МРНТИ 34.27, 87.19 https://doi.org/10.26577/EJE86120261

Р.Ж. Бержанова[1], Т.Д. Мукашева[1], Н.К. Бектилеуова[1*], Г. Абай[2], Е.С. Сатыбалды[1], Р.К. Сыдыкбекова[1]

[1]Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан
[2]ТОО «BioClean», Алматы, Казахстан
[*]e-mail: nurgul210979@gmail.com

ОТБОР И ХАРАКТЕРИСТИКА МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МИКРОБНЫХ ШТАММОВ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ СТРАТЕГИЙ ФИТОРЕМЕДИАЦИИ

Характеристика микроорганизмов PGPM является важным этапом при выборе видов штаммов в качестве биоинокулянтов. В данном исследовании были оценены свойства PGPM у 98 изолятов, выделенных из почвы, ризосферы и тканей растений, выращенных на нефтезагрязненной почве. Было установлено, что из 98 исследованных изолятов 21,4% обладали протеолитической активностью, 24,4% – амилолитической и 9,2% – целлюлозолитической активностью на агаровых средах со специфическим субстратом. После первичного скрининга отобраны 20 изолятов, (N9, N11, MSM12, MSM3, MSM20, MSM21, MSM25, MSM20, V16, L5-2, L5-5, L5-6, L10-2, L10-6, L10-12, L10-10, KP5, KB9, KP10 и C10) продемонстрировавших высокую двойную или тройную гидролитическую активность. Методология ступенчатого скрининга позволила отобрать штаммы, продемонстрировшие более одного или несколько свойств с PGPR свойствами, обеспечивающих рост растений такими как: производство фитогормонов, фиксация азота, секреция ИУК, производство хелатирующих соединений железа, растворение фосфатов и синтезирующие гидролитические ферменты. Поэтому многофункциональные штаммы с PGPR-свойствами могут быть использованы как наиболее перспективные инокулянты для улучшения эффективности фиторемедиации нефтезагрязнённых почв.

Ключевые слова: ИУК, бактерии, способствующие росту растений, сидерофоры, фитогормоны, фосфаты, фиксация азота, протеаза, целлюлаза, амилаза.

R. Berzhanova[1], T. Mukasheva[1], N. Bektileuova[1*], G. Abay[2], E. Satybaldy[1], R. Sydykbekova[1]

[1]Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan
[2] LLP «BioClean», Almaty, Kazakhstan
[*]e-mail: nurgul210979@gmail.com

Selection and characterization of multifunctional microbial strains for the development of phytoremediation strategies

Characterization of PGPM microorganisms is an important step in selecting strains as bioinoculants. In this study, the PGPM properties of 98 isolates recovered from soil, rhizosphere, and plant tissues grown in oil-contaminated soil were assessed. Of the 98 isolates tested, 21.4% exhibited proteolytic activity, 24.4% exhibited amylolytic activity, and 9.2% exhibited cellulolytic activity on agar media with specific substrates. After the initial screening, 20 isolates (N9, N11, MSM12, MSM3, MSM20, MSM21, MSM25, MSM20, V16, L5-2, L5-5, L5-6, L10-2, L10-6, L10-12, L10-10, KP5, KB9, KP10 and C10) demonstrating high double or triple hydrolytic activity were selected. The stepwise screening methodology allowed the selection of strains demonstrating more than one or several properties with PGPR properties that ensure plant growth such as: phytohormone production, nitrogen fixation, IAA secretion, production of iron chelating compounds, phosphate solubility and synthesizing hydrolytic enzymes. Therefore, multifunctional strains with PGPR properties can be used as the most promising inoculants to improve the efficiency of phytoremediation of oil-contaminated soils.

Keywords: IAA, bacteria that promote plant growth, siderophores, phytohormones, phosphates, nitrogen fixation, protease, cellulase, amylase.

 © 2026 Al-Farabi Kazakh National University

Р.Ж. Бержанова[1], Т.Д. Мукашева[1], Н.К. Бектилеуова[1*],
Г. Абай[2], Е.С. Сатыбалды[1], Р.К. Сыдыкбекова[1]
[1]Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан
[2] ЖШС «BioClean», Алматы, Қазақстан
[*]e-mail: nurgul210979@gmail.com

Фиторемедиация стратегияларын әзірлеу үшін көпфункционалды микробтық штамдарды іріктеу және сипаттау

PGPM микроорганизмдерінің сипаттамасы биоинокулянттар ретінде штамм түрлерін таңдаудағы маңызды қадам. Бұл зерттеуде мұнаймен ластанған топырақта өсірілген өсімдіктер ризосферасынан, топырағынан және өсімдік ұлпаларынан бөлініп алынған 98 изоляттардың PGPM қасиеттері бағаланды. Зерттелген 98 изоляттың 21,4% – протеолитикалық белсенділігі, 24,4% – амилолитикалық және 9,2% целлюлозолитикалық белсенділікке ие екені спецификалық субстраттары бар агарлы орталарында анықталды. Бастапқы іріктеуден кейін жоғары екі немесе үштік гидролитикалық белсенділікті көрсеткен 20 изолят (N9, N11, MSM12, MSM3, MSM20, MSM21, MSM25, MSM20, V16, L5-2, L5-5, L5-6, L10-2, L10-6, L10-12, L10-10, KP5, KB9, KP10 және C10) іріктеліп алынды Сатылап скрининг жүргізу әдістемесі PGPR-қасиеттері бар, өсімдіктердің өсуін қамтамасыз ететін бірнеше немесе бірден артық қасиеттерді көрсеткен штаммдарды іріктеп алуға мүмкіндік берді. Оларға мыналар жатады: фитогормондар өндіру, азотты фиксациялау, ИСҚ секрециясы, темірдің хелаттаушы қосылыстарын өндіру, фосфаттарды еріту және гидролитикалық ферменттерді синтездеу. Сондықтан PGPR-қасиеттері бар көпфункционалды штаммдар мұнаймен ластанған топырақтардың фиторемедиациясының тиімділігін арттыру үшін ең перспективалы инокулянттар ретінде пайдаланылуы мүмкін.

Түйін сөздер: ИСҚ, өсімдіктердің өсуіне ықпал ететін бактериялар, сидерофорлар, фитогормондар, фосфаттар, азотты бекіту, протеаза, целлюлаза, амилаза.

Введение

За последнее время заметно усилилась заинтересованность к использованию микробных препаратов и биоинокулянтов, содержащих PGPR, для восстановления загрязненных почвенных экосистем (Basu et al., 2021). Более того, в литературе известны штаммы PGPR, обладающие способностью к деградации углеводородов нефти, что делает их исключительно перспективными и важными агентами для использования в технологиях фиторемедиации и биоремедиации загрязненных почв (Mahanty et al., 2018). Микробные инокулянты обладают способностью поддерживать рост растений как прямым, так и косвенным образом, выполняя такие важные функции, включающие фиксацию азота, растворение фосфатов, питательных веществ, включая высвобождение сидерофоров и индол-3-уксусной кислоты (ИУК), ферменты для стимулирования роста и усиление защитных механизмов растений или обладать комбинацией всех этих свойств (Zandi et al., 2017; Bhardwaj et al., 2014).

Разработка и внедрение многофункциональных биоинокулянтов, адаптированных к специфическим местным условиям и выделенных из почв, загрязнённых нефтью, с использованием аборигенных штаммов PGPR, усиливающих фиторемедиацию нефтяных углеводородов представляет перспективную стратегию решения проблем нефтяного загрязнения. Обширные территории Атырауской области Казахстана испытывают сильное загрязнение нефтяными углеводородами, что приводит к деградации и снижению плодородия почв (Tokbergenova et al., 2025). Такие загрязнения создают серьёзные экологические проблемы, включая подавление активности почвенных микроорганизмов, нарушение структуры почвы и токсическое воздействие на растения. В связи с этим возрастает актуальность разработки экологически безопасных и эффективных методов восстановления почв и повышения их продуктивности. В связи с необходимостью сохранения экологического равновесия и устойчивого использования земельных ресурсов проблема восстановления нефтезагрязненных почв Казахстана приобретает особую актуальность. Применение традиционных методов очистки нефтезагрязненных земель, такие как физические и химические способы, часто являются дорогостоящими, энергоемкими и могут вызывать вторичное загрязнение среды. Поэтому, использование PGPR в сочетании с устойчивыми фитотехнологиями является современной стратегией экологически безопасного восста-

новления загрязнённых почв Казахстана, что делает этот подход особенно актуальным и популярным.

Целью настоящего исследования было скрининг микроорганизмов, на определение их прямых и косвенных свойств, способствующих росту растений в условиях нефтяного загрязнения: секреция сидерофоров, ферментов, фитогормонов, растворение фосфатов и фиксация азота.

Материалы и методы исследований

Объект исследования. Микроорганизмы, выделенные из почвы, ризосферы и тканей растений, выращенных на нефтезагрязненной почве

Выявление ферментативной активности у микробных изолятов

Определение протеазной активности. Протеолитическую активность бактериальных изолятов оценивали качественно с использованием среды на основе обезжиренного молока (г/л): ферментативный гидролизат казеина – 5; декстроза – 1; дрожжевой экстракт – 2,5; сухое обезжиренное молоко – 1; агар – 20 г/л. После выращивания в среде LB бактериальные изоляты методом штриха пересевали на среду SMA. Образование зоны гало свидетельствовало о наличии у штамма протеазной активности (Chandran Masi et al., 2021).

Определение целлюлазной активности. Метаболитическую активность целлюлазы наблюдали на среде карбоксиметилцеллюлозой (КМЦ). Бактериальные изоляты инокулировали в чашку Петри со средой КМЦ: $NaNO_3$ _ 0,2%, K_2HPO_4 – 0,1%, $MgSO_4$ – 0,05%, KCl – 0,05 %, соли карбоксиметилцеллюлозы – 0,2 %, пептон – 0,02%, агар – 1,7% и инкубировали при 30^0C в течение 2 суток. После инкубации чашки Петри окрашивали красителем Конго красным и промывали. Положительная активность целлюлазы определялась по образованию ореола на красном фоне (Amit Bera et al., 2014).

Определение амилолитической активности. Амилолитическую активность изолятов оценивали путем их культивирования на чашках с крахмальным агаром, которые затем подвергали инкубации при 28 °C в течение 48 часов. После этого чашки заливали раствором йодида калия (KI). Затем чашки осушали. Наличие прозрачных бесцветных ореолов вокруг колоний указывало на гидролиз крахмала и продукцию амилазы (Ntabo et al., 2014).

Характеристика бактерий по признакам, способствующим росту растений

Синтез соединений ИУК. Производство ИУК штаммами изучали на среде с 0,1% L – триптофана и измеряли с применением реактива Сальковского (Ji et al., 2014). Штаммы выращивали при 30^0C в течение 48 часов. После центрифугирования при 10 000 об. В течение 10 минут супернатанты культур собирали. Затем 2 мл супернатанта смешивали с 4 мл реактива Сальковского и оставляли в темноте при комнатной температуре в течение 30 мин. Появление розового цвета указывает на присутствие ИУК и количество образовавшегося ИУК измеряли с помощью спектрофотометра при 530 н.м. (30 нм (UV-1900, Shimadzu, Киото, Япония). Для сравнения использовали контрольную среду без инокуляции. Концентрацию ИУК в культуре определяли по стандартной кривой ИУК (Gordon & Weber, 1951).

Определение активности растворения фосфатов. Способность бактериальных изолятов растворять фосфаты проверяли на среде NBRIP с бромфеноловым синий (для роста фосфатов Национального ботанического исследовательского института), содержащей (г/л): глюкоза – 10, $Ca_3(PO_4)_2$ – 5, $MgCl_2$ – 5, $MgSO_4$ x$7H_2O$ – 0,25, KCl – 0,2, $(NH_4)_2SO_4$ – 0,1 и нерастворимый трикальций фосфат в качестве единственного источника фосфора. Эффективность выделенных штаммов в растворении фосфатов проводилась путем отбора микроорганизмов, способных образовывать прозрачную зону на чашке Петри за счет образования органических кислот в окружающей среде. Штаммы после инкубации при 30 °C в течение 7 суток образовывали прозрачные зоны, что указывали на фосфатсолюбилизирующую активность (Frey-Klett et al., 2005).

Продукция сидерофоров. Сидерофорную активность бактериальных изолятов определяли качественно методом посева на среду с реактивом хромазуролом S (CAS-реактивом). Среду CAS дополняли гексадецилтриметил аммоний бромидом (HDTMA), катионным растворителем, стабилизирующим комплекс Fe–CAS. Штаммы инкубировали в течение 4-5 суток при 30 °C. Бактерии, продуцирующие сидерофоры, идентифицировали по изменению цвета синей среды и образованию оранжево-желтой зоны (Schwyn&Neilands, 1987).

Фиксация азота. Способность штаммов фиксировать азот определяли по росту на сре-

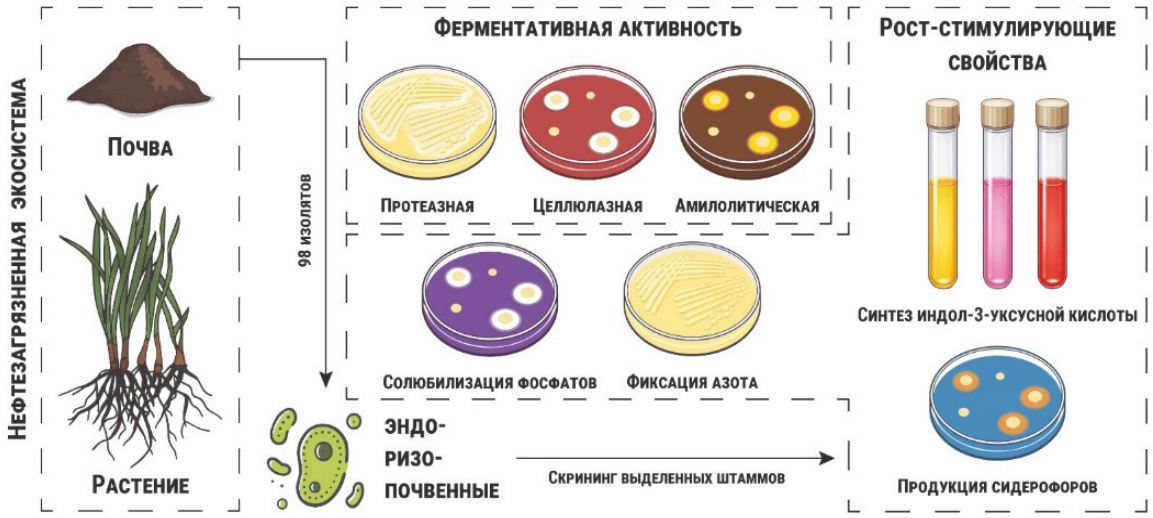
де Эшби (г/л): маннит – 20,0, K_2HPO_4 – 0,2, $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,2, NaCl – 0,2, K_2SO_4 – 0,1, $CaCO_3$ – 5,0, агар-агар – 15,0) (Tran et al., 2024) после 5 дней культивирования при 28 °C. Штаммы считались активными, если рост был обильным в течение 72 часов культивирования. Более низкая скорость роста интерпретировалась как слабый рост.

Определение принадлежности изолятов к грамположительным и грамотрицательным определяли с помощью теста KOH (Suslow et al., 1982).

Статистический анализ. Эксперименты проводились в трех повторениях, числовые значения представлены как среднее значение ± стандартное отклонение (SD) по трем повторениям.

На рисунке 1 показана схема эксперимента, наглядно оценивающая PGPR свойства, исследуемых изолятов.

Рисунок 1
Дизайн эксперимента



Результаты и их обсуждение

Выживанию растений в нефтезагрязненной почве способствует ризосферное микробное сообщество благодаря фитостимулирующей активности, а также за счет снижения фитотоксичности загрязнителя вследствие его биодеградации. В связи с этим интерес представляют микроорганизмы, относящиеся к группе PGPR, обладающие фитостимулирующей и деструктивной активностью, в отношении поллютанта (Basu et al., 2021).

Одним из важнейших критериев успешной фиторемедиации является стимуляция роста растений с помощью PGPR за счет продукции фитогормонов, обеспечения биодоступным фосфором, фиксированным азотом, депонированием железа в сидерофорах и синтезом различных ферментов (Lucy et al., 2004). Все перечисленные факторы способствуют к улучшению роста растения в условиях нефтяного стресса.

Использование микроорганизмов, выделенных из мест, загрязнённых нефтяными углеводородами, для стимулирования роста фиторемедиантов является чрезвычайно интересной и инновационной задачей. Местные штаммы более эффективны в колонизации корней растений, чем коммерческие штаммы, поскольку колонизация корней и взаимодействие растений с микроорганизмами индуцируются корневыми экссудатами, кроме того, местные микробные штаммы могут быть метаболически и генетически адаптированы для развития этих процессов. Поэтому, любой штамм, выделенный из такого источника, должен быть подвергнут ряду тестов для определения его потенциального применения (Ejaz et al., 2021).

В общей сложности было выделено 98 изолятов, которые отбирались для изоляции на основе визуальных морфологических различий и физиологических признаков, различающихся по пигментации, размеру, краю колоний или скоро-

сти роста. Из 98 изолированных изолятов – 68 изолятов были выделены из почвы и ризосферы растений фиторемедиантов и 30 изолятов изолированы из тканей. Выделенные изоляты подвергались нескольким этапам скрининга и оценивались различные свойства PGPR, включая растворение фосфата, фиксация азота, секреция индол-3-уксусной кислоты (ИУК), производство сидерофоров и различных гидролитических ферментов.

Исследования показывают, что рост растений выигрывает от взаимодействия с микроорганизмами, особенно в условиях стрессовых факторов окружающей среды, таких как загрязнение почвы, засоление или засуха. Положительное влияние микроорганизмов, населяющих почву, ризосферу или эндосферу, также имеет решающее значение в процессе фиторемедиации, поскольку они могут помогать растениям удалять загрязняющие вещества из почвы путем разложения углеводородов, производства ферментов и других факторов для стимулирования роста растений (Montreemuk et al., 2024). Так, напрмер, протеазы осуществляют минерализацию азота, борьбу с фитопатогенами, выявление проблем управления и естественного восстановление деградированных почв (Lori et al., 2024; Majumdar & Chakraborty, 2017).

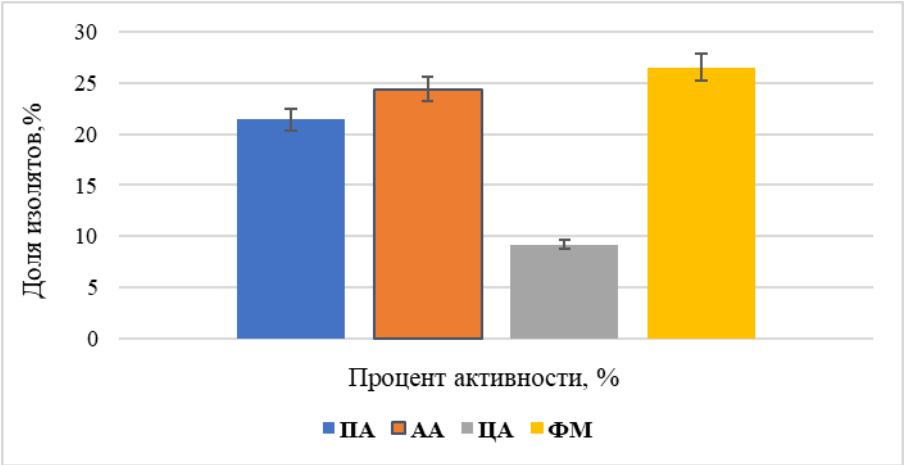
И поэтому на первом этапе многоступенчатого скрининга проводился отбор изолятов на наличие ферментативной активности. Скрининг на внеклеточную ферментативную активность (амилаза, целлюлаза и протеаза) осуществлялся на средах: с крахмалом, казеином и карбоксиметилцеллюлозой. Прозрачный ореол вокруг выросших колоний изолятов указывал на ферментативную активность.

Двадцать один из 98 бактериальных штаммов проявили способность к протеолитической активности на агаровых средах с казеином. По результатам полученных экспериментов 24 изолята показали амилолитическую активность на среде с крахмалом и диаметр зоны гало варьировался от 0,2 до 18 см. Образование прозрачных ореолов соответствовало от 0,7 до 2,5 см. Целлюлозолитическая активность выявлена у 9 изолятов. Данные изоляты были способны создавать зоны ореола диаметром от 0,5 до 1,7 см. Установлено, что 21,4% выделенных бактериальных штаммов (24 изолята) обладали протеолитической активностью, 24,4% – амилолитической, 9,2% – целлюлозолитической активностью (Рисунок 2). Стратегия применения субстратов в средах позволила отобрать штаммы с множественной гидролитической активностью. Так, каждый из исследованных штаммов бактерий продемонстрировал ферментативную активность в отношении 1, 2 или всех протестированных ферментов.

Результаты данных исследований представлены на рисунке 1. Микроорганизмы, обладающие двумя или более гидролитическими способностями, служат важным ресурсом в стратегии по снижению воздействия нефтяных загрязнений на окружающую среду.

Рисунок 2

Количество активных изолятов, обладающих ферментативной активностью



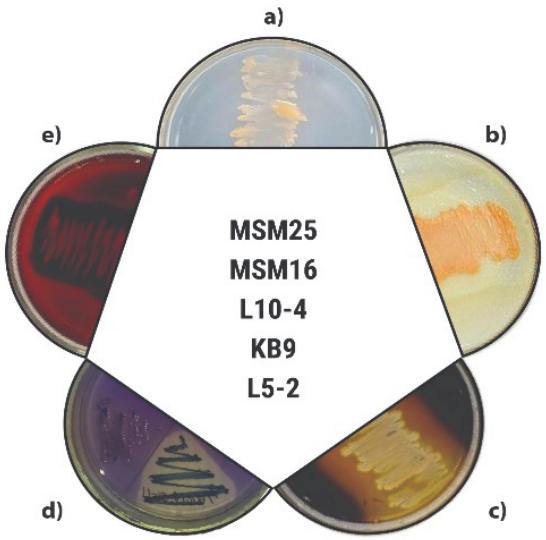
После первичного скрининга были выбраны 20 изолятов с наилучшей активностью на специфических культуральных средах и демонстрирующих высокую двойную или тройную ферментативную активность и условно обозначенные как N9, N11, MSM12, MSM3, MSM20, MSM21, MSM25, MSM20, V16, L5-2, L5-5, L5-6, L10-2, L10-6, L10-12, L10-10, KP5, KB9, KP10 и C10. Среди исследованных микроорганизмов штаммы N9, MSM3, MSM25, L10-2, L10-12, KP5, KB9, MSM21, KP10, C10 и N11 продемонстрировали двойную гидролитическую активность протеазы и амилазы. Примечательно, что N9, MSM3, MSM21, MSM25, L5-2, L5-5, L5-6 и L10-12 показали тройную гидролитическую активность: протеазы, амилазы и целлюлазы. Таким образом, штаммы, показавшие множественную гидролитическую активность, возможно имеют высокий потенциал применения в процессах биоремедиации.

Второй этап скрининга посвящен исследованиям по проверке изолятов на наличие множественных признаков, способствующих росту растений. Оценены такие свойства как способность растворять фосфор, образовывать 3-индолилуксусную кислоту, продуцировать сидерофоры и фиксировать молекулярный азот.

Растворение твердых фосфатов является очень распространенной характеристикой среди PGPR микроорганизмов. Такие бактерии играют значительную роль в почве благодаря своей метаболической активности, например растворению сложных форм фосфата в более доступные для растений формы, а также посредством процессов подкисления, хелатирования и реакций обмена (Pan&Cai, 2023). Все изолированные штаммы были проверены на способность растворять неорганический фосфат методом точечного посева бактериальных изолятов на модифицированную среду NBRIP с использованием трикальцийфосфата в качестве субстрата. Образование прозрачных ореолов вокруг бактериальных колоний после 7 дней инкубации при температуре 28°C считалось показателем фосфатрастворяющей активности. Так, из 98 проверенных изолятов 26 (26,5 %) штаммов могли создавать фосфатрастворяющие четкие зоны вокруг своих колоний, что может быть результатом образования органических кислот или полисахаридов, или активности ферментов фосфатазы. Среди исследованных 30 (30,6%) штаммов показали слабый уровень растворять фосфат, а 42 (42,9%) штамма вовсе не продемонстрировали способность к растворению фосфата и не показали зон гало на чашке Петри с NBRIP. Таким образом, было отобрано 26,5 % штаммов с наилучшей способностью растворять фосфор и 5 изолятов проявили ферментативную активность (Рисунок 3).

Рисунок 3

Изоляты со множественной ферментативной и фосфатмобилизующей активностями



Примечание: (a) азотфиксирующая активность; (b) протеолитическая активность; c) амилолитическая активность; d) фосфатмобилизующая активность; e) целлюлазная активность;

Эндогенно продуцируемые или экзогенно применяемые органические соединения известны как регуляторы роста и развития растений и оказывают влияние на морфологические и физиологические процессы. Среди таких регуляторов роста растений, наиболее распространенным является продукция ИУК, стимулирующих развитие корневой системы растений. ИУК как представитель группы фитогармонов, обычно считается наиболее важным природным ауксином (Kadmiri et.al., 2018; Singh& Jha, 2017). В связи с чем проведен скрининг, заключающийся отборе PRRB, продуцирующих индолуксусную кислоту. Штаммы были протестированы на продукцию ИУК колориметрическим методом с помощью реактива Сальковского и гарантирующего присутствие гормона в супернатанте инокулянтов по появлению ярко красной окраски. Так, образование индолуксусной кислоты было

характерно почти для всех выделенных 98 штаммов. Однако, уровень образования ИУК варьировался от 1,2 до 159 мкг/мл в зависимости от штамма. В зависимости от количества синтезируемого ИУК штаммы были разделены на группы: низко (от 1 до 11 мкг/мл), средне (от 12 до 20) и высокопродуктивные (свыше 20 мкг/мл).

Из 98 протестированных изолятов в группу низкопродуцирующие ИУК были включены 54 изолята, которые синтезировали различное количество ауксина, варьирующееся от 0,5 до 11 мкг/мл и это составило 55,1 %. А ко второй группе были отнесены 22 штамма, продуцирующие ИУК в пределах от 14 до 19,5 мкг/мл или 22.4 %. Так, относительно высокое содержание ИУК свыше 22 мкг/мл было выявлено у 21 штаммов (21,4 %), среди них 10 штаммов (10,2 %) оказались лучшими продуцентами ИУК MSM17, N11, NB14, N10, V23, Cab11, C11, L10-11, LbB7 и LbP9 показали самый высокий уровень ИУК от 59 до 159 мгк/мл. Уровни продукции ИУК, близкие к 50 мг/л или превышающие их, обычно считаются высокими.

Некоторые исследования указывают на то, что свободноживущие (Chaudhary et al., 2002) и симбиотические азотфиксирующие бактерии обладают потенциалом утилизации углеводородов. Эти факты указывают на возможное наличие почвенных бактерий, обладающих комбинированным потенциалом для утилизации углеводородов, фиксации азота, а также устойчивости к нефтяным загрязнениям. Поэтому, отобранные бактерии, обладающие возможностью к фиксации азота, могут стать ценными биологическими системами, улучшающими биоремедиацию почв, загрязненных нефтью (Sorkhoh et al., 2010).

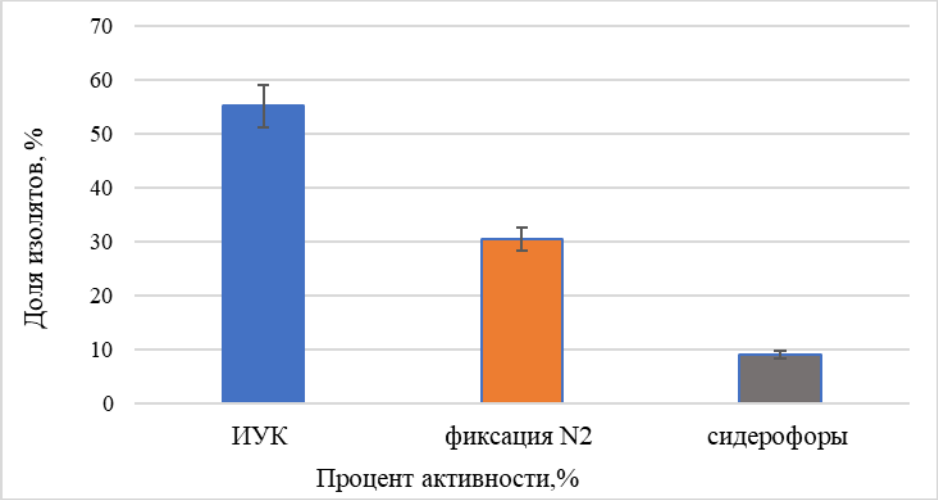
Для скрининга изолятов на способность к фиксации азота использовалась безазотистая среда Эшби. Изоляты высевали на поверхность среды и инкубировали в течение 3-5 дней при 28°C. Образование хорошего роста колонии свидетельствовало о способности изолята к фиксации азота. Из 98 проверенных только 30 изолятов фиксировали азот. Кроме того, 3 штамма (Cab11, C11и MSM25) продуцировали слизь, что является косвенным признаком того, что они синтезирует экзополисахарид.

Одним из факторов, лимитирующих скорость разложения углеводородов микробными сообществами, является доступность и потребность питательных веществ, включая железо. Микроорганизмы, связанные с ризосферой, продуцируют широкий спектр сидерофоров. Известно, что сидерофоры, синтезуемые бактериями, участвуют в биодеградации нефтяных углеводородов посредством косвенного механизма, облегчая усвоение железа деградирующими микроорганизмами в случае дефита железа (Barbeau et al., 2002).

На следующем этапе скрининга все 98 выделенных микроорганизмов были исследованы на предмет продукции сидерофоров. Для обнаружения сидерофоров проводили инокуляцию изолятов в течение 72 часов при 30 °C на среду CAS (*Lynne et al., 2011)*. Сидерофор-положительными считали те изоляты, у которых наблюдали изменение цвета с синего на оранжевый вокруг инокулированной области. Так, 9,1% или 9 изолятов, у которых при скрининге на агаровой среде CAS было обнаружено наличие сидерофор, остальные изоляты 89, 9% не образовывали оранжевые зоны гало на среде (Рисунок 4). Таким образом, штаммы, продуцирующие сидерофоры, являются экологически чистыми и устойчивыми агентами, которые могут способствовать процессам ремедиации и могут оказать влияние в борьбе со стрессом растений. Отбор перспективных штаммов бактерий, секретирующих сидерофоры могут выступать как потенциальные инокулянты в существующих методах очистки и могут применяться как перспективная и экологически безопасная стратегия для эффективного восстановления нефтезагрязненных почв (Ahmed& Holmström, 2014).

Из 98 изолятов 12 (MSM16, MSM21, MSM25, L5-6, L5-5, L5-2, L10-11, L10-4, L10-12, KP5, KB9 и C10) показали одновременно положительный результат по четырем признакам (ИУК, растворение фосфатов, фиксацию и образованию сидерофоров), способствующим росту растений (Рисунок 3). Кроме того, штамм MSM25 показал шесть признаков, повышающих рост растений: ИУК, растворение фосфатов, фиксацию азота, образованию сидерофоров, обладал амилолитической и целлюлозолитической активностью. Штаммы MSM16 и N10 показали положительный результат по всем пяти PGPR признакам, как синтез ИУК, растворение фосфатов, фиксация азота, образование сидерофоров и целлюлозотической активностью. Штаммы MSM21, L5-5, L5-2 и L5-6 демонстрировали следующие свойства PGPR: фиксация азота, растворение фосфатов, образование сидерофоров и проявили активность протеазы, амилазы и целлюлазы.

Рисунок 4
Количество активных изолятов, обладающих PGPR свойствами



Штаммы L10-4, L10-12, KP5, KB9 и C10 обладали рядом свойств как продукция ИУК, растворение фосфата, фиксация азота, образование сидерофор, кроме того, продуцировали протеазу, амилазу и целлюлазу.

Таблица 1 отражает результаты качественной оценки признаков, связанных с ростостимулирующими свойствами растений такими как: продукция ИУК, фиксация азота, солюбилизация фосфора, что важно при выборе кандидатов-биоинокулянтов для стимулирования развития растений.

Среди исследованных культур большинство (76) штаммов являются грамположительными, что составляет 77,5%, а остальными 12 штаммов (11,7%) оказались грамотрицательными. Настоящее исследование показало, что большинство штаммов, продуцирующих ИУК, являются грамположительными. Из данных литературы следует, что некоторые грамположительные штаммы относятся к бактериям рода *Bacillus*, известным своей способностью продуцировать ИУК (Wahyudi et al., 2011).

Таблица 1
Ранжирование изолятов по количеству PGPR-признаков

Изоляты	Кол-во PGPR-признаков	Признаки
L10-4, L10-12, KP5, KB9, C10	7	ИУК; растворение фосфатов; фиксация азот; сидерофоры; протеолитическая, амилолитическая и целлюлозолитическая активности
MSM25	6	ИУК; растворение фосфатов; фиксация азота; сидерофоры; амилолитическая и целлюлозолитическая активности
MSM21, L5-5, L5-2, L5-6	6	фиксация азота; растворение фосфатов; сидерофоры; протеолитическая, милолитическая и целлюлозолитическая активности
MSM16, N10	5	ИУК; растворение фосфатов; фиксация азота; сидерофоры; целлюлозолитическая активность
MSM16, MSM21, MSM25, L5-6, L5-5, L5-2, L10-11, L10-4, L10-12, KP5, KB9,	4	ИУК; растворение фосфатов; фиксация азота; сидерофоры

Результаты исследований показывают, что отборанные штаммы представляют собой перспективных кандидатов для использования в качестве биоинокулянтов, предлагая устойчивую и экологически чистую стратегию биоремедиации почв, загрязненных нефтяными углеовдородами. Благодаря этим прямым и косвенным эффектам, вызываемым PGPR, они являются идеальными кандидатами для разработки и коммерциализации в качестве биоинокулянтов и фитопротекторных микробных продуктов. Эффективные многофункциональные штаммы могут быть использованы в качестве биоинокулянтов как отдельные штаммы, так и в комбинации для биоремедиации нефтезагрязнённых почв.

Конфликт интересов

Авторы подтверждают, что ознакомлены с содержанием статьи и не имеют конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена в рамках проекта №AP23489379 «Фитостратегия: восстановление почв Атырауской области, загрязненных углеводородами с использованием растений и биоинокулянтов» на 2024–2026 гг. при поддержке Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан.

Вклад авторов

Бержанова Р.Ж.: разработка концепции, методология, научное руководство, управление проектом, редактирование и доработка рукописи.

Мукашева Т.Д.: разработка концепции, научное руководство, редактирование и доработка рукописи.

Бектилеуова Н.К.: формальный анализ, валидация данных, редактирование и доработка рукописи

Абай Г.: проведение исследования, сбор и обработка данных, валидация данных

Сатыбалды Е.С.: проведение исследования, сбор и обработка данных, валидация данных

Сыдыкбекова Р.К.: формальный анализ, валидация данных, редактирование и доработка рукописи.

Литература

Ahmed, E., & Holmström, S. J. M. (2014). Siderophores in environmental research: Roles and applications. *Microbial Biotechnology, 7*(3), 196–208. https://doi.org/10.1111/1751-7915.12117

Bera, A., Ghosh, A., Mukhopadhyay, A., Chattopadhyay, D., & Chakrabarti, K. (2014). Improvement of degummed ramie fiber properties upon treatment with cellulase secreting immobilized *A. larrymoorei*. *Bioprocess and Biosystems Engineering, 38*, 341–351. https://doi.org/10.1007/s00449-014-1274-6

Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R. Z., Reddy, M. S., & El Enshasy, H. (2021). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: Recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability, 13*(3), 1140. https://doi.org/10.3390/su13031140

Barbeau, K., Zhang, G. P., Live, D. H., & Butler, A. (2002). Petrobactin, a photoreactive siderophore produced by the oil-degrading marine bacterium *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*. *Journal of the American Chemical Society, 124*, 378–379. https://doi.org/10.1021/ja0119088

Bhardwaj, D., Ansari, M. W., Sahoo, R. K., & Tuteja, N. (2014). Biofertilizers function as key players in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microbial Cell Factories, 13*, 1–10.

Chandran Masi, M., Gemechu, G., & Tafesse, M. (2021). Isolation, screening, characterization, and identification of alkaline protease-producing bacteria from leather industry effluent. *Annals of Microbiology, 71*, 24. https://doi.org/10.1186/s13213-021-01631-x

Chaudhary, D. K., Bajagain, R., Jeong, S.-W., & Kim, J. (2019). Development of a bacterial consortium comprising oil-degraders and diazotrophic bacteria for elimination of exogenous nitrogen requirement in bioremediation of diesel-contaminated soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology, 35*(7), 99. https://doi.org/10.1007/s11274-019-2674-1

Frey-Klett, P., Chavatte, M., Clausse, M. L., Courrier, S., Roux, C. L., Raaijmakers, J., et al. (2005). Ectomycorrhizal symbiosis affects functional diversity of rhizosphere fluorescent pseudomonads. *New Phytologist, 165*, 317–328.

Gordon, S. A., & Weber, R. P. (1951). Colorimetric estimation of indoleacetic acid. *Plant Physiology, 26*, 192–195. https://doi.org/10.1104/pp.26.1.192

Ji, S. H., Gururani, M. A., & Chun, S. C. (2014). Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. *Microbiological Research, 169*, 83–98. https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.06.003

Kadmiri, I. M., Chaouqui, L., Azaroual, S. E., Sijilmassi, B., Yaakoubi, K., & Wahby, I. (2018). Phosphate-solubilizing and auxin-producing rhizobacteria promote plant growth under saline conditions. *Arabian Journal of Science and Engineering, 43*, 3403–3415.

Pan, L., & Cai, B. (2023). Phosphate-solubilizing bacteria: Advances in their physiology, molecular mechanisms and microbial community effects. *Microorganisms, 11*(12), 2904. https://doi.org/10.3390/microorganisms11122904

Lori, M., Symnaczik, S., Mäder, P., De Deyn, G., & Gattinger, A. (2017). Organic farming enhances soil microbial abundance and activity—A meta-analysis and meta-regression. *PLoS ONE, 12*(7), e0180442.

Lucy, M., Reed, E., & Glick, B. R. (2004). Applications of free-living plant growth promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek, 86*(1), 1–25. https://doi.org/10.1023/B:ANTO.0000024903.10757.6e

Lynne, A. M., Haarmann, D., & Louden, B. C. (2011). Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. *Journal of Microbiology & Biology Education, 12*, 51–53. https://doi.org/10.1128/jmbe.v12i1.249

Mahanty, T., Bhattacharjee, S., Goswami, M., Bhattacharyya, P., Das, B., Ghosh, A., & Tribedi, P. (2017). Biofertilizers: A potential approach for sustainable agriculture development. *Environmental Science and Pollution Research, 24*, 3315–3335.

Majumdar, S., & Chakraborty, U. (2017). Optimization of protease production from plant growth promoting *Bacillus amyloliquefaciens*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences, 8*, 635–642.

Montreemuk, J., Stewart, T. N., & Prapagdee, B. (2024). Bacterial-assisted phytoremediation of heavy metals: Concepts, current knowledge, and future directions. *Environmental Technology & Innovation, 33*, 103488. https://doi.org/10.1016/j.eti.2023.103488

Ejaz, M., Zhao, B., Wang, X., Bashir, S., Haider, F. U., Aslam, Z., Khan, M. I., Shabaan, M., Naveed, M., & Mustafa, A. (2021). Isolation and characterization of oil-degrading *Enterobacter* sp. from naturally hydrocarbon-contaminated soils. *Applied Sciences, 11*(8), 3504. https://doi.org/10.3390/app11083504

Ntabo, R. M., Nyamache, A. K., Lwande, W., Kabii, J., & Nonoh, J. (2018). Enzymatic activity of endophytic bacterial isolates from selected mangrove plants in Kenya. *Open Microbiology Journal, 12*, 354–363.

Hosseini, S., Sharifi, R., & Habibi, A. (2025). Efficient bioremediation of crude oil contaminated soil by a consortium of in-situ biosurfactant producing hydrocarbon-degraders. *Scientific Reports, 15*, 19852. https://doi.org/10.1038/s41598-025-05035-8

Schwyn, B., & Neilands, J. B. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry, 160*, 47–56.

Singh, R. P., & Jha, P. N. (2017). The PGPR *Stenotrophomonas maltophilia* SBP-9 augments resistance against stress in wheat plants. *Frontiers in Microbiology, 8*, 1945. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01945

Sorkhoh, N. A., Ali, N., Dashti, N., Al-Mailem, D. M., Al-Awadhi, H., Eliyas, M., & Radwan, S. S. (2010). Soil bacteria with combined potential for oil utilization, nitrogen fixation, and mercury resistance. *International Biodeterioration & Biodegradation, 64*(3), 226–231.

Suslow, T. V., Schroth, M. N., & Isaka, M. (1982). Application of a rapid method for Gram differentiation of bacteria. *Phytopathology, 72*, 917–918. https://doi.org/10.1094/phyto-72-917

Tokbergenova, A., Skorintseva, I., Ryskeldiyeva, A., Kaliyeva, D., Salmurzauly, R., & Mussagaliyeva, A. (2025). Assessment of anthropogenic disturbances of landscapes: West Kazakhstan region. *Sustainability, 17*(2), 573. https://doi.org/10.3390/su17020573

Tran, V. C., Mai, P. T. T., Giang, N. T., Hien, L. V., Tuan, N. M., Hai, N. T., Anh, H. T. L., & Khuong, N. Q. (2024). Isolation, selection, and biological evaluation of nitrogen-fixing bacteria from paddy soils in Vietnam. *The Open Agriculture Journal*. https://doi.org/10.2174/0118743315298974240313043427

Wahyudi, A. T., Astuti, R. P., Widyawati, A., Meryandini, A., & Nawangsih, A. A. (2011). Characterization of *Bacillus* sp. strains isolated from soybean rhizosphere. *Journal of Microbiology and Antimicrobials, 3*, 34–40.

Zandi, P., & Basu, S. K. (2016). Role of plant growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers. In D. Nandwani (Ed.), *Organic farming for sustainable agriculture* (pp. 71–87). Springer.

Сведения об авторах:

Р.Ж. Бержанова – ассоциированный профессор кафедры биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби (Алматы, Казахстан, e-mail: ramza05@mail.ru).

Т.Д. Мукашева – профессор кафедры биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби (Алматы, Казахстан, e-mail: mtogzhan@mail.ru).

Н.К. Бектилеуова – докторант 2 курса обучения кафедры биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби (Алматы, Казахстан, e-mail: nurgul210979@gmail.com).

Г. Абай – старший научный сотрудник ТОО «BioClean» (Алматы, Казахстан, e-mail: abay.gk@mail.ru).

Е.С. Сатыбалды – магистрант 2 курса обучения кафедры биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби (Алматы, Казахстан, e-mail: satybaldyelnur49@gmail.com).

Р.К. Сыдыкбекова – ассоциированный профессор кафедры биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби (Алматы, Казахстан, e-mail: raihan_07_77@mail.ru).

Information about the authors:

R. Berzhanova – Associate Professor of the Department of Biotechnology of Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: ramza05@mail.ru).

T. Mukasheva – Professor of the Department of Biotechnology of Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: mtogzhan@mail.ru).

N. Bektileuova – 2nd-year doctoral student of the Department of Biotechnology of Al-Farabi Kazakh National University, (Almaty, Kazakhstan, e-mail: nurgul210979@gmail.com).

G. Abay – Senior Researcher at BioClean LLC (Almaty, Kazakhstan, e-mail: abay.gk@mail.ru).

E. Satybaldy – 2nd-year Master's student of the Department of Biotechnology of Al-Farabi Kazakh National University, (Almaty, Kazakhstan, e-mail: satybaldyelnur49@gmail.com).

R. Sydykbekova – Associate Professor of the Department of Biotechnology of Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: raihan_07_77@mail.ru).

Авторлар туралы мәлімет:

Р.Ж. Бержанова – биотехнология кафедрасының қауымдастырылған профессоры әль-Фараби атындағы ҚазҰУ (Алматы, Қазақстан, e-mail: ramza05@mail.ru).

Т. Д. Мукашева – биотехнология кафедрасының профессоры әль-Фараби атындағы ҚазҰУ (Алматы, Қазақстан, e-mail: mtogzhan@mail.ru).

Н.К. Бектилеуова – биотехнология кафедрасының 2 курс докторанты әль-Фараби атындағы ҚазҰУ (Алматы, Қазақстан, e-mail: nurgul210979@gmail.com).

Г. Абай – ЖШС «BioClean» аға ғылыми қызметкері (Алматы, Қазақстан,эл. почта: abay.gk@mail.ru)

Е.С. Сатыбалды – биотехнология кафедрасының 2 курс магистранты әль-Фараби атындағы ҚазҰУ (Алматы, Қазақстан, e-mail: satybaldyelnur49@gmail.com).

Р.К. Сыдыкбекова – биотехнология кафедрасының қауымдастырылған профессоры әль-Фараби атындағы ҚазҰУ (Алматы, Қазақстан, e-mail: raihan_07_77@mail.ru).

Поступила 5 ноября 2025 года
Принята 25 марта 2026 года