

УДК 579.6,579.252

ШТАММ *Pseudomonas veronii* 7p-81 – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ДЕСТРУКТОР АЛИФАТИЧЕСКИХ И АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ НЕФТИ

© 2022 г. С. А. Муллаева¹, *, Р. А. Стрелецкий², Я. А. Делеган¹, О. И. Сазонова¹, А. А. Иванова¹, И. Ю. Позднякова-Филатова¹, М. В. Захарова¹, А. А. Ветрова¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки “Федеральный исследовательский центр “Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук”, Пушкино, Московская область, 142290 Россия

²Факультет почвоведения, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия

*e-mail: sv.bolshanina@gmail.com

Поступила в редакцию 25.06.2022 г.

После доработки 17.07.2022 г.

Принята к публикации 21.08.2022 г.

Из образца грунта, отобранного в районе нефтяного месторождения Нефтеюганского района ХМАО, был выделен штамм 7p-81. На основании секвенирования генома этот штамм был отнесен к виду *Pseudomonas veronii*. В результате проведенных экспериментов установлено, что штамм *Pseudomonas veronii* 7p-81 является деструктором как алифатических, так и ароматических углеводородов. Гены, кодирующие ферменты деградации ПАУ и *n*-алканов, локализованы на плазмиде. Степень деградации нефти в жидкой минеральной среде исследуемым штаммом составила 20.8% за 7 сут. *Pseudomonas veronii* 7p-81 является мультидеструктором и может представлять интерес для применения в биоремедиации нефтезагрязнений.

Ключевые слова: *Pseudomonas*, плаزمида, алкан, ПАУ, деградация, нефть

DOI: 10.56304/S0234275822050106

Во всем мире сырая нефть является одним из важнейших источников топлива, и исторически на ее долю приходится более трети мирового энергопотребления. При этом нефтяное загрязнение оказывает одно из самых катастрофических воздействий на окружающую среду. Из-за токсичности загрязняющего вещества для местных экосистем возникают как краткосрочные, так и долгосрочные побочные эффекты. Сырая нефть представляет собой сложную смесь разнообразных соединений, которые можно разделить на четыре основных класса: насыщенные углеводороды, ароматические углеводороды, смолы и асфальтены [1]. Микробная биоремедиация является широко используемым способом для утилизации нефтяных углеводородов при загрязнении как почвенных, так и водных экосистем [2]. При этом данный способ очистки окружающей среды является экологичным и экономичным. Биodeградация нефтяных углеводородных загрязнителей микроорганизмами осуществляется за счёт их ферментативной каталитической активности [3]. Бактерии рода *Pseudomonas* способны к окислению широкого кру-

га углеводородов и их производных [4], поэтому часто входят в состав биопрепаратов. На сегодняшний день накоплен обширный материал, посвященный изучению генетических, биохимических, физиологических и других особенностей биodeградации углеводородов. Однако механизм деградации нефти бактериями до сих пор остается нераскрытым и активно изучается. Многие авторы в своих работах концентрируются на способности микроорганизмов к окислению небольшого количества субстратов, например, углеводородов какого-то одного класса, или только одного единственного субстрата. При этом именно деструкторы индивидуальных углеводородов входят в состав микробных консорциумов для очистки окружающей среды от нефти. В обзоре Brzeszcz J. и Kaszyński P. [5] описаны микроорганизмы-мультидеструкторы, способные к одновременной утилизации химических соединений, относящихся к различным классам, например, и к ПАУ, и к алифатическим углеводородам. На наш взгляд штаммы-мультидеструкторы с широким метаболическим профилем при их использовании для биоремедиации в условиях комплексного загрязнения с изменяющимся составом могут обладать неко-

Список сокращений: ПАУ – полициклический ароматический углеводород.

торым преимуществом сравнению с микроорганизмами способными к окислению только одного класса углеводов. Кроме того, именно мультидеструкторы можно использовать в качестве более удобных модельных объектов для изучения деградации сложных субстратов таких как нефть, состоящих из разных классов взаимодействующих углеводов. Целью данного исследования являлось изучение физиолого-биохимических аспектов деградации углеводов и нефти штаммом *Pseudomonas veronii* 7p-81, а также анализ генов штамма, вовлеченных в этот процесс.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Бактериальный штамм

Штамм *Pseudomonas* sp. 7p-81 был выделен из образца грунта, отобранного в районе нефтяного месторождения Нефтеюганского района ХМАО. Этот микроорганизм способен к деградации как *n*-алканов (только в диапазоне C₈–C₁₂), так и полициклических ароматических углеводов (нафталин, фенантрен) в широком диапазоне температур (4–30°C) с оптимальным ростом при 26°C [6].

Питательные среды, источники углерода

В качестве минеральной среды использовали среду Эванса [7]. Единственными источниками углерода и энергии служили – сукцинат (10 г/л), смесь декана (6 мл/л) и нафталина (2 г/л), уфимская нефть (2% по объему). Химический состав уфимской нефти: легкие фракции (41.27%), твердые парафины (14.04%), парафино-нафтены (12.75%), моно-, биароматические углеводороды (5.76%), ПАУ (9.39%), спирто-бензолные смолы (10.28%) и асфальтены (6.50%).

Полноценной питательной средой служила среда Лурия-Бертани (LB) [8] (дрожжевой экстракт и пептон производства Difco, США). Агаризованные среды готовили на агар-агаре производства Pronadisa (Испания).

Условия культивирования

Для инокуляции колб в экспериментах штамм выращивали в минеральной среде с 0.1%-ным сукцинатом в течение 18 ч при перемешивании на орбитальной качалке при 180 об./мин. Клетки осаждали на центрифуге Rotanta 460R (Hettich Zentrifugen, Германия) при 10000 g в течение 10 мин при 4°C и ресуспендировали в 10 мл минеральной среды с конечной концентрацией 1×10^8 КОЕ/мл. Инокулят вносили в колбы таким образом, чтобы начальная концентрация клеток в среде составляла не менее 1×10^6 КОЕ/мл. Штамм 7p-81 культивировали в жидкой минеральной среде при одновременном присутствии декана и нафталина при

перемешивании (120 об./мин) в течение 75 ч при температуре 26°C. Культивирование штамма в колбах, содержащих 100 мл жидкой минеральной среды и 2% нефти (по объему) проводили в течение 7 сут при перемешивании (120 об./мин) при температуре 26°C. Все эксперименты были проведены в трех независимых биологических повторах.

Оценка эффективности деградации нефти

Остаточное содержание неполярной фракции углеводов нефти в среде определяли методом газовой хроматографии [9]. Нефтепродукты предварительно экстрагировали хлористым метилом, очищали их на оксиде алюминия затем анализировали на газовом хроматографе (Agilent 6890, США) с пламенно-ионизационным детектором. В работе использовали колонку DB-1 (неподвижная фаза – 100% диметилполисилоксан) с внутренним диаметром 0.25 мм, длиной 30 м, толщиной фазы 0.25 мкм. Температурный градиент от 60 до 320°C. Анализируемый объем пробы 1 мкл. Неполярную фракцию отделяли на оксиде алюминия (Al₂O₃) II степени активности по Брокману. Для градуировки прибора использовали смесь нормальных алканов с длиной углеродной цепи от 12 до 36, очищенные на оксиде алюминия дизельное топливо и раствор моторного масла в гексане. Среднекипящая (температура кипения 200–300°C) и высококипящая (температура кипения >300°C) фракции, а также отдельные алканы были определены при помощи капиллярной газовой хроматографии. Эффективность деградации нефти штаммом оценивали относительно контрольного образца без добавления микроорганизмов.

Оценка эффективности деградации алкана и ПАУ

Концентрацию декана и нафталина в среде определяли после экстракции встряхиванием с хлористым метилом (1 : 1) методом газовой хроматографии на той же колонке, но при температурной программе от 40°C с градиентным подъемом 15°C/мин. Количественное определение проводили методом абсолютной калибровки с применением аналитических стандартов. Коэффициент корреляции – 0.999. Перед анализом экстракты разбавляли в 100 раз. Абиотическая убыль была определена в системах без микроорганизмов. Эффективность деградации углеводов исследуемым штаммом оценивали относительно абиотического контроля.

Определение численности микроорганизмов

Оценку динамики роста бактерий проводили в жидкой минеральной среде при одновременном присутствии нафталина и декана. Численность микроорганизмов определяли методом серийных

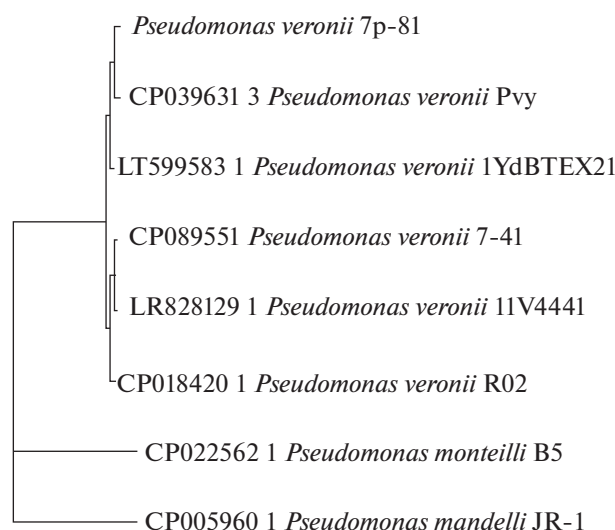


Рис. 1. Филогенетическое дерево псевдомонад, построенное на основе полногеномного выравнивания с использованием алгоритма Neighbor-joining.

Fig. 1. Neighbor-joining phylogenetic tree of pseudomonads based on whole-genome alignment.

разведений с последующим высевом на чашки Петри с агаризованной средой Лурия-Бертани. Чашки инкубировали в течение 2 сут при температуре 28°C, затем подсчитывали выросшие колонии. На основе полученных результатов была построена кривая роста микроорганизмов. Все результаты получены из трех независимых повторов.

Секвенирование, сборка и аннотирование генома

Геномную ДНК выделяли из биомассы свежей культуры *P. veronii* 7p-81, выращенной на агаре LB. Полученный образец очищали набором Wizard (Promega, США). Образец ДНК секвенировали с помощью платформы Illumina NovaSeq 6000 и набора реагентов S2 (номер по каталогу 20012861; 2 × 100 п.н.). Адаптеры и последовательности низкого качества ($Q < 20$) были удалены с помощью программного обеспечения Trimmomatic-0.36 [10]. Оставшиеся последовательности были собраны в контиги с использованием программного обеспечения SPAdes-3.10.1 [11]. Контиги были отфильтрованы программой BLASTN и сохранены для дальнейшей сборки. Первоначальная аннотация генома *P. veronii* 7p-81 была проведена программой Prokka [12]. Функциональные пути интерпретировали с использованием программы KEGG [13] и модуля blastp. Функции некоторых белков были проверены вручную с помощью BLAST [14]. Были исследованы элементы генома, относящиеся к деградации ароматических и алифатических соединений. Филогенетическое дерево было построено с помощью сервиса REALPHY [15]. Последовательности генома штаммов *Pseudomonas*, необходимые для построения филогенетического дерева, были взяты из NCBI

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse/#!/prokaryotes/17302/>). Для таксономических целей рассчитывали OrthoANI между геномной ДНК штамма 7p-81 и родственных штаммов с применением алгоритма OrthoANI [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате секвенирования генома количество последовательностей для штамма *Pseudomonas* sp. 7p-81 составило 9242379. После обработки данных программой Trimmomatic осталось 7072901 ридов (80.01%). Количество полученных контигов составило 89 со средним охватом k -меров ($k = 91$) 28.02%. Размер генома штамма 7p-81 составил 6624739 п.н. (GC 60.95%). Согласно построенному филогенетическому дереву (рис. 1) ближайшим родственником штамма 7p-81 является штамм-деструктор ароматических соединений *Pseudomonas veronii* Pvy (CP039631) (значение ANI 98.89%). Таким образом, был сделан вывод, что исследуемый штамм относится к виду *Pseudomonas veronii*.

В результате аннотирования генома в программе Prokka выявлено, что геном штамма 7p-81 содержит 6029 генов, из которых 5965 представляют собой кодирующие последовательности (CDS), 4 – рРНК (5S, 16S, 23S) и 59 – тРНК. С помощью сервиса Kegg был проведен анализ кластеров ортологичных генов. Штамм 7p-81, по-видимому, обладает разнообразными метаболическими способностями, в том числе потенциалом разложения углеводов, поскольку содержит в своем геноме 42 диоксигеназы и 35 монооксигеназы.

Важнейшим аспектом для понимания особенностей биodeградации многокомпонентного за-

Таблица 1. Остаточное содержание углеводородов в исследуемых системах и степень деградации разных фракций нефти штаммом 7p-81**Table 1.** The remaining content of hydrocarbons in the studied systems and the degree of various oil fractions degradation by 7p-81 strain

	Контрольная система без микроорганизмов	Система с штаммом 7p-81	Степень деградации, %
Сумма n-алканов	511 ± 77	408 ± 64	20.16
Среднекипящая фракция	3101 ± 465	2498 ± 375	19.45
Высококипящая фракция	2365 ± 355	1909 ± 286	19.28
Общее содержание нефтепродуктов	5977 ± 820	4815 ± 661	19.44

грязнителя (нефть) индивидуальным микроорганизмом-мультидеструктором является организация соответствующих путей биodeградации. В ходе сборки генома установлено, что штамм 7p-81 содержит плазмиду p7p-81 размером 205934 п.н. (GC 55.06%). Данная плазида, относится к P-7 группе несовместимости [17] и является родственной плазмиде деградации толуола pD2RT штамма *Pseudomonas migulae* D2RT (значение ANI 95.68%). Следует отметить, что только 30% кодирующих последовательностей плазмиды p7p-81 были отнесены к различным категориям кластеров ортологичных функциональных групп. Именно на плазмиде p7p-81 обнаружены генетические системы, отвечающие за деградацию алканов (гены *alk*) и ПАУ (гены *nah*). Организация ключевых биохимических и генетических элементов метаболизма, отвечающих за окисление углеводородов, у штамма *P. veronii* 7p-81 не отличается от таковой у узкоспециализированных деструкторов отдельных классов субстратов. Структурные гены деградации нафталина по *meta*-пути расщепления катехола расположены на плазмиде и объединены в два “классических” *nah*-оперона, инвертированных по отношению к друг другу, а ген *opto*-пути расщепления катехола локализован на хромосоме. Плазмидная локализация генов, кодирующих ферменты деградации нафталина через *meta*-путь расщепления катехола, является распространенным свойством для штаммов рода *Pseudomonas* [18]. *Alk*-гены также организованы в два оперона, однако анализ геномов псевдомонад свидетельствует о том, что они чаще всего имеют хромосомную локализацию [4].

Выделенный микроорганизм является мультидеструктором углеводородов разных классов, поэтому на первом этапе была проведена оценка деградирующего потенциала штамма в отношении углеводородов нефти (табл. 1).

Степень деградации неполярной фракции нефти (сумма n-алканов) штаммом *P. veronii* 7p-81 относительно контрольной системы без микроорганизмов составила 20.16%, причем большая доля

окисления приходилась на алканы с длиной цепи C₁₀–C₂₄. При этом в среде не происходило накопления короткоцепочечных алканов (менее C₈). Это свидетельствует о том, что штамм окисляет алифатические соединения до более простых соединений. ПАУ, входящие в состав среднекипящей фракции нефти, также активно подвергались деградации штаммом 7p-81, что обусловлено наличием генов деградации ароматических соединений. В состав высококипящей фракции входят асфальтены и смолы, которые являются фракцией нефтяного загрязнения, наиболее устойчивой к разложению микроорганизмами [19]. Известно, что по степени снижения окисляемости микроорганизмами компоненты нефти и нефтепродуктов располагаются в следующей последовательности: n-алканы → разветвленные алканы → разветвленные алкены → низкомолекулярные n-алкил ароматические соединения → моноароматические соединения → полициклические ароматические углеводороды → асфальтены [20]. В настоящей работе было выявлено, что все основные компоненты нефти разрушались примерно с одинаковой интенсивностью (около 20% за 7 дней), что возможно обусловлено разнообразием генетических систем биodeградации углеводородов разных классов.

В экспериментах по биodeградации нефти микроорганизмом сложно установить алгоритм потребления разных классов углеводородов, поскольку в состав нефти входит огромное количество взаимодействующих и взаимовлияющих химических соединений. Поэтому на следующем этапе был проведен эксперимент по оценке деградации углеводородов разных классов штаммом 7p-81 в жидкой минеральной среде, одновременно содержащей n-алкан и ПАУ (бисубстратная система). В бисубстратной системе в первые 20 ч наблюдали деградацию только алифатического углеводорода, а в последующие часы культивирования происходила деградация также ПАУ. Подобное явление обусловлено влиянием декана на активность ферментов деградации нафталина (снижается показатель активности салицилат гидроксид-

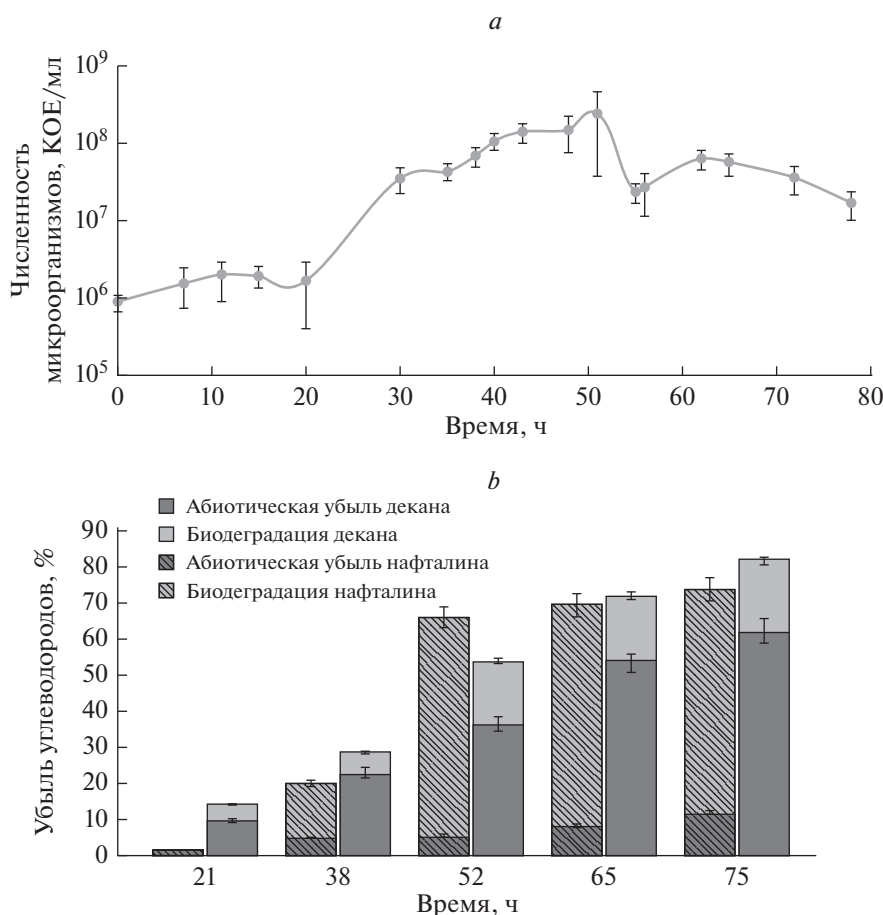


Рис. 2. Физиологические параметры роста штамма *Pseudomonas veronii* 7p-81 в жидкой минеральной среде при одновременном присутствии декана и нафталина. *a* – кривая роста штамма; *b* – накопительные показатели убыли нафталина (без штриховки) и декана (со штриховкой) (абиотическая убыль (нижняя часть столбца) и биодеградация (верхняя часть столбца)).

Fig. 2. Physiological parameters of growth of strain *Pseudomonas veronii* 7p-81 in a liquid mineral medium with simultaneous presence of decane and naphthalene. *a* – strain growth curve; *b* – cumulative indicators of loss of naphthalene (without hatching) and decane (with hatching) (abiotic loss (lower part of the column) and biodegradation (upper part of the column)).

лазы в период с 30 по 35 ч роста – данные не представлены). По-видимому, снижение концентрации алифатического соединения в среде способствовало активизации процесса деградации нафталина. Следует отметить, что через 52 ч роста (рис. 2а) наблюдается снижение концентрации клеток. Этот процесс сопровождается торможением деградации углеводородов разных классов (рис. 2б) и в дальнейшем степень деградации алкана и ПАУ практически не изменяется.

Известно, что штаммы вида *P. veronii* способны к деградации различных ароматических углеводородов [21–24]. Исследуемый штамм 7p-81 также способен к деградации алифатических углеводородов, что отличает его от ранее описанных микроорганизмов вида *P. veronii*. Проведенные лабораторные эксперименты с *P. veronii* 7p-81 дают дополнитель-

ную информацию о возможности и перспективности его биотехнологического применения. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что при составлении консорциумов микроорганизмов для очистки окружающей среды от нефти и нефтепродуктов необходимо учитывать не только способность микроорганизмов к деградации индивидуальных или смешанных субстратов, но и взаимовлияние углеводородов разных классов на активность ферментов биодеградации. Авторы полагают полезным для разработки микробных препаратов в технологиях биоремедиации окружающей среды от нефтезагрязнений проводить последовательное внесение микроорганизмов: сначала интродуцировать штаммы-деструкторы алифатических углеводородов, а затем бактерии-деструкторы ароматических углеводородов.

Таким образом, штамм *Pseudomonas veronii* 7p-81 является биотехнологически перспективным мультидеструктором углеводородов и представляет интерес для дальнейшего изучения процессов деградации мультисубстратных систем.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-24-01138, <https://rscf.ru/project/22-24-01138>.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Liu H., Yao J., Yuan Z., Shang Y., Chen H., Wang F., Masakorala K., Yu C., Cai M., Blake R.E., Choi M.M.F. Isolation and characterization of crude-oil-degrading bacteria from oil-water mixture in Dagang oilfield, China. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 2014, 87, 52–59. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.11.005>
- Abbasian F., Lockington R., Mallavarapu M., Naidu R. A comprehensive review of aliphatic hydrocarbon biodegradation by bacteria. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2015, 176(3), 670–699. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1603-5>
- Varjani S.J. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. *Bioresour. Technol.*, 2017, 223, 277–286. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.037>
- Ivanova A.A., Mullaeva S.A., Sazonova O.I., Petrikov K.V., Vetrova A.A. Current research on simultaneous oxidation of aliphatic and aromatic hydrocarbons by bacteria of genus *Pseudomonas*. *Folia Microbiol. (Praha)*, 2022, 67(4), 591–604. <https://doi.org/10.1007/s12223-022-00966-5>
- Brzeszcz J., Kaszycki P. Aerobic bacteria degrading both *n*-alkanes and aromatic hydrocarbons: an undervalued strategy for metabolic diversity and flexibility. *Biodegradation*, 2018, 29, 359–407. <https://doi.org/10.1007/s10532-018-9837-x>
- Ветрова А.А., Трофимов С.Я., Кинжаев Р.Р., Аветов Н.А., Арзамасова А.В., Пунтус И.Ф., Сазонова О.И., Соколов С.Л., Стрелецкий Р.А., Петриков К.В., Делеган Я.А., Самойленко В.А., Филонов А.Е. Разработка микробного консорциума для биоремедиации нефтезагрязненных почв Среднего Приобья. *Почвоведение*, 2022, 5, 1–14. <https://doi.org/10.31857/S0032180X22050100>
- Evans C.G.T., Herbert D., Tempest D.W. The continuous cultivation of microorganisms: 2. Construction of a chemostat. *Methods Microbiol.*, 1970, 2, 277–327.
- Sambrook J., Russell D.W. Molecular cloning: A laboratory manual, 3rd ed, New York, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. 2100 с.
- ГОСТ 31953-2012, ПНД Ф 16.1.38-02. Определение нефтепродуктов методом газовой хроматографии
- Bolger G.B., Dunlop A.J., Meng D., Day J.P., Klusmann E., Baillie G.S., Adams D.R., Houslay M.D. Dimerization of cAMP phosphodiesterase-4 (PDE4) in living cells requires interfaces located in both the UCR1 and catalytic unit domains. *Cell Signal.*, 2015, 27(4), 756–769. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2014.12.009>
- Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., Lesin V.M., Nikolenko S.I., Pham S., Pribelski A.D., Pshkin A.V., Sirotkin A.V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A. SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.*, 2012, 19, 455–477. <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
- Seemann T. Prokka: Rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*, 2014, 30, 2068–2069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153>
- Kanehisa M., Goto S., Sato Y., Furumichi M., Tanabe M. KEGG for integration and interpretation of large-scale molecular data sets. *Nucleic Acids Res.*, 2012, 40, 109–114. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr988>
- Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.*, 1990, 215, 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Bertels F., Silander O.K., Pachkov M., Rainey P.B., van Nimwegen E. Automated reconstruction of whole-genome phylogenies from short-sequence reads. *Mol. Biol. Evol.*, 2014, 31, 1077–1088. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu088>
- Lee I., Ouk Kim Y., Park S.C., Chun J. OrthoANI: An improved algorithm and software for calculating average nucleotide identity. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2016, 66, 1100–1103. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000760>
- Jutkina J., Hansen L.H., Li L., Heinaru E., Vedler E., Jöesaar M., Heinaru A. Complete nucleotide sequence of the self-transmissible TOL plasmid pD2RT provides new insight into arrangement of toluene catabolic plasmids. *Plasmid*, 2013, 70(3), 393–405. <https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2013.09.003>
- Li X.W., Liu Z.P. Microbial biodegradation of petroleum hydrocarbon. *Acta Microbiol.*, 2002, 42, 764–767.
- Marin J.A., Hernandez T., Gacía C. Bioremediation of oil refinery sludge by landfarming in semiarid conditions: Influence on soil microbial activity. *Environ. Res.*, 2005, 98, 185–195.
- Van Hamme J.D., Singh A., Ward O.P. Recent advances in petroleum microbiology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2003, 67(4), 503–549.
- Morales M., Sentchilo V., Bertelli C., Komljenovic A., Kryuchkova-Mostacci N., Bourdilloud A., Linke B., Goemann A., Harshman K., Segers F., Delapierre F., Fiorucci D., Seppey M., Trofimenko E., Berra P., El Taher A., Loiseau C., Roggero D., Sulfioetti M., Etienne A., Buendia G.R., Pillard L., Escoriza A., Moritz R., Schneider C., Alfonso E., Jeddou F.B., Selmoni O., Resch G., Greub G., Emery O., Dubey M., Pilonel T., Robinson-Rechavi M., van der Meer J. R. The Genome of the Toluene-Degrading *Pseudomonas veronii* Strain 1YdB-TEX2 and Its Differential Gene Expression in Contaminated Sand. *PLoS One*, 2016, 11(11):e0165850. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165850>
- Lopez-Echartea E., Suman J., Smrhova T., Ridl J., Pajer P., Strojcek M., Uhlik O. Genomic analysis of dibenzofuran-degrading *Pseudomonas veronii* strain Pvy reveals its biodegradative versatility. *G3 (Bethesda)*, 2021, 11(2):jkaa030. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkaa030>
- Morales M., Sentchilo V., Hadadi N., van der Meer J.R. Genome-wide gene expression changes of *Pseudomonas veronii* 1YdBTEX2 during bioaugmentation in polluted soils. *Environ Microbiome*, 2021, 16(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s40793-021-00378-x>
- Nam I.H., Chang Y.S., Hong H.B., Lee Y.E. A novel catabolic activity of *Pseudomonas veronii* in biotransformation of pentachlorophenol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2003, 62(2–3), 284–290. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1255-1>

A *Pseudomonas veronii* Strain 7p-81—a Promising Destructor of Aliphatic and Aromatic Hydrocarbons

S. A. Mullaeva^{a, #}, R. A. Streletskii^b, Ya. A. Delegan^a, O. I. Sazonova^a,
A. A. Ivanova^a, I. Yu. Pozdnyakova-Filatova^a, M. V. Zakharova^a, and A. A. Vetrova^a

^a*Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences Federal Research Center, Pushchino, Moscow Oblast, 142290 Russia*

^b*Laboratory of Ecological Soil Science, Faculty of Soil Science, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia*

[#]*e-mail: sv.bolshanina@gmail.com*

Abstract—A strain 7p-81 has been isolated from a soil sample taken in the area of the oil field of the Nefteyugansk district of the Khanty-Mansi Autonomous Okrug. Based on genome sequencing, the strain 7p-81 was assigned to the species *Pseudomonas veronii*. The genes encoding the enzymes of degradation of PAHs and *n*-alkanes are localized on the plasmid. As a result of the conducted experiments, it was established that the strain *P. veronii* 7p-81 is a destructor of both aliphatic and aromatic hydrocarbons. The degree of degradation of oil in a liquid mineral medium by the studied strain was 20.8% for 7 days. *P. veronii* 7p-81 is a multi-destructor and may be of interest for use in the bioremediation of oil pollution.

Keywords: *Pseudomonas*, plasmid, alkane, ПАУ, degradation, crude oil