено 4 ароматических HADEG-гена, а у *L. capsici* 5a-1 – только один ароматический ген. На тепловой карте эти штаммы представлены меньшей интенсивностью сигнала и отсутствием алкановых и биосурфактантных модулей, что указывает на резко отличающийся уровень «вложений» в углеводородный катаболизм по сравнению с *S. fonticola* и *G. creatinolyticus*.

Таким образом, тепловая карта (рис. 2) демонстрирует выраженный градиент насыщенности HADEG-генами: от максимально нагруженных профилей *S. fonticola* (и в несколько меньшей степени *G. creatinolyticus*) до крайне ограниченных наборов у *S. psychrophila* и *L. capsici*.

Более детализированное распределение HADEG-генов по отдельным подпутям представлено на пузырьковой диаграмме (рис. 3, см. цв. вкладку V). Размер пузыря в каждой точке отражает количество генов, отнесённых к соответствующему под-пути в конкретном геноме.

У *G. creatinolyticus* GAV-1 ароматический функционал включает пять подпутей. Наиболее представленным является протокатехуатный орто-путь (C_Protocatechuate_degradation_ortho-cleavage, 7 генов), далее следуют пути деградации фенилуксусной кислоты (C_Phenylacetate_degradation, 4 гена) и гомопротокатехуата (C_Homoprotocatechuate_degradation, 3 гена). Катехольный орто-путь (C_Catechol_degradation_ortho-cleavage) представлен двумя генами, путь деградации толуола (C_Toluene_degradation) – одним. На рисунке 3 это соответствует крупным пузырям в зоне центральных ароматических подпутей при отсутствии сигналов в алкановой и биосурфактантной областях.

У *S. psychrophila* 5b-1 выявлены два подпути, каждый по два гена: C_Catechol_degradation_ortho-cleavage и C_Homoprotocatechuate_degradation. Профиль *L. capsici* 5a-1 ещё более минима-

лен: обнаружен один ген, относящийся к C_Catechol_degradation_ortho-cleavage. На пузырьковой диаграмме оба штамма представлены небольшими одиночными пузырями в области центральных ароматических путей.

Во всех трёх геномах *S. fonticola* (16a-1, 24-1, DEST-2) зафиксирована одинаковая конфигурация подпутей. Алкановый блок представлен подпутями A_Auxiliar_alkane_gene (1 ген) и A_Hydrocarbon_uptake (2 гена), суммарно дающими три алкановых НАДЕГ-гена. Ароматический блок включает модуль деградации бифенила (C_Biphenyl_degradation, 2 гена), катехольные мета- и орто-пути (C_Catechol_degradation_meta-cleavage и C_Catechol_degradation_ortho-cleavage, по 1 гену каждого типа), путь деградации гомопротокатехуата (5 генов) и фенилуксусной кислоты (6 генов). Биосурфактантный модуль представлен путём синтеза серраветина (D_Serrawetin, 1 ген). На рисунке 3 это проявляется как множество пузырей средней и крупной величины, распределённых как в алкановой, так и в ароматической и биосурфактантной зонах, что подчёркивает комплексный характер нефтеокисляющего функционала *S. fonticola*.

В совокупности данные, представленные на тепловой карте (рис. 2) и пузырьковой диаграмме (рис. 3), показывают, что *S. fonticola* обладают наиболее широким и сбалансированным набором путей деградации углеводородов, тогда как *G. creatinolyticus* специализируется преимущественно на ароматических субстратах, а *S. psychrophila* и *L. capsici* несут минимальные и, вероятно, вспомогательные наборы ароматических подпутей.

Сопоставление данных по 16S-филогении с наличием НАДЕГ-генов показывает, что в пределах относительно узких филогенетических рамок может формироваться весьма различный нефтеокисляющий потенциал. Три штамма *S. fonticola* практически не различаются по последовательности гена 16S рРНК, однако несут одинаковый и при этом максимально насыщенный по сравнению с другими изолятами набор генов деградации углеводородов – по 19 НАДЕГ-генов на геном, включая как алкановые, так и многочисленные ароматические подпути и биосурфактантный модуль. Это согласуется с представлением о том, что эволюционное «наращивание» катаболических возможностей происходит преимущественно за счёт приобретения и перестройки отдельных генетических модулей (островов деградации, плазмид и т. п.)

при сохранении консервативной структуры «домашнего» генома.

Грамположительные штаммы демонстрируют противоположную картину: *G. creatinolyticus* GAV-1, *S. psychrophila* 5b-1 и *L. capsici* 5a-1 занимают ожидаемые позиции в 16S-дереве, однако их нефтеокисляющий функционал значительно более скромный. У GAV-1 присутствует относительно широкий, но исключительно ароматический набор (17 генов, распределённых по пяти подпутям), у *S. psychrophila* – лишь четыре гена в двух подпутях, а у *L. capsici* найден единственный катехольный орто-ген. Такое расслоение по уровню и структуре катаболического потенциала при общей экологической принадлежности штаммов к нефтезагрязнённым холодным и кислым почвам указывает на наличие функциональной специализации внутри сообщества, которая не просматривается на уровне маркёрного гена 16S рРНК.

Полученные данные позволяют по-разному трактовать вклад каждого изолята в деградацию нефти в природных условиях. *Serratia fonticola* обладают наиболее «полным» нефтеокисляющим профилем. Сочетание алкановых путей (вспомогательные гены и модуль захвата углеводов), развитой системы деградации ароматических соединений (бифенил, фенилуксусная кислота, гомопротокатехуат, катехольные мета- и орто-пути) и наличие биосурфактантного пути (серраветин) делает их типичными кандидатами в «универсальные» нефтеокислители. Такие штаммы потенциально способны инициировать и поддерживать разложение как алифатической, так и ароматической фракций нефти, а также повышать доступность гидрофобных субстратов за счёт серраветина.

В отличие от них, *G. creatinolyticus* GAV-1 обладает богатым, но сугубо ароматическим деградационным путём: ярко выраженный протокатехуатный орто-путь, подкреплённый путями деградации фенилуксусной кислоты, гомопротокатехуата, катехольным орто-путём и отдельным модулем деградации толуола, указывает на специализацию на переработке разнообразных ароматических метаболитов. При отсутствии в геноме детектируемых алкановых модулей такой штамм, вероятно, играет роль «центрального переработчика» ароматических промежуточных продуктов, возникающих при первичном окислении углеводородов другими членами консорциума.

Sporosarcina psychrophila 5b-1 и *L. capsici* 5a-1 демонстрируют ещё более узкую специали-

зацию. Первый имеет лишь два подпути (катехольный орто- и гомопротокатехуатный), представленные по двум генам каждый, второй – единственный катехольный орто-ген. Такие профили типичны для организмов, вовлечённых в переработку ограниченного набора промежуточных метаболитов, а не исходных компонентов нефти. Тем не менее, учитывая психрофильный характер *S. psychrophila* и способность *L. capsici* существовать в кислых почвах, их вклад в устойчивость сообщества к экстремальным условиям среды может быть значим, даже при относительно скромном наборе катаболических генов.

Присутствие алкановых и биосурфактантных модулей только у *S. fonticola* подчёркивает их потенциальную ключевую роль в начальных этапах деградации нефти. Наличие вспомогательных алкановых генов и систем захвата углеводов говорит о способности этих штаммов не только окислять н-алканы, но и эффективно транспортировать их в клетку. Ген серраветина в каждом из трёх геномов указывает на возможность синтеза поверхностно-активных соединений, способных эмульгировать нефть и облегчать её биодоступность как самим продуцентам, так и другим участникам консорциума. В условиях низкой температуры и кислой реакции среды, где физико-химическое перемешивание ограничено, такой механизм может иметь ключевое значение для запуска процессов биodeградации нефти.

Интерпретация полученных данных неизбежно опирается на ортологическое сопоставление с базой HADEG и, как следствие, ограничена рамками уже описанных экспериментально охарактеризованных ферментов. В геномах исследованных штаммов могут присутствовать дополнительные гены, вовлечённые в деградацию нефти, которые не попали в анализ из-за отсутствия тесных гомологов в базе. Кроме того, наличие гена не гарантирует его экспрессию и функциональную активность *in situ*.

Заключение

Комплексный анализ шести бактериальных штаммов, выделенных из холодных и кислых нефтезагрязнённых почв, показал, что даже в пределах хорошо известных таксонов может формироваться существенно различный нефтеокисляющий потенциал. Филогенетическое позиционирование по гену 16S рРНК подтвердило принадлеж-

ность изолятов к видам *Serratia fonticola*, *Glutamicibacter creatinolyticus*, *Lysinibacillus capsici* и *Sporosarcina psychrophila* и не выявило признаков глубокой таксономической новизны. При этом сопоставление протеомов с базой HADEG продемонстрировало выраженное расслоение по структуре катаболического пути: от максимально насыщенных профилей *S. fonticola* (19 HADEG-генов на геном, включающих алкановые, ароматические и биосурфактантные пути) до крайне ограниченных наборов у *S. psychrophila* и *L. capsici*.

Serratia fonticola выделяются как потенциально универсальные нефтеокислители, сочетающие в себе алкановые модули, развитую сеть ароматических подпутей и биосурфактантный путь серраветина. *Glutamicibacter creatinolyticus* GAV-1 демонстрирует богатый, но преимущественно ароматический путь и, вероятно, играет роль центрального переработчика ароматических метаболитов. Психрофильный *S. psychrophila* 5b-1 и *L. capsici* 5a-1 обладают минимальным набором катехольных и родственных путей и, по-видимому, выполняют вспомогательные функции в составе микробных консорциумов.

Таким образом, природные микробные сообщества холодных и кислых почв представляют собой мозаичную систему, в которой филогенетически привычные бактерии распределяют между собой функции по деградации различных фракций нефти. Полногеномный подход с использованием специализированных баз данных, таких как HADEG, позволяет перейти от описания отдельных «штаммов-деструкторов» к пониманию того, какие именно метаболические модули они привносят в сообщество и как эти модули дополняют друг друга. Эти данные создают основу для рационального подбора сочетаний штаммов при разработке биопрепаратов, ориентированных на очистку холодных и кислых экосистем от нефтяного загрязнения, и задают направление для дальнейших работ по интеграции геномного анализа с экспериментальными оценками активности путей деградации углеводов *in situ*.

Работы выполнены в рамках государственного задания НИИ вирусологии ФИЦ ФТМ №125031903984-1.

Литература

1. Алексеев А.Ю., Забелин В.А., Куц С.А., Пушкарёв Н.С. Практика биологической рекультивации // Нефтяное хозяйство. 2006. № 12. С. 98–99.

2. Емельянова Е.К., Алексеев А.Ю., Мокеева А.В., Тарасова М.В., Шестопалов М.А., Карпова Е.В., Забелин В.А., Шестопалов А.М., Ильичева Т.Н. Биорекультивация загрязненных нефтью объектов в Тюменской области // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. 2010. Т. 8. Вып. 4. С. 155–161.

3. Васильев А.В. Использование биосорбентов для очистки почв и водных объектов от нефтяных загрязнений // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2024. № 26 (122). С. 164–174. doi: 10.37313/1990-5378-2024-26-6-164-174

4. Адаменко Л.С., Алексеев А.Ю., Забелин В.А., Филатов Д.А., Шаршов К.А., Шестопалов А.М. Метод утилизации нефтяных разливов с водной поверхности с применением сорбента на основе мультиграфена и микробного препарата в приближенных к естественным условиям // Экологический вестник России. 2014. № 3. С. 32–34.

5. Chapman P., Wade T.L., Knap A.H. Environmental effects and management of oil spills on marine ecosystems // Environmental Management of Marine Ecosystems / Eds. M.N. Islam, S.E. Jorgensen. Boca Raton: CRC Press, 2018. P. 119–146. doi: 10.1201/9781315153933-5

6. Алексеев А.Ю., Адаменко Л.С., Забелин В.А., Макачук А.Л., Шестопалов А.М. Биоремедиация загрязненных нефтепродуктами территорий как основа системы мероприятий для улучшения среды обитания человека на севере Сибири // Якутский медицинский журнал. 2016. № 2 (54). С. 44–46.

7. Ветрова А.А., Забелин В.А., Иванова А.А., Адаменко Л.А., Делеган Я.А., Петриков К.В. Биодegradация нефти консорциумом штаммов-нефтедеструкторов в лабораторных модельных системах // Юг России: экология, развитие. 2018. № 13 (1). С. 184–198. doi: 10.18470/1992-1098-2018-1-184-198

8. Fan M.-Y., Xie R.-J., Qin G. Bioremediation of petroleum-contaminated soil by a combined system of biostimulation-bioaugmentation with yeast // Environmental Technology. 2014. V. 35. No. 1–4. P. 391–399. doi: 10.1080/09593330.2013.829504

9. Мокеева А.В., Алексеев А.Ю., Емельянова Е.К., Забелин В.А., Заушинцева А.В., Тараканова А.С., Шестопалов А.М., Ильичева Т.Н. Ассоциация штаммов бактерий-нефтедеструкторов для ремедиации нефтезагрязненных территорий // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. 2011. Т. 9. № 3. С. 27–34.

10. Сидоренко М.Л., Русакова Д.А. Разнообразие психрофильных бактерий и их биотехнологический потенциал (обзор) // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2022. № 58. С. 28–54. doi: 10.17223/19988591/58/2

11. Drewes J.L., White J.R., Dejea C.M., Fathi P., Iyadorai T., Vadivelu J., Roslani A.C., Wick E.C., Mongodin E.F., Loke M.F., Thulasi K., Gan H.M., Goh K.L., Chong H.Y., Kumar S., Wanyiri J.W., Sears C.L. High-

resolution bacterial 16S rRNA gene profile meta-analysis and biofilm status reveal common colorectal cancer consortia // Biofilms Microbiomes. 2017. V. 3. Article No. 34. doi: 10.1038/s41522-017-0040-3

12. Schwengers O., Jelonek L., Dieckmann M.A., Beyvers S., Blom J., Goesmann A. Bakta: rapid and standardized annotation of bacterial genomes via alignment-free sequence identification // Microbial Genomics. 2021. V. 7. No. 11. Article No. 000685. doi: 10.1099/mgen.0.000685

13. Rojas-Vargas J., Castela-Sánchez H.G., Pardo-López L. HADEG: A curated hydrocarbon aerobic degradation enzymes and genes database // Computational Biology and Chemistry. 2023. V. 107. Article No. 107966. doi: 10.1016/j.compbiolchem.2023.107966

14. Lechner M., Findeiss S., Steiner L., Marz M., Stadler P.F., Prohaska S.J. Proteinortho: detection of (Co-) orthologs in large-scale analysis // BMC Bioinformatics. 2011. V. 12. Article No. 124. doi: 10.1186/1471-2105-12-124

15. Buchfink B., Reuter K., Drost H.-G. Sensitive protein alignments at tree-of-life scale using DIAMOND // Nature Methods. 2021. V. 18. No. 4. P. 366–368. doi: 10.1038/s41592-021-01101-x

References

1. Alekseev A.Yu., Zabelin V.A., Kuts S.A., Pushkarev N.S. Practice of biological reclamation // Oil Industry. 2006. No. 12. P. 98–99 (in Russian).

2. Emel'yanova E.K., Alekseev A.Yu., Mokeeva A.V., Tarasova M.V., Shestopalov M.A., Karpova E.V., Zabelin V.A., Shestopalov A.M., Il'icheva T.N. Bioremediation of oil-contaminated sites in the Tyumen Region // Vestnik of Novosibirsk State University. Series: Biology, Clinical Medicine. 2010. V. 8. No. 4. P. 155–161 (in Russian).

3. Vasil'ev A.V. Use of biosorbents for purification of soils and water bodies from oil pollution // Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. 2024. No. 6 (122). P. 164–174 (in Russian). doi: 10.37313/1990-5378-2024-26-6-164-174

4. Adamenko L.S., Alekseev A.Yu., Zabelin V.A., Filatov D.A., Sharshov K.A., Shestopalov A.M. Method for the disposal of oil spills from the water surface using a multigraphene-based sorbent and a microbial preparation under conditions close to natural // Ecological Bulletin of Russia. 2014. No. 3. P. 28–30 (in Russian).

5. Chapman P., Wade T.L., Knap A.H. Environmental effects and management of oil spills on marine ecosystems // Environmental Management of Marine Ecosystems / Eds. M.N. Islam, S.E. Jorgensen. Boca Raton: CRC Press, 2018. P. 119–146. doi: 10.1201/9781315153933-5

6. Alekseev A.Yu., Adamenko L.S., Zabelin V.A., Makarchuk A.L., Shestopalov A.M. Bioremediation of oil contaminated areas as a basis for a system of measures to improve the human environment in Northern Siberia // Yakut Medical Journal. 2016. No. 2 (54). P. 44–46 (in Russian).

7. Vetrova A.A., Zabelin V.A., Ivanova A.A., Adamenko L.A., Delegan Ya.A., Petrikov K.V. Oil biodegradation by consortium of oil degrading microorganisms in laboratory model systems // *South of Russia: Ecology, Development*. 2018. No. 13(1). P. 184–198 (in Russian) doi: 10.18470/1992-1098-2018-1-184-198
8. Fan M.-Y., Xie R.-J., Qin G. Bioremediation of petroleum-contaminated soil by a combined system of biostimulation-bioaugmentation with yeast // *Environmental Technology*. 2014. V. 35. No. 4. P. 391–399. doi: 10.1080/09593330.2013.829504
9. Mokeeva A.V., Alekseev A.Yu., Emelyanova E.K., Zabelin V.A., Zaushintsena A.V., Tarakanova A.S., Sheshtopalov A.M., Ilyicheva T.N. Association of oil destructor microorganism strains for remediation of petropolluted territories // *Vestnik of Novosibirsk State University. Series: Biology, Clinical Medicine*. 2011. V. 9. No. 3. P. 27–34 (in Russian).
10. Sidorenko M.L., Rusakova D.A. Diversity of psychrophilic bacteria and their biotechnological potential (review) // *Tomsk State University Journal of Biology*. 2022. No. 58. P. 28–54 (in Russian). doi: 10.17223/19988591/58/2
11. Drewes J.L., White J.R., Dejea C.M., Fathi P., Iyadorai T., Vadivelu J., Roslani A.C., Wick E.C., Mongodan E.F., Loke M.F., Thulasi K., Gan H.M., Goh K.L., Chong H.Y., Kumar S., Wanyiri J.W., Sears C.L. High-resolution bacterial 16S rRNA gene profile meta-analysis and biofilm status reveal common colorectal cancer consortia // *Biofilms Microbiomes*. 2017. V. 3. Article No. 34. doi: 10.1038/s41522-017-0040-3
12. Schwengers O., Jelonek L., Dieckmann M.A., Beyvers S., Blom J., Goesmann A. Bakta: rapid and standardized annotation of bacterial genomes via alignment-free sequence identification // *Microbial Genomics*. 2021. V. 7. No. 11. Article No. 000685. doi: 10.1099/mgen.0.000685
13. Rojas-Vargas J., Castelán-Sánchez H.G., Pardo-López L. HADEG: A curated hydrocarbon aerobic degradation enzymes and genes database // *Computational Biology and Chemistry*. 2023. V. 107. Article No. 107966. doi: 10.1016/j.compbiolchem.2023.107966
14. Lechner M., Findeiss S., Steiner L., Marz M., Stadler P.F., Prohaska S.J. Proteinortho: detection of (Co-) orthologs in large-scale analysis // *BMC Bioinformatics*. 2011. V. 12. Article No. 124. doi: 10.1186/1471-2105-12-124
15. Buchfink B., Reuter K., Drost H.-G. Sensitive protein alignments at tree-of-life scale using DIAMOND // *Nature Methods*. 2021. V. 18. No. 4. P. 366–368. doi: 10.1038/s41592-021-01101-x