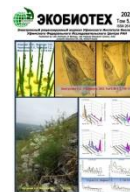




ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ШТАММЫ БАКТЕРИЙ-НЕФТЕДЕСТРУКТОРОВ ДЛЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

Коршунова Т.Ю.*, Кузина Е.В.,
Мухаматдырова С.Р., Шарипова Ю.Ю.

Уфимский Институт биологии Уфимского федерального
исследовательского центра РАН, Уфа, Россия

*E-mail: lab.biotech@yandex.ru

Использование полифункциональных штаммов бактерий-деструкторов, способных не только к разложению поллютантов, но и к стимуляции роста и развития растений-ремедиантов и обладающих устойчивостью к воздействию тяжелых металлов, является наиболее перспективным способом повышения эффективности биоремедиации почв, загрязненных углеводородами. В настоящей работе выделенные из нефтезагрязненной почвы и идентифицированные до вида с помощью сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рНК штаммы бактерий рода *Pseudomonas* были способны к окислению углеводов различных классов, нефти и дизельного топлива до конечных продуктов (66-138 мг CO₂/г субстрата), растворению неорганических фосфатов, продукции ИУК (305-1617 нг/мл культуральной жидкости), а также устойчивы к воздействию ионов свинца в концентрации 1,5-2,0 г/л. При инокуляции семян ячменя разбавленной жидкой культурой бактерий увеличивалась длина побегов (на 2,7-18,0%) и корней (суммарная) (на 20,9-33,1%). Все штаммы рекомендуются для дальнейшего изучения их биотехнологически важных свойств с целью возможного дальнейшего применения в экологической биотехнологии.

Ключевые слова: *Pseudomonas* ♦ углеводородокисляющая ♦ активность ♦ фосфатмобилизация ♦ ИУК ♦ свинец ♦ ячмень ♦ ростстимулирующая активность

POLYFUNCTIONAL STRAINS OF BACTERIA OIL-DESTRUCTOR FOR ENVIRONMENTAL BIOTECHNOLOGY

Korshunova T.Yu.*, Kuzina E.V.,
Mukhamatdyarova S.R., Sharipova Yu.Yu.

Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Centre of
the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

*E-mail: lab.biotech@yandex.ru

The use of polyfunctional strains of degrading bacteria, which are simultaneously capable of decomposing pollutants, stimulating the growth and development of remediator plants, and being resistant to heavy metals, is the most promising way to increase the efficiency of bioremediation of soils contaminated with hydrocarbons. In this work, isolated from oil-contaminated soil and identified up to species using a comparative analysis of the nucleotide sequences of the 16S rRNA gene, bacterial strains of the genus *Pseudomonas* were able to oxidize hydrocarbons of various classes, oil and diesel fuel to end products (66-138 mg CO₂/g of substrate), dissolve inorganic phosphates, and produce IAA (305-1617 ng/ml culture fluid), and are also resistant to lead ions at a concentration of 1,5-2,0 g/l. When barley seeds were inoculated with a diluted liquid culture of bacteria, the length of shoots (by 2,7-18,0%) and roots (total) (by 20,9-33,1%) increased. All strains are recommended for further study of their biotechnologically important properties with a view to possible further application in environmental biotechnology.

Keywords: *Pseudomonas* ♦ hydrocarbon-oxidizing activity ♦ phosphate mobilization ♦ IAA ♦ lead ♦ barley ♦ growth-stimulating activity

Поступила в редакцию: 20.09.2022

Цитировать | Cite as

DOI: 10.31163/2618-964X-2022-5-3-90-97

EDN: WRDIPG



ВВЕДЕНИЕ

Добыча, транспортировка и переработка углеводородного сырья относится к числу глобальных негативных факторов антропогенного воздействия на окружающую среду. Общеизвестно, что среди множества методов очистки нефтезагрязненных экосистем самым приемлемым является биотехнологический в силу его простоты, экономичности

и экологической безопасности [Korshunova et al., 2019; Ławniczak et al., 2020; Chaudhary et al., 2021]. Особое внимание при этом уделяется штаммам бактерий-нефтедеструкторов, которые помимо своей основной функции способны к стимуляции роста и развития растений-ремедиантов, а также обладают устойчивостью к действию тяжелых металлов [Wu et al., 2018; Imperato et al., 2019; Bakaeva et al., 2020], которые часто присутствуют в нефти и служат источником дополнительного загрязнения. Поэтому целью работы было выделение новых штаммов углеводородокисляющих бактерий, изучение их биотехнологически значимых свойств и оценка перспективности применения в качестве основы биопрепаратов для природоохранной деятельности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выделение штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов осуществляли из образцов почвы с территории нефтедобывающего предприятия на территории Республики Башкортостан. Накопительные и чистые культуры бактерий получали с использованием минеральной среды Цукамура [Сэги, 1983], содержащей в качестве единственного источника углерода нефть (1% вес.). Предварительную идентификацию микроорганизмов осуществляли согласно общепринятым руководствам [Добровольская и др., 1990; Определитель..., 1997; Практикум..., 2005].

Тотальную ДНК выделяли по методике, описанной в работе [Wilson, 1995]. Амплификацию фрагмента гена 16S рПНК проводили с использованием универсальных праймеров в 27F (5' AGAGTTTGATC(A/C)TGGCTCAG 3') и 1492R (5' ACGG(C/T)TACCTTGTACGACTT 3') на амплификаторе «My Cycler» («Bio-Rad Laboratories», США). Для очистки ПЦР-продуктов и последующего секвенирования применяли набор реактивов Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit («Applied Biosystems», США) так, как это указано производителем. Поиск гомологичных нуклеотидных последовательностей осуществляли в базах данных EzBioCloud (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>) и GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Способность к мобилизации соединений фосфора оценивали по образованию прозрачных зон вокруг колоний на среде Пиковской со свежесажженным ортофосфатом кальция [Пиковская, 1948].

Содержание индоллил-3-уксусной кислоты (ИУК) в культуральной жидкости анализировали хроматографически в системе ВЭЖХ LC-20 Prominence с диодно-матричным детектором SPD-M20A («Shimadzu», Япония) так, как это было описано [Стариков, Четвериков, 2020].

Устойчивость бактерий к присутствию ионов свинца (Pb^{2+}) изучали в жидкой культуре на среде следующего состава (г/л): пептон – 10,0; дрожжевой экстракт – 3,0; NaCl – 5,0; глюкоза – 1,0; $Pb(CH_3COO)_2 \times 3H_2O$ с содержанием Pb^{2+} от 1,0 до 2,0.

Способность к усвоению атмосферного азота устанавливали по интенсивности роста колоний на твердой питательной среде Эшби [Практикум..., 2005].

Окислительную активность микроорганизмов оценивали по количеству углекислого газа, образованного в результате окисления углеводов и оттитрованного соляной кислотой [Коршунова и др., 2013].

Характер влияния инокуляции штаммами микроорганизмов на рост и развитие растений устанавливали на семенах ячменя (*Hordéum vulgáre* L.), которые замачивали 15 минут в разбавленной до титра 10^6 КОЕ/мл жидкой культуре бактерий. Далее семена

в трехкратной повторности помещали по 15 штук во влажные камеры и инкубировали в течение 3 суток при комнатной температуре. После этого подсчитывали количество проросших семян и измеряли длину побегов и корней (в последнем случае – суммарную). Контролем служили семена, обработанные дистиллированной водой.

Статистическую обработку осуществляли с применением стандартных программ MS Excel. Данные в таблицах и на рисунке представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из образцов нефтезагрязненной почвы были выделены 38 изолятов бактерий, из которых 7 проявили наибольшую активность к росту и разложению нефти в жидкой среде.

На основании результатов изучения фенотипических и физиолого-биохимических свойств они были предварительно отнесены к роду *Pseudomonas*. Дальнейший сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК с последовательностями типовых штаммов из GenBank подтвердил родовую принадлежность штаммов и позволил уточнить их вид (табл. 1).

Таблица 1. Видовая принадлежность штаммов и их биотехнологически значимые свойства

Штамм	Наиболее близкий штамм, % сходства	Мобилизация ортофосфата кальция	Рост на среде Эшби	Продукция ИУК, нг/мл	Устойчивость к присутствию Pb ²⁺ , г/л
UOM 9	<i>P. silesiensis</i> A3 ^T 99,50	+	+	539	$\leq 1,5$
UOM 10	<i>P. alcaligenes</i> NBRC 14159 ^T 99,15	+	\pm	1617*	$\leq 2,0$
UOM 11	<i>P. frederiksbergensis</i> JAJ28 ^T 99,72	+	+	898	$\leq 1,5$
UOM 13	<i>P. arsenicoxydans</i> CECT 7543 ^T , 99,44	+	+	305	$\leq 1,5$
UOM 14	<i>P. jessenii</i> DSM 17150 ^T 99,86	+	+	1615	$\leq 2,0$
UOM 15	<i>P. zhaodongensis</i> NEAU-ST5-21 ^T 99,01	+	\pm	975 (68)	$\leq 1,5$
UOM 16	<i>P. avellanae</i> ВРІС 631 ^T 99,15	+	+	940	$\leq 1,5$

Примечания. «+» – наличие свойства; «+» – выраженный рост, « \pm » – слабый рост; * – по данным [Коршунова и др., 2021].

Как известно [Коршунова и др., 2020], псевдомонады являются активными деструкторами благодаря ферментным системам, обладающим широкой субстратной специфичностью и катализирующим реакции биотрансформации практически всех классов органических соединений в большом диапазоне концентраций. Выделенные штаммы были проверены на наличие способности окислять нефть, нефтепродукты и углеводороды различных классов до углекислого газа и воды (табл. 2). Все изученные микроорганизмы обладали приблизительно одинаковой окислительной активностью. Для разных источников углерода она составляла 66-138 мг CO₂/г субстрата. Особенно интенсивно происходило разложение гексадекана, нефти и дизельного топлива.

Таблица 2. Окислительная активность штаммов, мг CO₂/г субстрата

Источник углерода	Субстрат					
	Гексадекан	Циклогексан	Толуол	Нафталин	Нефть	Дизельное топливо
<i>P. silesiensis</i> UOM 9	136±11	82±6	70±5	66±5	124±9	122±8
<i>P. alcaligenes</i> UOM 10	138±7	88±7	68±5	72±4	122±4	130±7
<i>P. frederiksborgensis</i> UOM 11	132±9	92±6	72±4	76±6	120±3	128±8
<i>P. arsenicoxydans</i> UOM 13	138±11	85±4	73±4	74±4	122±6	128±9
<i>P. jessenii</i> UOM 14	130±10	89±6	73±6	77±5	122±8	129±10
<i>P. zhaodongensis</i> UOM 15	129±8	84±4	68±5	70±3	118±7	128±6
<i>P. avellanae</i> UOM 16	132±11	70±6	69±5	72±6	124±10	122±9

В последнее время при разработке подходов к ремедиации почв особое внимание уделяется полифункциональным штаммам, сочетающим способности к биодegradации органических поллютантов и усилению роста и развития растений [1, 5]. Среди псевдомонад часто встречаются представители группы ростстимулирующих бактерий (RGPB) [16]. Поэтому представлялось интересным выяснить, обладают ли RGP-свойствами изучаемые углеводородокисляющие микроорганизмы. Азот играет важную роль практически во всех метаболических процессах в растительных клетках поскольку является составной частью аминокислот, из которых синтезируются белки. Поэтому растения нуждаются в этом элементе в очень больших количествах. Обнаружено, что штаммы *P. alcaligenes* UOM 10 и *P. zhaodongensis* UOM 15 слабо растут на среде Эшби, остальные микроорганизмы показали активный рост, что, по меньшей мере, свидетельствует о том, что они относятся к группе олигонитрофильных микроорганизмов, способных довольствоваться очень малыми количествами связанного азота, фиксируя его из воздуха, воды и других веществ (табл. 1). При этом только штамм *P. silesiensis* UOM 9 образует слизь, что косвенно свидетельствует о продукции им экзополисахарида.

Фосфор является вторым после азота ключевым элементом в минеральном питании растений с точки зрения значимости и количественной потребности [Mikala et al., 2020]. Однако лишь очень незначительная его часть от общего количества в почве доступна растениям из-за плохой растворимости его соединений [Ando et al., 2021]. Поэтому солюбилизация и минерализация фосфора является важным свойством RGPB. Многие представители рода *Pseudomonas* обладают этой способностью [Kalayu, 2019], в том числе и все изучаемые в данной работе бактерии. Такой вывод сделан на основании наличия зоны просветления вокруг их колоний на минеральной среде с ортофосфатом кальция (табл. 1).

Характерной особенностью RGPB является продукция фитогормонов, в частности, ауксинов (преимущественно ИУК), усиливающих деление растительных клеток, их удлинение и дифференцировку [Kudoyarova et al., 2019]. Все исследуемые штаммы синтезировали ИУК (табл. 1), наибольшая концентрация которой обнаружена в культуральной жидкости штаммов *P. alcaligenes* UOM 10 и *P. jessenii* UOM 14 (1617 и

1615 нг/мл соответственно). Бактерии *P. silesiensis* UOM 9 и *P. frederiksbergensis* UOM 11 продуцируют наименьшее количество этого вещества (539 и 305 нг/мл культуральной жидкости соответственно).

Наличие у выделенных микроорганизмов способности к стимуляции роста и развития растений было установлено в лабораторном опыте на семенах ячменя, обработанных разбавленной культурой бактерий. Всхожесть инокулированных семян в большинстве вариантов была равна контрольному значению и составляла 86,7%. Только при использовании штаммов *P. arsenicoxydans* UOM 13 и *P. zhaodongensis* UOM 15 этот показатель был меньше и равнялся 80,0 и 73,3% соответственно.

Обработка штаммами *P. alcaligenes* UOM 10, *P. frederiksbergensis* UOM 11, *P. zhaodongensis* UOM 15 и *P. avellanae* UOM 16 приводила к удлинению побегов на 2,7-18,0% (рис. 1).

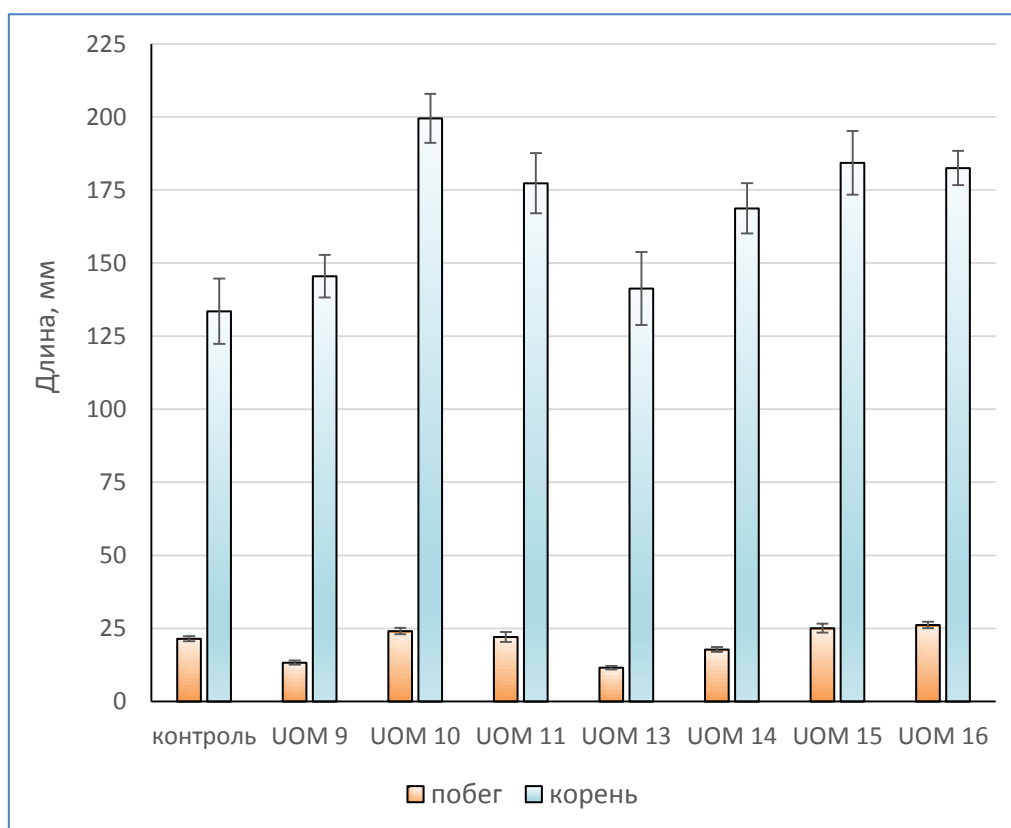


Рис. 1. Длина побега и суммарная длина корней проростков ячменя

Способность бактерий повышать морфометрические показатели растений (длину корней, в частности) имеет очень большое значение при проведении ремедиации с помощью микробно-растительных комплексов. Так как попадание углеводов в почву уменьшает доступность воды и питательных элементов, то усиление роста подземной части является важной ответной реакцией растений на нефтяной стресс. Кроме того, мощная корневая система – это необходимое условие для успешной колонизации ризосферы бактериями, в т.ч. углеводородокисляющими [Kitamura, Maranhо, 2016]. Все исследуемые в настоящей работе микроорганизмы способствовали возрастанию суммарной длины корней (рис. 1), однако они значительно отличались по степени своего положительного воздействия. Это, вероятно, связано с количеством образуемой ими ИУК, которая, в числе прочего, усиливает рост подземной части растений [Kudoyarova et al., 2019]. Так, *P. silesiensis* UOM 9

и *P. arsenicoxydans* UOM 13, выделяющие меньше всего этого фитогормона (539 и 305 нг/мл), увеличивали суммарную длину корней на 8,2 и 5,5% соответственно (однако, различия между опытным и контрольным вариантами в этих случаях были недостоверными), а штаммы *P. frederiksbergensis* UOM 11, *P. zhaodongensis* UOM 15 и *P. avellanae* UOM 16, содержание ИУК в культуральной жидкости которых был средним (898-975 нг/мл) – на 24,7-27,6%. Самое значительное удлинение (на 33,1%) зафиксировано при использовании бактерий *P. alcaligenes* UOM 10, уровень накопления ауксина которыми был максимальным (1617 нг/мл). Вместе с тем, штамм *P. jessenii* UOM 14, синтезирующий одинаковое со штаммом *P. alcaligenes* UOM 10 количество ИУК (1615 нг/мл), стимулировал рост корней только на 20,9%. Возможно, это связано с тем, что в культуральной жидкости данного микроорганизма присутствуют какие-либо вещества (например, цитокинины), являющиеся, в некотором роде, антагонистами ИУК и ингибирующие рост корней. Однако это предположение нуждается в дальнейшем изучении.

В результате аварийных разливов очень часто происходит одновременное загрязнение углеводородами и тяжелыми металлами, содержащимися в нефти, что значительно затрудняет биологическую очистку почвы [Cheng et al., 2019]. Наилучшим выходом в такой ситуации может быть применение бактерий-нефтедеструкторов, устойчивых к повышенным концентрациям тяжелых металлов [Giwa, Ibitoye, 2017]. Все выделенные штаммы продемонстрировали хороший рост в присутствии ионов свинца в количестве 1,5 г/л, а два из них – *P. alcaligenes* UOM 10 и *P. jessenii* UOM 14 – при концентрации этого металла 2,0 г/л (табл. 1).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате целенаправленного скрининга из нефтезагрязненной почвы выделено 7 бактериальных изолятов, которые проявили наибольшую активность к разложению нефти в жидкой среде. В результате сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК установлена видовая принадлежность штаммов, относящихся к роду *Pseudomonas*.

Все штаммы обладали приблизительно одинаковой окислительной активностью (66-138 мг CO₂/г субстрата) по отношению к углеводородам различных классов, нефти и дизельному топливу.

Выделенные микроорганизмы являются олигонитрофильными и способны к растворению неорганических фосфатов, продукции ИУК в количестве 305-1617 нг/мл культуральной жидкости, а также устойчивы к воздействию ионов свинца в концентрации 1,5-2,0 г/л.

Обработка бактериями семян ячменя приводила к увеличению суммарной длины корней на 20,9-33,1% и, в некоторых случаях, стимулировала рост побегов на 2,7-18,0%.

Таким образом, установлено, что изученные микроорганизмы обладают определенным набором ценных для экологической биотехнологии характеристик, при этом на данном этапе исследования не представляется возможным выделить какие-либо штаммы как наиболее перспективные. Поэтому все они рекомендуются для дальнейшего исследования возможности их применения в качестве основы полифункционального биопрепарата для очистки и восстановления окружающей среды от нефтяного загрязнения.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено на базе УИБ УФИЦ РАН в рамках Государственного задания Минобрнауки России по теме № 122031100163-4 с использованием оборудования РЦКП «Агидель».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Добровольская Т.Г., Скворцова И.Н., Лысак Л.В. Методы идентификации и выделения почвенных бактерий. М.: Изд-во МГУ, 1990. 76 с.
2. Коршунова Т.Ю., Четвериков С.П., Мухаматдырова С.Р., Логинов О.Н. // Изв. Самарского научн. центра РАН. 2013. № 3-5. С. 1637-1640.
3. Коршунова Т.Ю., Рафикова Г.Ф., Кузина Е.В. и др. Бактерии рода *Pseudomonas* для агробиотехнологии и природоохранной деятельности. М.: Наука, 2020. 247 с.
4. Коршунова Т.Ю., Кузина Е.В., Рафикова Г.Ф. и др. Бактеризация семян кормовых трав: Влияние на прорастание и рост растений // *Biomics*. 2021. Т.13(2). С. 159-165. DOI: [10.31301/2221-6197.bmcs.2021-12](https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2021-12)
5. Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж. Хоулта. М.: Мир, 1997. Т. 1, 2.
6. Пиковская Р.И. Мобилизация фосфора в почве в связи с жизнедеятельностью некоторых видов микробов // *Микробиология*. 1948. Т. 17. № 5. С. 362-370.
7. Практикум по микробиологии / Под ред. Нетрусова А.И. М.: Академия, 2005. 608 с.
8. Стариков С.Н., Четвериков С.П. Штамм *Enterobacter* sp. UOM-3 способен к синхронной деструкции гербицидов и синтезу индол-3-уксусной кислоты // *Экобиотех*. 2020. Т. 3(4). С. 716-721. DOI: [10.31163/2618-964X-2020-3-4-716-721](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2020-3-4-716-721)
9. Сэги Й. Методы почвенной микробиологии. М.: Колос, 1983. 296 с.
10. Ando K., Yamaguchi N., Nakamura Y. et al. Speciation of phosphorus accumulated in fertilized cropland of Aichi prefecture in Japan with different soil properties by sequential chemical extraction and P K-edge XANES // *Soil Sci. Plant Nutrition*. 2021. V. 67(2). P. 150-161. DOI: [10.1080/00380768.2021.1874249](https://doi.org/10.1080/00380768.2021.1874249)
11. Bakaeva M., Kuzina E., Vysotskaya L. et al. Capacity of *Pseudomonas* strains to degrade hydrocarbons, produce auxins and maintain plant growth under normal conditions and in the presence of petroleum contaminant // *Plants*. 2020. V. 9. Art. 379. DOI: [10.3390/plants9030379](https://doi.org/10.3390/plants9030379)
12. Chaudhary D.K., Bajagain R., Jeong S.W., Kim J. Effect of consortium bioaugmentation and biostimulation on remediation efficiency and bacterial diversity of diesel-contaminated aged soil // *World J. Microbiol. Biotechnol*. 2021. V. 8. № 37 (3). Art. 46. DOI: [10.1007/s11274-021-02999-3](https://doi.org/10.1007/s11274-021-02999-3)
13. Cheng J., Sun Z., Yu Y., Li X., Li T. Effects of modified carbon black nanoparticles on plant-microbe remediation of petroleum and heavy metal co-contaminated soils // *Int. J. Phytoremed*. 2019. V. 21. № 7. P. 634-642. DOI: [10.1080/15226514.2018.1556581](https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1556581)
14. Giwa O.E., Ibitoye F.O. Bioremediation of heavy metal in crude oil contaminated soil using isolated Indigenous microorganism cultured with *E. coli* DE3 BL21 // *Int. J. Engin. Appl. Sci*. 2017. V. 4. № 6. P. 67-70.
15. Imperato V., Portillo-Estrada M., McAmmond B.M. et al. Genomic Diversity of Two hydrocarbon-degrading and plant growth-promoting *Pseudomonas* species isolated from the oil field of Bóbrka (Poland) // *Genes*. 2019. V. 10. Art. 443. DOI: [10.3390/genes10060443](https://doi.org/10.3390/genes10060443)
16. Kalayu G. Phosphate solubilizing microorganisms: promising approach as biofertilizers //

- Int. J. Agronomy. 2019. ID 4917256. DOI: [10.1155/2019/4917256](https://doi.org/10.1155/2019/4917256)
17. Kitamura R.S.A., Maranhão L.T. Phytoremediation of petroleum hydrocarbons-contaminated soil using *Desmodium incanum* DC., Fabaceae // Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal. 2016. V. 7. P. 1-15. DOI: [10.7603/s40682-016-0001-1](https://doi.org/10.7603/s40682-016-0001-1)
 18. Korshunova T.Yu., Chetverikov S.P., Bakaeva M.D. et al. Microorganisms in the elimination of oil pollution consequences (review) // Appl. Biochem. Microbiol. 2019. V. 55. № 4. P. 344-354. DOI: [10.1134/S0003683819040094](https://doi.org/10.1134/S0003683819040094)
 19. Kudoyarova G., Arkhipova T., Korshunova T. et al. Phytohormone mediation of interactions between plants and non-symbiotic growth promoting bacteria under edaphic stresses // Front. Plant Sci. 2019. V. 10. Art. 1368. DOI: [10.3389/fpls.2019.01368](https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01368)
 20. Ławniczak Ł., Woźniak-Karczewska M., Loibner A.P. et al. Microbial degradation of hydrocarbons-basic principles for sioremediation: a review // Molecules. 2020. V. 25. № 4. Art. 856. DOI: [10.3390/molecules25040856](https://doi.org/10.3390/molecules25040856)
 21. Mikala P.S.A., Wasonga D.O., Solano Hernandez A., Santanen A. Seedling growth and phosphorus uptake in response to different phosphorus sources // Agronomy. 2020. V. 10 (8). Art. 1089. DOI: [10.3390/agronomy10081089](https://doi.org/10.3390/agronomy10081089)
 22. Wilson K. Preparation of genomic DNA from bacteria // In: Curr. Protocols in Molecular Biology / Eds. Ausubel F.M., Brent R., Kingston R.E. et al. N.-Y.: Green Publishing Associates, 1995. P. 241-245.
 23. Wu T., Xu J., Xie W. *Pseudomonas aeruginosa* L10: A hydrocarbon-degrading, biosurfactant-producing, and plant-growth-promoting endophytic bacterium isolated from a reed (*Phragmites australis*) // Front. Microbiol. 2018. V. 9. Art. 1087. DOI: [10.3389/fmicb.2018.01087](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01087)

Цитировать как

Коршунова Т.Ю., Кузина Е.В., Мухаматдырова С.Р., Шарипова Ю.Ю. Полифункциональные штаммы бактерий-нефтедеструкторов для экологической биотехнологии // Экобиотех, 2022, Т. 5 (3). С. 90-97. DOI: [10.31163/2618-964X-2022-5-3-90-97](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2022-5-3-90-97), EDN: WRDIPG

Cited as

Korshunova T.Yu., Kuzina E.V., Mukhamatdyarova S.R., Sharipova Yu.Yu. Polyfunctional strains of bacteria oil-destructor for environmental biotechnology. *Èkobioteh*. V. 5 (3). P. 90-97. DOI: [10.31163/2618-964X-2022-5-3-90-97](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2022-5-3-90-97), EDN: WRDIPG (In Rus.)