

Волжско-Каспийский филиал федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт
рыбного хозяйства и океанографии» («КаспНИРХ»)

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Астраханский государственный технический университет»
(ФГБОУ ВО «АГТУ»)

На правах рукописи

Дьякова Светлана Александровна

**ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ
СООБЩЕСТВ ВОДЫ И ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ПРИГЛУБОЙ
ЗОНЫ ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ СЕВЕРНОГО КАСПИЯ**

1.5.16. Гидробиология (биологические науки)

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биол. наук, профессор
Сопрунова Ольга Борисовна

Астрахань – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|--|----|
| ВВЕДЕНИЕ..... | 4 |
| ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР | 10 |
| 1.1 Гидролого-гидрохимические особенности среды обитания бактериопланктона и бактериобентоса Северного Каспия..... | 10 |
| 1.2 История изучения микробиоты Северного Каспия..... | 13 |
| 1.3 Углеводородокисляющие бактерии Северного Каспия как перспективные объекты биоремедиации морской среды..... | 17 |
| 1.4 Роль бактериальных сообществ в системе мониторинга морской среды..... | 21 |
| ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ..... | 25 |
| 2.1 Объекты исследований..... | 25 |
| 2.2. Методы исследований | 26 |
| 2.2.1 Определение общей численности бактерий, численности культивируемых гетеротрофных бактерий и ассимиляционного потенциала воды..... | 26 |
| 2.2.2 Методы выделения и идентификации чистых культур бактерий и определения их свойств. Оценка биоразнообразия сапротрофного и углеводородокисляющего бактериопланктона и бактериобентоса | 28 |
| 2.2.3 Определение способности к росту микроорганизмов на средах с различными источниками углерода | 31 |
| 2.2.4 Генетическая идентификация выделенных микроорганизмов..... | 32 |
| 2.2.5 Определение способности микроорганизмов развиваться в присутствии различных концентраций тяжелых металлов | 32 |
| 2.2.6 Определение эмульгирующей активности и оценка гидрофобных свойств микроорганизмов | 33 |
| 2.2.7 Определение деструкции нефти и отдельных ее фракций бактериями..... | 34 |
| ГЛАВА 3. ЧИСЛЕННОСТЬ БАКТЕРИОПЛАНКТОНА И БАКТЕРИОБЕНТОСА В ПРИГЛУБОЙ ЗОНЕ ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ СЕВЕРНОГО КАСПИЯ | 42 |
| 3.1 Бактериопланктон..... | 42 |
| 3.2 Бактериобентос | 56 |
| ГЛАВА 4. БИОРАЗНООБРАЗИЕ КУЛЬТИВИРУЕМОГО БАКТЕРИОПЛАНКТОНА И БАКТЕРИОБЕНТОСА В ПРИГЛУБОЙ ЗОНЕ ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ СЕВЕРНОГО КАСПИЯ..... | 63 |

| | |
|---|-----|
| ГЛАВА 5. ВЫДЕЛЕНИЕ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ ИЗ ВОД СЕВЕРНОГО КАСПИЯ | 79 |
| 5.1 Выделение и изучение физиолого-биохимических свойств нефтеокисляющих бактерий | 79 |
| 5.2 Идентификация выделенного углеводородокисляющего бактериального изолята | 81 |
| 5.3 Первичный скрининг деструкционной активности штамма в отношении поллютантов..... | 82 |
| 5.4 Изучение деструкции нефти бактериальным штаммом..... | 85 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ | 92 |
| ВЫВОДЫ | 98 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ..... | 99 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ А..... | 127 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ Б..... | 135 |

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Северный Каспий – наиболее мелководная часть Каспийского моря, которая находится под непосредственным влиянием адвекции волжского стока, от уровня которого зависит большинство гидролого-гидрохимических и гидробиологических параметров Северного Каспия [Добровольский, 1982; Панин, 2005; Катунин, 2014]. На акватории Северного Каспия соседствуют ареалы нагула молоди и взрослых особей полупроходных и проходных видов рыб [Иванов, 2000; Монахова, 2009; Андрианова, 2012; Мирзоян, 2018] и нефтегазоносные месторождения, активное освоение которых наряду с развитым судоходством вносит значительный вклад в антропогенное воздействие на данную акваторию [Катунин, 1999; Korsenko, 2005; Leonov, 2011; Гаврилов, 2011; Войнова, 2018]. Направления хозяйственного использования акватории Северного Каспия определяют необходимость ежегодного мониторинга гидробиологических показателей морской среды. В системе мониторинговых исследований особое место занимают такие микробиологические показатели, как определение общей численности бактерий (ОЧБ), численности сапротрофов, олиготрофов и углеводородокисляющих бактерий (УОБ), их видового состава и физиолого-биохимических свойств, так как вышеуказанные параметры микробиоты позволяют определить направленность происходящих процессов в морской экосистеме и своевременно провести корректирующие мероприятия по устранению или минимизации антропогенного воздействия на среду, а постоянная угроза аварийных разливов нефти на акватории Северного Каспия определяет актуальность поиска новых автохтонных штаммов-нефтедеструкторов, эффективных и безопасных для использования в биоремедиации акватории.

Степень разработанности темы исследования. Изучение микробных сообществ Каспийского моря проводится с начала XX века [Буткевич, 1938]. В современный период накоплен большой массив данных по различным составляющим экологии бактериальной популяции воды и донных отложений

северной части Каспийского моря [Мишустина, 1985; Израэль, 1989; Бутаев, 2002; Умербаева, 2003; Куликова, 2009; Соколова, 2012; Володина, 2016]. Однако комплексное изучение культивируемых гетеротрофных микробных сообществ, учитывающих численность различных групп бактериопланктона и бактериобентоса в долгосрочном сезонном аспекте, а также изучение биоразнообразия их видового состава и отдельных физиолого-биохимических свойств, не проводилось.

Цель работы заключалась в выявлении особенностей функционирования бактериальных сообществ воды и донных отложений приглубой зоны западной части Северного Каспия в условиях активного развития хозяйственной деятельности, а также скрининг новых штаммов-нефтедеструкторов, эффективных и безопасных для использования в биоремедиационных целях.

В соответствии с целью в работе были поставлены следующие **задачи**:

- определить динамику общей численности бактерий, количества сапротрофных, олиготрофных и углеводородокисляющих бактерий, а также их соотношение в поверхностном и придонном горизонтах воды в сезонном аспекте;
- определить динамику численности сапротрофных, олиготрофных и углеводородокисляющих бактерий, а также их соотношение в донных отложениях в сезонном аспекте;
- выявить взаимосвязь микробиологических показателей с гидролого-гидрохимическими параметрами морской среды;
- выявить особенности разнообразия культивируемого сапротрофного и углеводородокисляющего бактериопланктона и бактериобентоса, определить наличие у выделенных бактерий факторов патогенности и антибиотикорезистентности;
- провести скрининг углеводородокисляющих бактерий с целью получения штаммов-нефтедеструкторов, перспективных для применения в биоремедиационных процессах.

Научная новизна работы. Впервые получены комплексные данные о динамике численности различных физиологических групп гетеротрофного бактериопланктона и бактериобентоса в поверхностном и придонном горизонтах воды и донных отложениях приглубой зоны западной части Северного Каспия в долгосрочном сезонном аспекте. Впервые получены данные о сезонной динамике биоразнообразия культивируемых сапротрофных бактерий и УОБ, выделенных из воды и грунта приглубой зоны западной части Северного Каспия, выявлена частота встречаемости у изолированных бактерий факторов патогенности и множественной антибиотикорезистентности. Выделен новый перспективный штамм-нефтедеструктор, идентифицированный на основании секвенирования 16s рРНК как *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T, который продемонстрировал наличие гидрофобных свойств и высокую степень деструкции нефти и отдельных ее фракций (алканов, полиароматических и алифатических углеводородов).

Теоретическая и практическая значимость. Результаты, полученные в ходе работы, могут быть использованы в качестве фоновых показателей при проведении комплексного экологического мониторинга акватории северной части Каспийского моря. На их основании дана оценка потенциального вклада бактерий в процессы естественного очищения вод, которую необходимо учитывать при разработке экологических критериев качества водной среды, в том числе нормативов предельно допустимого загрязнения и сброса нефтепродуктов. Основные результаты выполненных исследований и использованные в работе методы применяются при выполнении работ по государственному заданию в части «Осуществление государственного мониторинга водных биологических ресурсов во внутренних водах, территориальном море РФ, на континентальном шельфе РФ и в исключительной экономической зоне РФ, в Азовском и Каспийском морях».

Методология и методы исследования. В ходе исследований применены общепринятые стандартные методы определения общей численности бактерий, численности различных гетеротрофных групп бактерий, определения таксономического состава культивируемого бактериопланктона и

бактериобентоса и их биоразнообразия, определения факторов патогенности и антибиотикорезистентности бактерий. Исследования полезных свойств нового штамма-нефтедеструктора включали применение как часто используемых методов (эмульгирующая активность, гидрофобная активность, гравиметрический способ определения убыли нефти), так и частные методы (флуометрия, ИК-спектрометрия, газовая хроматография) для определения деструкции отдельных классов нефтяных углеводородов. Собранный материал обработан статистически.

Связь с научными программами, планами, темами. Работа выполнена в соответствии с выполнением работ по государственному заданию в части «Осуществление государственного мониторинга водных биологических ресурсов во внутренних водах, территориальном море РФ, на континентальном шельфе РФ и в исключительной экономической зоне РФ, в Азовском и Каспийском морях» ФГБНУ «ВНИРО» и выполнением научно-исследовательской работы в рамках государственного задания Федерального агентства по рыболовству ФГБОУ ВО «АГТУ».

Положения, выносимые на защиту

- Количественные характеристики бактериопланктона и бактериобентоса приглубой зоны западной части Северного Каспия определяются объемом стока волжских вод и содержанием биогенных элементов;
- Снижение биоразнообразия сапротрофного и углеводородокисляющего бактериопланктона и бактериобентоса во временном аспекте в совокупности с их физиолого-биохимическими свойствами указывает на стрессирование микробных сообществ приглубой зоны западной части Северного Каспия;
- Новый аборигенный бактериальный штамм-нефтедеструктор *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T является перспективным объектом для использования его в биоремедиационных целях.

Личный вклад соискателя. Автор сформулировал и обосновал тему исследования, поставил цели и задачи работы, принимал участие в экспедиционных исследованиях, проводил отбор и обработку проб, выбор и

отработку методов исследования, полученные результаты обобщены и представлены в виде оформленной работы.

Степень достоверности. Достоверность результатов обеспечена достаточным количеством собранных проб для качественной и количественной оценки показателей бактериопланктона и бактериобентоса. Используются стандартные методы статистической обработки данных с применением программ MS Excel. Все полученные результаты и выводы подкреплены данными, приведёнными в рисунках и таблицах.

Апробация работы. Основные положения диссертации докладывались и обсуждались в период с 2015 по 2023 гг. на следующих конференциях: Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием, приуроченная к 145-летию Севастопольской биологической станции «Морские биологические исследования: достижения и перспективы» (Севастополь, 2016); Международная научная конференция научно-педагогических работников Астраханского государственного технического университета (Астрахань, 2016, 2017, 2018); V Научно-практическая конференция молодых ученых с международным участием «Современные проблемы и перспективы развития рыбохозяйственного комплекса» (Москва, 2017); V Международная научная конференция «Водные биоресурсы, аквакультура и экология водоемов» в рамках V Международного «Балтийского морского форума» (Калининград, 2017); Научная конференция с международным участием «ЭКОБИОТЕХ» (Уфа, 2017, 2019); V, VI, VII, VIII, IX Международная научно-практическая конференция «Проблемы сохранения экосистемы Каспия в условиях освоения нефтегазовых месторождений» (Астрахань, 2015, 2017, 2019, 2021, 2023); Всероссийская междисциплинарная научная конференция «Наука и практика» (Астрахань, 2017, 2020); II Международная научно-практическая конференция «Изучение водных и наземных экосистем: история и современность» (Севастополь, 2022); XIII и XIV Международная научно-практическая конференция «Новейшие технологии освоения месторождений углеводородного сырья и обеспечение безопасности экосистем Каспийского шельфа», (Астрахань, 2022, 2023).

Публикации. Основные положения и выводы диссертации Дьяковой Светланы Александровны изложены в 27 печатных работах, из них: статей в рецензируемых научных журналах – 8, в том числе реферируемых в Web of Science и Scopus – 2, статьи в сборниках материалов конференций – 17, тезисы докладов конференций – 2. Требованиям ВАК по специальности 1.5.16 «Гидробиология» удовлетворяют 4 работы в рецензируемых научных изданиях.

В статьях, опубликованных в соавторстве, вклад соискателя состоит в получении оригинальных данных, обсуждении и написании текста статей и тезисов. Права соавторов публикаций не нарушены.

Структура и объем диссертации. Работа состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, списка литературы и приложений. Общий объем 139 страниц, 34 рисунка, 7 таблиц, 7 приложений. Список литературы содержит 249 источников, в том числе - 72 иностранных.

Благодарности. Выражаю искреннюю благодарность научному руководителю, д.б.н. профессору Ольге Борисовне Сопруновой за помощь и поддержку на протяжении всех этапов работы, сотрудникам лаборатории ихтиопатологии и лаборатории водных проблем и токсикологии Волжско-Каспийского филиала ФГБНУ «ВНИРО» («КаспНИРХ») за помощь в проведении исследований и предоставленные данные по гидрохимии, сотрудникам кафедры «Прикладная биология и микробиология» ФГБОУ ВО «Астраханский государственный технический университет» за ценные советы и помощь в интерпретации исследований, Наталье Владимировне Карыгиной за помощь в освоении методов флуометрии, ИК-спектрометрии, газовой хроматографии.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Гидролого-гидрохимические особенности среды обитания бактериопланктона и бактериобентоса Северного Каспия

Каспийское море – уникальный водоем морского типа. Отсутствие связи с мировым океаном определяет Каспий как крупнейший замкнутый водоем. Общая площадь Каспийского моря составляет порядка 378,4 тыс. км². Каспийское море имеет две котловины глубиной 800 – 1000 м, при этом в северной части моря расположена обширная шельфовая зона. Морфологическое строение, физические и географических условия определяют условное деление Каспия на три части: Северный, Средний и Южный Каспий [Книпович, 1921; Катунин, 2014; Дегтярева, 2017].

Каспийское море характеризуется высокой продуктивностью и биоразнообразием, которое соседствует с существенными запасами нефти и газа [Аполлов, 1956; Салманов, 1999; Иванов, 2000; Peeters, 2000, Абуталиева, 2005; Курапов, 2006; Гаджиев, 2014]. Замкнутое положение Каспия обуславливает большую зависимость состояния водоёма от различных факторов [Каспийское море. Гидрология..., 1986], в частности от условий, определяющих уровень моря. С XXI в. уровень моря стабилизировался в районе отметки –27 м. Каспийское море обладает обширным водосборным бассейном более 3,5 млн. км², основную часть которого составляет бассейн р. Волги. В пределах Северного Каспия выделяют также западную и восточную части. Объем водных масс составляет 470–490 тыс. км³ [Каспийское море. Гидрология..., 1986; Иванов, 2000; Катунин, 2014]. Северный Каспий занимает четверть площади моря, при этом вмещающая только 0,5% объема вод всего Каспия [Катунин, 2014].

Характерными чертами Северного Каспия являются полная конвекция вод на небольших глубинах, а также высокое соотношение площади речного бассейна и морской акватории. По рельефу дна Северный Каспий представляет собой плоскую равнину с многочисленными островами, террасами, косами и берегами.

Северный Каспий характеризуется образованием зимнего ледостава, значительными непостоянными колебаниями уровня моря на фоне сгонно-нагонных ветров, небольшим количеством теплозапаса и переменным режимом солености. [Хрусталева, 1978; Лобковский, 2005]. Каспий является солоноватоводным водоемом. Солевой режим северной части Каспийского моря определяется влиянием пресного стока рек и водообменом со средней частью моря. Соленость Северного Каспия подвержена изменениям состава от гидрокарбонатно-кальциевого, который присущ волжской воде, до хлоридно-натриевого, основополагающего для вод средней части Каспийского моря [Современный и перспективный водный и солевой баланс южных морей СССР, 1972; Дегтярева, 2017]. Соленость воды в западной части Северного Каспия составляет 6,60-8,68‰ в зоне глубин до 13 м. и 11,43-11,98‰ в приглубой приграничной зоне со Средним Каспием [Катунин, 2014]. Мелководная акватория находится под значительным влиянием речного стока и значительно опреснена. Разность солености в поверхностном и придонном горизонтах незначительна.

Сезонные температурные колебания воды в северной части моря выражены более резко, чем в остальных частях. Наибольшее поступление тепла на акваторию западной части Северного Каспия приходится на май-июнь. В целом, в Северном Каспии отрицательный тепловой бюджет, поскольку расход тепла почти вдвое превышает его приход [Потайчук, 1992]. Сезонное изменение прогрева воды за период апрель-июнь составляет $+11,2^{\circ}\text{C}$, за период июнь-август – $+2,8^{\circ}\text{C}$, а за период август-октябрь – $-10,9^{\circ}\text{C}$. Среднемесячная температура воды в западной части Северного Каспия в апреле-мае составляет $9,8 - 15,7^{\circ}\text{C}$, в июне-августе – $21,4 - 24,4^{\circ}\text{C}$, в сентябре-октябре – $12,9 - 19,9^{\circ}\text{C}$ [Катунин, 2014]. Зимой акватория северной части Каспийского моря замерзает, толщина льда изменяется в пределах 25-30 см и может достигать 60 см [Косарев, 1975, Потайчук, 1992]. В мелководной части моря прогрев воды от поверхности до дна равномерный во все сезоны, в районе свала глубин имеют место сезонные и суточные термоклины [Лобковский, 2005; Бухарин, 2008].

Течения в северной части Каспийского моря имеют непостоянный и достаточно сложный режим [Хрусталеv, 1978]. Горизонтальная динамика морской воды определяется доминированием центральной циклонической циркуляции на большей части акватории, и формированием отдельных локальных циркуляций. Интенсивность вертикальной циркуляции зависит от многолетних флуктуаций температурного и солевого режимов, определяющихся речным стоком. В поверхностном слое моря массовое развитие фотосинтеза определяет перенасыщение воды кислородом [Лобковский, 2005]. В придонном горизонте наблюдается формирование дефицитного кислородного режима на фоне стратификации и потребления кислорода на разложение органических веществ. Дефицит кислорода отмечают в районах заиления с повышенными скоплениями органического вещества [Хрусталеv, 1978; Дегтярева, 2013].

Воды северной части Каспийского моря характеризуются высокими концентрациями биогенов, быстрым их рециклингом и значительной биологической продуктивностью [Максимова, 2004]. Важнейшим поставщиком основных биогенных элементов является сток пресноводных рек, в первую очередь реки Волга [Федосов, 1957; Пахомова, 1970, Биологическая продуктивность Каспийского моря, 1974; Катунин, 1999; Катунин, 2014]. Зоны максимального насыщения биогенами формируются в районе влияния именно волжского стока. Воздействие волжских вод на акваторию северной части Каспийского моря определяет повышенное содержание биогенов не только за счёт их привнесения, но и посредством активизации продукционных процессов у фито- и бактериопланктона, выявленной при смешении вод различного происхождения [Агатова, 2005]. Имеются данные о поступлении биогенов с ионным подземным стоком [Салманов, 1999], активизацией подводных грязевых вулканов [Химия океана, 1979]. На рубеже веков в северной части Каспийского моря регистрировали усиление эвтрофикации, которая способствовала ускорению образования органических соединений [Салманов, 1999; Zonn 2010]. Повышение эвтрофикации моря запустило процесс изменения видового состава гидробионтов, что привело к разрушению сложившихся трофических связей, а также повлияло

на некоторые составляющие физических и химических характеристик воды, что в совокупности определило превалирование деструкционных процессов [Salmanov, 1998; Салманов, 1999].

1.2 История изучения микробиоты Северного Каспия

Изучением бактериальной составляющей биоценозов воды и грунта северной части Каспийского моря, в том числе определением общей численности и биомассы микроорганизмов в воде и донных отложениях, установлением численности эвтрофов и нефтедеструкторов, занимались ряд исследователей на протяжении XX – XXI веков [Буткевич, 1938; Осницкая, 1953; Осницкая, 1959; Жукова, 1955; Крисс, 1956; Новожилова, 1958; Цыбань, 1977; Сокольский, 1987; Салманов, 1999; Умербаева, 2003; Leonov, 2004; Korshenko, 2005; Куликова, 2005; Соколова, 2012].

Первопроходцем в микробиологических исследованиях на акватории Северного Каспия был В.С. Буткевич [1938]. Согласно его исследованиям, ОЧБ в воде увеличивалась по мере приближения к морскому краю дельты Волги до 1,7 млн. кл./мл.

В 50-х годах исследование микробиоты Северного Каспия проводили ряд ученых [Осницкая, 1953; Осницкая, 1959; Жукова, 1955; Крисс, 1956]. По данным Л.К. Осницкой, ОЧБ в воде изменялась в пределах от 0,1 до 2,5 млн кл./мл, максимальные концентрации бактериопланктона были отмечены в преддельтовом районе моря.

Исследования, проведенные в первой половине XX века, показали высокие концентрации микроорганизмов в воде и донных отложениях в районах перемешивания пресных и соленых вод [Буткевич, 1939; Жукова, 1955; Осницкая, 1956]. Концентрация бактерий в северной части Каспийского моря сокращалась с удалением от зоны непосредственной адвекции волжских вод и приближалась к численности, свойственной глубоководным зонам моря [Крисс, 1959].

В период после введения в эксплуатацию некоторых плотин Волжско-Камского каскада исследования сезонного распределения ОЧБ и биомассы бактерий в морской воде, количественного и качественного состава разнообразных микроорганизмов проводились М.И. Новожиловой [1958]. Автор установила главенствующую роль в развитии северокаспийского бактериопланктона величины растворенного органического вещества.

А.В. Цыбань [1977] проводила исследования в области определения численности, биомассы бактерионейстона и бактериопланктона северной части Каспийского моря. Так, поверхностная пленка воды являлась более благоприятным местом обитания бактерий, что отражалось в более высокой численности и скорости размножения бактерионейстона по сравнению с бактериопланктоном. Морская пена как эконоша для микроорганизмов также обладала благоприятными факторами, стимулирующими рост бактериальной массы [Цыбань, 1971].

Научные изыскания А.Ф. Сокольского [1987] в 1982-1984 гг. показали, что наиболее массовое развитие водного микробного сообщества в северной части Каспийского моря отмечено в летний период. Максимальной бактериальной численностью характеризовались западная (до 4,36 млн. кл./мл) и центральная (до 3,34 млн. кл./мл) части акватории.

В период 1968–1988 гг. произошел рост численности бактериального населения в поверхностном горизонте вод северной части Каспийского моря, что являлось последствием эвтрофикации антропогенного генезиса [Салманов, 1999]. В весенний период в районе непосредственной адвекции пресных вод отмечены сезонные максимумы (до 5,5 млн. кл./мл). Рост ОЧБ отмечали также летом и осенью [Салманов, 1999]. Согласно данным автора, на развитие бактериопланктона и бактериобентоса в северной части Каспийского моря преобладающее влияние оказывала концентрация в воде растворенной органики, в то время как количество биогенных элементов имело меньшее влияние на микробное сообщество моря.

Исследования, проведенные Куликовой И.Ю. [2005] в Северном Каспии, показали, что численность сапротрофов в весенние периоды 2000–2001 гг. составляла 7,1–16,44 тыс. кл./мл, в осенние периоды – 4,9–7,5 тыс. кл./мл. Концентрация олиготрофного бактериопланктона в весенние периоды находилась на уровне 3,5–5,6 тыс. кл./мл, в осенние – 1,3–2,3 тыс. кл./мл. Количество углеводородокисляющих бактерий варьировало от 3,8 до 10,5 тыс. кл./мл весной и от 2,5 до 8,2 тыс. кл./мл осенью. Куликовой И.Ю. [2005] также были изучены корреляционные связи между численностью различных групп бактерий и содержанием в воде Северного Каспия нефтяных углеводородов. Так, корреляционный анализ показал, что нефтяные углеводороды не входили в число факторов, влияющих на численность гетеротрофных бактерий [Куликова, 2005]

Исследования бактериальных сообществ воды северной части Каспийского моря показали, что сезонные распределения бактериальных агентов в разных районах моря отличались неравномерностью [Умербаева, 2003]. ОЧБ в воде северной части Каспийского моря изменяется в пределах 10^5 – 10^6 кл в 1 мл. Концентрация ОЧБ составляла весной 0,35–3,52 млн. кл./мл, летом 0,32–0,65 млн. кл./мл, осенью 0,33–0,96 млн. кл./мл.

Согласно данным экологического мониторинга на лицензионном участке «Северный» ООО «Лукойл-Нижневожскнефть» в период с 1998 по 2006 гг. численность сапрофитных бактерий в грунте составляла 10^3 – 10^6 кл./г, нефтеокисляющих – 10^1 – 10^6 кл./г.

По данным Соколовой В.В. [2012], в 2010 г. численность сапротрофных бактерий в воде Северного Каспия составляла 43,4–50,8 тыс. КОЕ/мл, осенью – 16,7–23,2 тыс. КОЕ/мл. Концентрация УОБ в водах Северного Каспия в 2010 г. регистрировали на уровне 19,0–24,5 тыс. КОЕ/мл летом и 12,5–18,0 тыс. КОЕ/мл осенью. В.В. Соколова [2012] считает, что углеводородокисляющие бактерии составляли 4,4–11,5% общей численности микробиоты Северного Каспия. Ассимиляционный потенциал Северного Каспия по отношению к нефтяному загрязнению, определенный по скорости микробной деградации нефтяных углеводородов, составляет 25–45 тонн нефтепродуктов на 1 км^2 в сутки [Соколова,

2011]. Ассимиляционная емкость Северного Каспия по отношению к нефтяному загрязнению, рассчитанная с использованием балансового метода составляет 0,01–0,001 тонн нефтепродуктов на 1 км² в сутки, что в среднем в 10 000 раз меньше ассимиляционного потенциала.

По данным Володиной В.В. [2016] в период 2010–2014 гг. концентрация сапротрофных бактерий в воде северо-западной части Каспийского моря в летние периоды составляла 1,5–48,4 тыс. КОЕ/мл, в осенние – 1,83–42,5 тыс. КОЕ/мл.

Видовой состав бактериального населения Каспийского моря также изучен многими учеными [Цыбань, 1971; Цыбань, 1979; Израэль, 1989; Mehdi, 2012; Ларцева, 2020]. Согласно данным Лисицкой И.А. [2008] в накопительных культурах воды Северного Каспия наиболее часто регистрировали бактерии родов *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Flavobacterium*, *Photobacterium*, *Plesiomonas*, *Proteus*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Morganella*, *Moraxella*, *Lusibacterium*, *Serratia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Yersinia*. По данным Hassanshahian [2012] среди углеводородокисляющих бактерий регистрировали бактерии *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Gordonia*, *Rhodococcus*, *Cobetia*, *Halomonas*, *Alcanivorax*, *Marinobacter*, *Microbacterium*. Результаты, полученные Соколовой В.В. [2012], показали, что разнообразие углеводородокисляющих бактерий включало представителей родов *Nocardia*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Serratia*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*.

Исследования патогенных свойств в виде факторов патогенности и антибиотикорезистентности сапротрофных и условно-патогенных морских бактерий проводили как в Волго-Каспийском регионе [Лисицкая, 2008; Ларцева, 2011; Ларцева, 2015; Обухова, 2015; Ларцева, 2020], так и в других морях [Моисеенко, 1988; Мамонтов, 2002; Журавлев, 2015; Ким, 2022]. Приспособления к изменяющимся условиям обитания бактерий на фоне длительного антропогенного прессинга могут сопровождаться развитием у микроорганизмов свойств, потенциально опасных для гидробионтов и человека [Secades, 2001]. При

определении возможности инициировать патологический процесс имеют значения следующие факторы патогенности: наличие ферментов протеаз, лецитиназ, гемолизина и ДНК-аз [Поздеев, 2010; Анганова, 2014; Обухова, 2014; Широбоков, 2015]. Известно, что бактерии обладают способностью к трансляции ответственных за синтез факторов патогенности генов от патогенных к не патогенным видам [Herbert, 2004; Бухарин, 2005], что может быть еще одним критерием антропогенного воздействия. Автохтонные морские микроорганизмы в большинстве случаев резистентны ко многим токсинам и лимитирующим рост веществам, в том числе антибиотикам других бактерий естественных экосистем, поэтому в экосистемах, свободных от антропогенного влияния, в норме присутствуют микроорганизмы, обладающие антибиотикорезистентностью, однако их доля невелика [Егоров, 2004; Верховина, 2011]. Загрязнение водных объектов антимикробными препаратами происходит со сточными водами промышленного, коммунально-бытового и иного характера [Мамонтова, 2002; Верховина, 2011; Журавлёв, 2015; Обухова, 2018]. В зоне поступления сточных вод развиваются резистентные формы бактерий, в том числе и за счет накопления и распространения плазмид, содержащих гены антибиотикорезистентности и устойчивости к тяжелым металлам [Alonso, 2001; Егоров, 2004; Иванов, 2007; Tenover, 2006; Яковлев, 2007]. Поэтому антибиотикорезистентность морских бактерий может использоваться как один из критериев антропогенной нагрузки на акваторию моря.

1.3 Углевороороокисляющие бактерии Северного Каспия как перспективные объекты биоремедиации морской среды

В современном мире значимость нефти для разных отраслей промышленности не подвергаются сомнению. При этом именно нефть относится к наиболее опасным и распространенным поллютантам в биосфере. Нефтяные углеороороды обладают высокой биологической активностью и являются одними

из наиболее опасных загрязняющих веществ, долгосрочное влияние которых дестабилизирует и без того хрупкое равновесие различных экосистем [Шкидченко, 2002; Давыдова, 2004; Абдурахманов, 2005; Бутаев, 2005; Сулова, 2007; Бузолева, 2008; Куликова, 2008; Исакова, 2009; Щука, 2015; Юницына, 2016; Бузолева, 2017].

В настоящее время все еще имеют место быть несовершенные способы добычи, транспортировки, переработки и хранения нефти и нефтепродуктов, которые приводят к их значительным потерям [Бузолева, 2012]. При современных объемах добычи в мире потери нефти насчитывают 50 млн т/год [Ильина, 2002].

В настоящее время активно разрабатываются месторождения нефти, находящиеся в морях и океанах. Это приводит к тому, что акватория в местах добычи и транспортировки нефти сильно загрязнена. Аварийные разливы нефти настолько загрязняют водоем и прибрежную зону, что это приводит к экологическим катастрофам [Репина, 2009; Anderson, 2014].

В настоящий момент во время аварийных разливов нефти используют комплекс мер, включающих механические, физико-химические и микробиологические методы очистки морской акватории [Хлесткин, 1999; Каменщиков, 2003; Магеррамов, 2011; Осипова, 2015; Патин, 2017].

Наиболее перспективным методом очистки акватории от нефти является биологический, основанный на привнесении в загрязненную среду высокоактивных штаммов бактерий, способных к деструкции поллютанта [Коронелли, 1982; Петрикевич, 2003; Жуков, 2007]. Для осуществления данного метода наиболее важным является скрининг и изучение нефтеокисляющих бактерий, а также изучение аспектов их промышленного производства и безопасного применения в окружающей среде [Миронов, 2000; Патин, 2017; Мязин, 2022; Балданова, 2022].

Экологическая значимость различных микроорганизмов, способных деструктировать нефтяные углеводороды различных классов, огромна ввиду практически полной невозможности высших многоклеточных организмов осуществлять деструкцию и интоксикацию соединений нефти [ZoBell, 1973;

Bruns, 1993; Maki, 2001; Abdel-Mawgoud, 2009; Murzin, 2010; Safary, 2010]. В экосистеме, подверженной значительному и хроническому загрязнению нефтяными углеводородами, развиваются характерные сообщества гетеротрофных микроорганизмов, способных к полному окислению углеводородов или их трансформации в нетоксичные вещества [Миронов, 1985; Коронелли, 1993].

Среди углеводородокисляющих бактерий чаще всего встречаются представители родов *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Azotobacter*, *Alkaligenes*, *Mycobacterium*, дрожжи рода *Candida*, нитевидные актиномицеты рода *Streptomyces*, грибы, относящихся к родам *Aspergillus* и *Penicillium* и другие микромицеты [Коронелли, 1994; Коронелли, 1996; Миронов, 2002; Рахимова, 2004; Гоголева, 2012; Соколова, 2012].

Согласно литературным данным все углеводородокисляющие бактерии по способу усвоения поллютанта клеткой условно подразделяют на «микроорганизмы прямого контакта» и «микроорганизмы-эмульгаторы» [Ron, 2001; Волченко, 2006; Rismani, 2006]. Микроорганизмы прямого контакта вовлекают нефтяные углеводороды во внутриклеточное пространство за счет гидрофобной поверхности клетки с помощью инертной диффузии. Микроорганизмы-эмульгаторы, не содержащие в клеточной оболочке достаточного количества гидрофобных компонентов, выделяют в окружающую среду биологические поверхностно-активные вещества (биоПАВ) или биосурфактанты, которые эмульгируют нефтяные углеводороды, делая их доступными дальнейшего усвоения клеткой [Klekner, 1993; Van Dyke, 1993; Miller, 1995; Banat, 1995; Desai, 1997; Benerjee, 1998; Маргаритова, 2000; Елисеев, 2001; Назина, 2003; Christofi, 2002; Makkar, 2002; Пирог, 2004; Sifour, 2005; Куюкина, 2006; Волченко, 2006; Safari, 2010; Anyanwu, 2011; Hassanshahian, 2012; Mnif, 2015; Zhou, 2015; Bezza, 2017].

Гидрофобность является одним из значимых свойств бактериальной клеточной стенки, поскольку находится в основании биологических процессов, связанных с образованием биопленок, прикреплением бактериальных клеток к

твердым поверхностям, в том числе и к тканям организма-хозяина. Помимо прочего, именно гидрофобность клеточных стенок бактерий способствует вовлечению в спектр питания сложных гидрофобных субстратов [Яскович, 1995; Rosenberg, 2013]. Поверхностные характеристики клеток бактерий меняются в зависимости от изменения факторов среды обитания или условий культивирования, в частности значительное воздействие на характер проявления гидрофобных свойств оказывают возраст культуры, уровень аэрации, температура культивирования [Яскович, 1996]. Показатель гидрофобности клеточной стенки бактерий, определяющий наличие гидрофобных и гидрофильных компонентов в поверхностных слоях их оболочки, является важной физико-химической характеристикой, которая позволяет оценивать состояние микроорганизмов в ходе оптимизации условия культивирования, при оценке возраста популяции клеток, при определении продолжительности культивирования [Серебрякова, 2002].

Биосурфактанты являются важными соединениями, синтезируемыми бактериальными клетками. Данные соединения играют важную роль в поглощении клетками сложных гидрофобных веществ, а также определяют способность бактерий к прикреплению клеток к различным поверхностям и к образованию биологических пленок [Klekner, 1993; Nassanshahian, 2012].

Углеводородокисляющие бактерии способны усваивать практически весь ряд нефтяных углеводородов, включая самые тяжелые и токсичные соединения, однако скорость деградации и необходимые условия в значительной степени варьируют [Cassani, 1991; Ijah, 2003; Dash, 2013]. Наиболее тяжелые нефтяные фракции обладают минимальной биодоступностью для бактерий, что определяется невысокой способностью данных фракций к эмульгации наряду с меньшей площадью поверхности в определенном объеме. Наиболее легко подвергаются деструкции алканы с малой и средней длиной углеродной цепи (C_6 – C_{16}). Парафины обладают высокой биодоступностью, поскольку ароматические углеводороды являются наиболее предпочтительными источниками углерода и энергии для усвоения бактериями [Миронов, 2002].

Штаммы-деструкторы нефтяных углеводородов, выделенные из вод Каспийского моря, отнесены к родам *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Pseudobacterium*, *Chromobacterium* [Эфендиева, 1979; Джусупова, 2005; Струппуль, 2009]. Известно, что некоторые микроорганизмы шельфовых вод Северного Каспия способны к активной деструкции нефти и моторного масла, обладают эмульгирующей и парафинокисляющей активностью [Гриднева, 2010].

Из шельфовых вод Северного Каспия выделен бактериальный штамм *Phyllobacterium myrsinacearum*. В лабораторных условиях при применении штамма в качестве деструктора нефтяных углеводородов очистка от нефтепродуктов составляла 54,5–96% [Куликова, 2006].

Разнообразие нефтеокисляющих микроорганизмов, способных к синтезу биосурфактантов, дополняли бактерии родов *Bacillus*, *Serratia* и *Rhodococcus* [Соколова, 2012]. Помимо свойств нефтедеструкции и синтеза биоПАВ, данные представители продуцировали липолитические, амилолитические и протеолитические ферменты. Из них наибольшей активностью обладал штамм - нефтедеструктор *Serratia grimesii* [Соколова, 2012].

1.4 Роль бактериальных сообществ в системе мониторинга морской среды

В процессах естественного очищения воды, а также формирования качественного состояния экосистемы участвует вся биота моря. При этом в основании естественного самоочищения находятся микробные сообщества водоемов, поскольку из всех живых организмов морской экосистемы только микробиота обладает способностью деструктировать все имеющиеся органические вещества, как естественного происхождения, так и поллютанты, поступающие в результате антропогенного воздействия на среду [Sherr, 2001; Леонов, 2004; Ильинский, 2016]. В микробиоте каждой конкретной среды обитания, в том числе и в морской экосистеме, основную роль редуцентов органического вещества и деструкции различных ксенобиотиков исполняют автохтонные гетеротрофные бактериопланктон и бактериобентос, которые

первыми включаются в процессы биоремедиации среды [Church, 2008]. Помимо реализации главенствующей задачи самоочищения акватории за счет высокой вариабельности потребляемых субстратов, массовое развитие гетеротрофных бактерий, в частности сапротрофов, потенциально ухудшает санитарно-эпидемиологический статус моря, поскольку среди сапротрофных бактерий нередко регистрируют условно-патогенные микроорганизмы, способные инициировать патологические изменения вплоть до развития заболеваний у человека и гидробионтов [Elmir, 2008; Ларцева, 2015; Обухова, 2018]. Высокая устойчивость данных микроорганизмов к влиянию многообразных факторов среды обитания наряду со способностью к длительному пребыванию в микроэкосистеме моря с сохранением патогенных и вирулентных качеств может спровоцировать развитие очага сапронозных инфекций [Бухарин, 2008; Анганова, 2014].

Важность микробиологических методов в системе комплексного экологического мониторинга водной среды не вызывает сомнений. На данный момент не существует единого методологического подхода, позволяющего обнаружить все микроорганизмы, присутствующие в воде [Bonadonna, 2019]. Среди используемых микробиологических методик можно выделить методы, основанные на культивировании различных групп микроорганизмов [Lewis, 2021; Jung, 2021; Rodrigues, 2022], и независимые от культивирования методы [Hagstrom, 2002; Rappe, 2003; Sogin, 2006; Campbella, 2011; Mirsa, 2019].

В последние десятилетия микробиологические методы, независимые от культивирования, привлекли значительный интерес из-за их быстроты, точности, способности количественно обнаруживать как культивируемые, так и некультивируемые микроорганизмы [Косолапов, 2001; Berman, 2001; Романова, 2011; Miller, 2019]. Так, для определения общей численности бактерий в воде используют методы прямого счета с использованием световой [ГОСТ 17.1.2.04-77, 2000] или люминесцентной микроскопии [Bratbak, 1993, Volter, 2002]. В совокупности с данным методом часто применяют определение численности бактериальных клеток с активным метаболизмом с использованием солей

тетразолия [Giorgio, 1995; Sherr, 1999; Hauer, 2006; Акулова, 2014; Мошарова, 2017], которое позволяет определить состояния бактериопланктона и его способности к трансформации и минерализации органического вещества.

Для идентификации видового состава используют методы, основанные на масс-спектрометрии с матричной лазерной десорбцией и ионизацией (МАЛДИ). Эта система позволяет идентифицировать бактерии как на видовом, так и на подвидовом уровне [Anhalt, 1975; Baar, 2000; Fenselau, 2007; Демидов, 2013]. Большой вклад в изучение разнообразия бактерий внесли методы, основанные на ПЦР амплификации и секвенировании последовательностей генов 16S рРНК [Sorensen, 2006; Teske, 2008; Schleper, 2007], и метагеномика, которая предполагает анализ “суммарной” ДНК исследуемого сообщества [Riesenfeld, 2004; Handelsman, 2004; Шестаков, 2011; Scholz, 2012; Равин, 2015].

Микробиологические методы, основанные на культивировании бактерий на твердых или жидких средах с различной степенью селективности, применяют для подсчета различных групп гетеротрофной микробиоты, выделения индикаторных микроорганизмов, и изучения физиолого-биохимических свойств бактерий [Израэль, 1989; Миронов, 2002; Shibata, 2004; Курапов, 2006; Перетрухина, 2011; Sanz-Sáez, 2020]. Данные методы, как правило, просты в применении, стандартизированы и отражены в нормативных документах [Методические указания..., 1999; ГОСТ 17.1.2.04-77, 2000; МУК 4.2.1890-04, 2004; МУК 4.2.1884-04, 2005; ГОСТ ISO 6222-2018, 2020; МУК 4.2.3695-21, 2021], что является определяющим для применения их в рамках производственного экологического мониторинга морской среды. Выделенные на твердых и жидких питательных средах чистые культуры позволяют определить многие физиолого-биохимические свойства морских бактерий, в том числе и факторы, определяющие их патогенность и антибиотикорезистентность, что может служить свидетельством антропогенного воздействия на акваторию [Wu, 2019]. Подсчет численности культивируемых сапротрофных и олиготрофных бактерий в совокупности с измерением ОЧБ [Методические указания..., 1999; ГОСТ 17.1.2.04-77, 2000; МУК 4.2.1884-04, 2005; Перетрухина, 2011; Rodrigues, 2022]

способствует определению трофности исследуемого водоема и оценке качества воды, что играет весомую роль в производственном экологическом мониторинге моря.

Таким образом, на основании проведенного анализа теоретических источников, следует отметить, что направления хозяйственного использования акватории Каспийского моря определяют актуальность ежегодных комплексных исследований состояния окружающей среды, включающих контроль численности и соотношения различных групп микроорганизмов (ОЧБ, сапротрофов, олиготрофов, УОБ), их видового состава и физиолого-биохимических свойств для оценки состояния микрэкосистемы и своевременного реагирования на происходящие изменения, а постоянная угроза аварийных разливов нефти на акватории Северного Каспия определяет актуальность поиска новых штаммов-нефтедеструкторов, эффективных и безопасных для использования в биоремедиации этой уникальной акватории.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Объекты исследований

Исследования проводили в весенний, летний и осенний периоды 2013–2018 гг. в Северном Каспии во время экспедиций, проводимых Волжско-Каспийским филиалом ФГБНУ «ВНИРО» («КаспНИРХ») (рисунок 2.1).

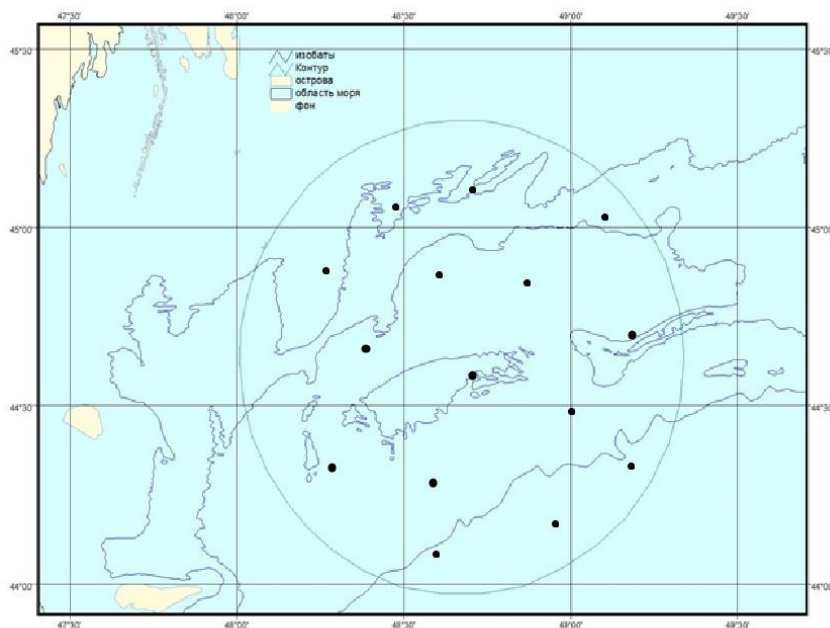


Рисунок 2.1 – Район отбора проб

Объектом исследования являлись вода поверхностного и придонного горизонтов, донные отложения, накопительные культуры на полужидкой среде Клодницкого для сапротрофов и на жидкой среде Теппера с добавлением нефти в качестве единственного источника углерода для УОБ, а также штамм углеводородокисляющих бактерий, выделенный из воды северной части Каспийского моря, перспективный для дальнейшего использования его для биоремедиации морской среды от нефтяного загрязнения. Пробы воды отбирали согласно ГОСТ 31942–2012 [2013], пробы донных отложений – ГОСТ 17.4.4.04–2017 [2018]. Материалом исследований служили 540 проб воды и донных

отложений и более 2000 выделенных изолятов культивируемых гетеротрофных бактерий. В совокупности было проведено более 90000 анализов.

2.2. Методы исследований

2.2.1 Определение общей численности бактерий, численности культивируемых гетеротрофных бактерий и ассимиляционного потенциала воды

Для определения общей численности бактерий в морской воде использовали метод мембранной фильтрации с последующим окрашиванием карболовым раствором эритрозина [ГОСТ 17.1.2.04-77, 2000; Дагурова, 2019]. 100 мл морской воды фильтровали через мембранный фильтр МФАС–ОС–2 с размером пор 0,22 мкм. После фильтр подвергали окраске карболовым эритрозином и определяли численность бактериальных клеток в 20 полях зрения микроскопа, имеющего окуляр-микрометр. Расчет ОЧБ (М) в 1 мл осуществляли согласно формуле [Нетрусов, 2005]:

$$M = \frac{aF \cdot 10^6}{sV} \quad (1)$$

где a – среднее количество бактерий в одном квадрате окулярной сетки или в поле зрения;

F – площадь мембранного фильтра, мм²;

10^6 – переводной коэффициент квадратных миллиметров в квадратные микрометры;

s – площадь квадрата окулярной сетки или поля зрения, мкм²;

V – объем профильтрованной жидкости, мл.

Численность культивируемых гетеротрофных бактерий определяли методом предельных разведений с последующим их высевом на твердые питательные

среды [Методические указания..., 1999; МУК 4.2.1884-04, 2005; Бузолева, 2012; Колотова, 2017; Makhdoumi, 2018; ГОСТ ISO 6222-2018, 2020; Rodrigues, 2022]. Для подсчета численности сапротрофных бактерий использовали Питательный агар (Nutrient agar M001, производство HiMedia) следующего состава (г/л): пептический перевар животной ткани – 5,0; натрия хлорид – 5,0; мясной экстракт – 1,5; дрожжевой экстракт – 1,5; агар-агар – 15,0. Для подсчета численности углеводородокисляющих бактерий использовали среду состава (г/л): нитрат калия – 4,0; калий фосфорнокислый однозамещенный – 0,6; натрий фосфорнокислый однозамещенный – 0,6; натрий фосфорнокислый однозамещенный 12-ти водный – 2,1; магний сернокислый 7-ми водный – 1,2; нефть – 10,0; агар-агар – 15,0 [Теппер, 2004]. Для подсчета численности олиготрофных бактерий использовали Питательный агар (Nutrient agar M001, производство HiMedia), разбавленный в 10 раз [Перетрухина, 2011; Литвинова, 2011; Теканова, 2015]. Результаты количественного учета микроорганизмов часто выражали в условных единицах – так называемых колониеобразующих единицах (КОЕ).

Колонии микроорганизмов в зависимости от скорости роста подсчитывали через 2-15 суток инкубации. Количество КОЕ в 1 мл или КОЕ в 1 г определяли по формуле [Егоров, 1995]:

$$M = a \cdot 10^n / V, \quad (2)$$

где M - количество клеток в 1 мл/г;

a - среднее число колоний при высевах разведения, из которого сделан высев;

V - объем суспензии, взятый для посева, в мл;

n – коэффициент разведений.

Для определения ассимиляционного потенциала водной массы северной части Каспийского моря применяли величину бактериальной деструкции нефтяных углеводородов, основанную на концентрации УОБ в воде. С.Е. ZoBell [1973] было установлено, что в потребление нефтяных углеводородов одной

бактерией составляет $3,76 \times 10^{-8}$ (мг \times кл $^{-1}$ \times сут) углеводорода (УВ) в сутки [Рубцова, 2003]. Исходя из показателей численности УОБ в воде (N, кл/мл) и величины, рассчитанной С.Е. ZoBell на одну клетку, определяли величину бактериальной биодеградации углеводородов (Б, г УВ/м 3 \times сутки) [Рубцова, 2003]:

$$B = N \times K, \quad (3)$$

где Б – величина бактериальной биодеградации нефтяных углеводородов (мг УВ/мл \times сутки 1×10^3 г УВ/м 3 \times сут);

N – численность УОБ (КОЕ/мл);

K – количество УВ, потребляемых одной бактерией ($3,76 \times 10^{-8}$ мг/кл \times сутки).

Для статистической обработки данных использовали общепринятые статистические показатели, рассчитанные в программном пакете Microsoft Excel.

2.2.2 Методы выделения и идентификации чистых культур бактерий и определения их свойств. Оценка биоразнообразия сапротрофного и углеводородокисляющего бактериопланктона и бактериобентоса

Поскольку в условиях экспедиционных исследований определение биоразнообразия микробиоты невозможно в силу ограниченных возможностей судовой лаборатории, для выделения сапротрофных и углеводородокисляющих бактерий из воды и грунта Северного Каспия производилась постановка накопительных культур на полужидкой среде Клодницкого [Обухова, 2015] и жидкой среде состава (г/л): нитрат калия – 4,0; калий фосфорнокислый однозамещенный – 0,6; натрий фосфорнокислый однозамещенный – 0,6; натрий фосфорнокислый однозамещенный 12-ти водный – 2,1; магний сернокислый 7-ми водный – 1,2; нефть – 10,0 [Теппер, 2004]. Накопительные культуры сапротрофных бактерий получали путем добавления 1 мл морской воды или 1 г донных отложений к 5 мл полужидкой среды Клодницкого. Культивирование

проводили при температуре +28 °С в течение 15-30 суток в зависимости от сроков экспедиционных исследований. Накопительные культуры УОБ получали путем добавления 5 мл морской воды или 5 г грунта в колбу объемом, содержащую 100 мл среды Теппера и 1 г стерильной нефти. Культивирование производили при температуре +28 °С в течение 30 суток.

В лаборатории чистые культуры бактерий выделяли путем пересева на Питательный агар (Nutrient agar M001, производство HiMedia) (для сапротрофов) и минеральную агаризированную среду Теппера с нефтью (для УОБ). Контроль чистоты культуры осуществляли по морфологическим и культуральным признакам. Для определения видовой принадлежности отмечали основные свойства бактерий: подвижность, синтез оксидазы, каталазная активность, окисление и ферментация глюкозы, образование ацетилметилкарбинола, индола, сероводорода, газа из глюкозы, способность восстанавливать нитраты в нитриты [Лабинская, 2021]. С помощью пластин биохимических дифференцирующих (ПБДЭ, ПБДС) определяли утилизацию сахаров и некоторых других соединений [Инешина, 2006]. Используемая диагностическая система представляла собой планшет с лунками, содержащими соответствующий субстрат и индикатор. Суспензию микроорганизмов вносили во все ячейки планшета, анаэробные условия создавали стерильным вазелиновым маслом. При положительном результате наблюдали изменение исходного цвета субстратов по сравнению с контролем [Лабинская, 2021].

Выделенные культуры бактерий тестировали на способность к синтезу ферментов: протеаза, гемолизин, лецитиназа, ДНК-аза.

Протеолитическую активность изучали по способности разрушать казеин, используя стандартный агар с казеинатом следующего состава, г/л: гидролизат казеина – 5,00, дрожжевой экстракт – 2,50, глюкоза – 1,00, натрия казеинат – 10,00, натрия цитрат – 4,41, кальция хлорид – 2,22, агар-агар – 15,00. Для определения протеолитической активности агар, разлитый и остуженный в чашках Петри, засеивали исследуемой культурой бактерий. Через 24-48 ч инкубации производили оценку результатов. Культуры, продуцирующие

протеолитический фермент, обуславливали пептонизацию молочного белка – казеина, в результате чего вокруг таких колоний возникали прозрачные зоны [Лабинская, 2021].

Для определения гемолитической активности исследуемую культуру засеивали на твердую среду состава (г/л): настой говяжьего сердца – 50,0; триптоза – 10,0; натрия хлорид – 5,0; агар-агар – 15,0; стерильная дефибрированная кровь – 50,0. Посевы инкубировали при температуре 37 °С в течение 24 ч и производили оценку результатов. Гемолизин, выделяемый растущей культурой, диффундировал в толщу агара и вызывал лизис эритроцитов, что проявлялось в виде светлой зоны вокруг колоний [Лабинская, 2021].

Лецитиназную активность определяли на яично-желточном агаре следующего состава, г/л: пептический перевар животной ткани - 1,0; дрожжевой экстракт - 0,5; феноловый красный - 0,2; агар-агар - 18,0; эмульсия яичного белка – 100,0 г. Результат оценивали по наличию зоны просветления вокруг колоний [Лабинская, 2021].

Дезоксирибонуклеазную активность у бактерий определяли на среде DNaseTestAgar следующего состава, г/л: гидролизат казеина – 15,0; папаиновый перевар соевой муки – 5,0; дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) – 2,0; натрия хлорид – 5,0; агар-агар – 15,0. Культуру засеивали штрихом и инкубировали при 35–37 °С 18–24 часа, после культивации чашку обмывали 5,0–7,0 мл HCl в течение 7-10 минут, затем кислоту сливали. Вокруг бактерий, синтезировавших ДНК-азу, отмечали зону просветления [Лабинская, 2021].

Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам проводили диско-диффузным методом [МУК 4.2.1890-04, 2004; Сидоренко, 2014]. Питательный агар (Nutrient agar M001, производство HiMedia) разливали в чашки слоем 4 мм. Суточную культуру микроорганизмов засеивали на поверхность среды сплошным газоном. Стерильным пинцетом на поверхность засеянной среды размещали диски, пропитанные антибиотиком, и слегка придавливали их. Расстояние между дисками и краем чашки должно быть не менее 15 мм. Посевы термостатировали 18 ч при 37°С в перевернутом положении. Вокруг

чувствительных к антибиотику бактерий отмечали зону угнетения роста. Диаметр зоны измеряли с точностью до 1 мм, определяя чувствительность (высокая, средняя, низкая).

Оценку биоразнообразия бактериальных сообществ осуществляли с помощью индекса Шеннона и индекса Симпсона. Индекс биоразнообразия Шеннона отражал сложность структуры сообщества, основываясь на количественной представленности видов. Для значения индекса Шеннона число таксонов являлось более важным фактором, если таксонов менее 10, а при увеличении числа таксонов возрастала роль выравненности [Шитиков, 2003]. Индекс Шеннона рассчитывали по следующей формуле [Шитиков, 2003]:

$$H = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i, \quad (4)$$

где p_i – относительное обилие i -го таксона;

S – число обнаруженных таксонов.

Индекс Симпсона рассчитывали по формуле [Шитиков, 2003]:

$$D = \sum \left[\frac{n_i(n_i-1)}{N(N-1)} \right], \quad (5)$$

где n_i – число особей в таксоне;

N – общее количество особей.

2.2.3 Определение способности к росту микроорганизмов на средах с различными источниками углерода

Посев микроорганизмов производили штрихом на твердую среду состава (г/л): нитрат калия – 4,0; калий фосфорнокислый однозамещенный – 0,6; натрий фосфорнокислый однозамещенный – 0,6; натрий фосфорнокислый однозамещенный 12-ти водный – 2,1; магний сернокислый 7-ми водный – 1,2;

нефть – 10,0; агар-агар – 15,0 [Теппер, 2004]. Способность вовлекать в метаболизм определенные источники углерода оценивали по следующим критериям: «+++» - обильный рост по штриху, «++» - умеренный рост по штриху, «+» - слабый, прерывистый рост по штриху, «-» - отсутствие роста.

2.2.4 Генетическая идентификация выделенных микроорганизмов

Идентификацию изолята проводили с помощью анализа нуклеотидных последовательностей 16S рРНК в ФГБУН «Институт экологии и генетики микроорганизмов» Уральского отделения Российской академии наук. Матрицей для ПЦР являлась геномная ДНК бактериальной культуры. Амплификацию фрагмента гена 16S рРНК проводили с использованием бактериальных праймеров 27F и 1492R на амплификаторе «MyCycler» («BioRadLaboratories», США).

Филогенетический анализ полученных нуклеотидных последовательностей 16S рРНК проводили с использованием программ CLUSTAL W (<http://www.ebi.ac.uk/clustalw>), MEGA 6.06 (<http://www.megasoftware.net>) и Sequence Scanner v1.0. Поиск гомологичных последовательностей осуществляли при использовании баз данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) и EzBioCloud (<http://www.ezbiocloud.net>).

2.2.5 Определение способности микроорганизмов развиваться в присутствии различных концентраций тяжелых металлов

Посев микроорганизмов производился на жидкую среду Мясо-пептонный бульон (состав (г/л): мясной экстракт – 10,0; пептон сухой ферментативный – 10,0; натрий хлористый – 5,0), содержащую тяжелые металлы медь, кобальт, цинк, никель, свинец и олово в количестве 30 и 60 мг/л (в пересчете на ион). Способность к росту оценивалась по следующей шкале [Безвербная, 2005]: «+++» - рост во всей толще пробирки, «+» - рост в виде пленки, «-» - отсутствие роста.

2.2.6 Определение эмульгирующей активности и оценка гидрофобных свойств микроорганизмов

Для выявления способности выделенных бактерий к синтезу биосурфактантов определяли методом Купера по индексу эмульгации [Cooper, 1987].

Инокулят бактерий выращивали в пробирках с Питательным агаром (Nutrient agar M001, производство HiMedia) в течение 1 суток при 28 °С. Биомассу смывали специализированной средой (г/л): K_2HPO_4 – 7,0; KH_2PO_4 – 3,0; $CaCl_2$ (1%; мл) – 1,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,1; $(NH_4)_2SO_4$ – 1,0; $FeSO_4$ – 0,5; $ZnSO_4$ – 0,5; $MnSO_4$ – 0,5; H_2SO_4 (0,1 N, мл) – 10 мл, глюкоза – 1% от объема. Полученную суспензию инкубировали в течение 24 ч. Далее 4 мл культуральной жидкости центрифугировали при 6000 об/мин в течение 15 мин. Способность к эмульгации определяли методом добавления к надосадочной жидкости, лишенной бактериальных клеток, равного объема углеводорода (керосина, бензина, дизельного топлива) с последующим интенсивным встряхиванием в течение 10 мин. Индекс эмульгации рассчитывали измерением соотношения высоты эмульсионного слоя к общей высоте жидкости. Расчет проводили через 2 часа и через сутки и выражали в процентах [Cooper, 1987].

Оценку гидрофобных свойств бактериальных клеток проводили методом количественного определения гидрофобности поверхности клеток разработанным, М. Розенбергом в модификации Е.В. Серебряковой [Серебрякова, 2002].

Бактерии выращивали при температуре 28°С на Питательном агаре (Nutrient agar M001, производство HiMedia) в течение 48 ч. Выращенную культуру суспендировали в растворе 0,85%-ного хлористого натрия в деионизированной воде (рН 7,0). Конечная концентрация клеток в пробе соответствовала значению оптической плотности микробной суспензии 0,5-0,6 единиц оптической

плотности (E^0) при длине волны проходящего света 540 нм, рабочем объеме кюветы 5 см³ и длине оптического пути кюветы 10 мм.

В качестве углеводородной фазы использовали хлороформ, плотность которого в 1,489 раз превышала плотность воды, и в системе «физиологический раствор-хлороформ» последний располагался в нижнем слое.

В пробирку диаметром 10 мм добавляли микробную суспензию и хлороформ в соотношении 5:1. Смесь встряхивали в течение 1 мин, затем отстаивали в течение 4 мин, позволяя хлороформу опуститься на дно пробирки. После этого водную фазу с суспендированными в ней клетками осторожно отделяли пипеткой, не нарушая границы раздела фаз, и переносили в оптическую кювету для измерений.

Коэффициент поглощения света определяли на колориметре фотоэлектрический концентрационный КФК. Уменьшение коэффициента поглощения водной фазы использовали как меру гидрофобности поверхности клеток. Показатель гидрофобности (ПГ) микробных клеток выражали в процентах и рассчитывали по формуле [Серебрякова, 2002]:

$$\text{ПГ} = 100 - \left(\frac{E \cdot 100}{E^0} \right), \quad (6)$$

где E^0 – оптическая плотность исходной микробной суспензии;

E – оптическая плотность суспензии после взаимодействия клеток с хлороформом и расслоения эмульсии при отстаивании.

В каждой серии опытов выполняли 4–6 независимых определений, представлены средние арифметические значения с вероятностью 0,95%.

2.2.7 Определение деструкции нефти и отдельных ее фракций бактериями

Гравиметрический метод определения нефтепродуктов. В колбы, содержащие 50 мл стерильной морской воды, засеивали 1 мл суспензии

исследуемых микроорганизмов численностью $1,23 \pm 0,12$ млрд кл./мл и добавляли 1% стерильной нефти. Контрольная проба не содержала микроорганизмов. Колбы культивировали на качалке в течение 60 минут с последующей экспозицией в течение 7, 15, 30 суток. Титр суспензии определяли методом предельных разведений.

По окончании культивирования оставшуюся нефть экстрагировали хлороформом. Хлороформ и культуральную жидкость разделяли на делительной воронке, высушивали сульфатом натрия, отгоняли растворитель на водяной бане (75–80 °С). Полученные остатки нефти помещали в сушильный шкаф и при температуре 80–85 °С высушивали до постоянной массы. После охлаждения пробы взвешивали с точностью до 0,001 г. Полученные данные о массе оставшейся нефти в опытных и контрольных пробах использовали для определения степени бактериальной деградации нефти по формуле [Другов, 2000]:

$$БУ = (M_k - M_o) / M_k \cdot 100\%, \quad (7)$$

где M_k – масса нефти в исходной (контрольной) пробе;

M_o – масса остатка нефти в опытной пробе.

Определение массовой концентрации нефтепродуктов и жиров (при их совместном присутствии) методом ИК-спектрофотометрии с применением концентратометров серии КН. Для ИК-спектрометрии использовали концентратомер КН-2 [ПНД Ф 14.1:2:4.273-2012, 2012]. Микроорганизмы культивировали на минеральной среде состава (г/л): нитрат калия – 4,0; калий фосфорнокислый однозамещенный – 0,6; натрий фосфорнокислый однозамещенный – 0,6; натрий фосфорнокислый однозамещенный 12-ти водный – 2,1; магний сернокислый 7-ми водный – 1,2; нефть – 10,0 [Теппер, 2004]. Масса добавленной нефти измеряли с точностью до 0,0001 г. После культивирования инокулят переносили в колбу с притертой пробкой и доводили объем до 1,0 л

бидистиллированной водой. Для избегания потери нефтяных углеводородов емкость, содержащую инокулят, тщательно ополаскивали 2 мл CCl_4 , который в последующем переносили в разбавленную пробу. Пробу подкисляли 1 мл концентрированной серной кислоты и фиксировали 2 мл CCl_4 .

Подготовку к работе, установку исходных значений и контроль работоспособности концентратомера серии КН осуществляли в соответствии с руководством по эксплуатации и ПНД Ф 14.1:2:4.273-2012 [2012].

Пробу переносили в делительную воронку экстрактора ЭЛ-1, добавляли 40 г NaCl из расчета на 1 л пробы. Емкость, содержащую пробу, обмывали 6 мл CCl_4 и выливали его в делительную воронку. Экстрагировали пробу не менее 5 минут при скорости вращения 2500 об./мин. По окончании экстракции пробу отстаивали 10–15 минут для расслоения гидрофобной и гидрофильной фаз. После расслоения нижний слой (экстракт) сливали в колбу. Повторную экстракцию пробы проводили с новой порцией CCl_4 объемом 10 мл. Полученные экстракты смешивали.

Экстракт сушили безводным сульфатом натрия (не менее 4 г) в течение 10 минут. После осушения экстракт переносили в чистый стакан и делили на две равные доли (экстракт №1 и экстракт №2).

Экстракт №1 заливали в кювету и измеряли суммарную массу концентрации нефтепродуктов и жиров. Для определения исключительно массы нефтепродуктов в подготовленную хроматографическую колонку наливали 3 мл CCl_4 для смачивания, после чего пропускали экстракт №2. Первые 3 мл элюата отбрасывали, а оставшуюся часть сливали в чистый стакан и использовали для измерения массовой концентрации нефтепродуктов.

Определение концентрации нефтепродуктов и жиров в холостой пробе выполняли одновременно с анализом серии проб.

Массовую концентрацию экстрагированных веществ нефтепродуктов и жиров, мг/л, в анализируемой пробе воды рассчитывали по формуле [ПНД Ф 14.1:2:4.273-2012, 2012]:

$$X_{(нп+ж)} = \frac{X_{(нп+ж)изм} \cdot V_{ЭК} \cdot K_p}{V_{пр}} - X_{(нп+ж)хол}, \quad (8)$$

где $X_{(нп+ж)изм}$ - результат измерения суммарной массовой концентрации нефтепродуктов и жиров в экстракте на концентратомере, мг/л;

$V_{ЭК}$ – объем CCl_4 , использованного для проведения экстракции;

K_p – коэффициент разбавления, т.е. соотношение объемов мерной колбы и аликвоты экстракта (учитывается при разбавлении);

$V_{пр}$ – объем анализируемой пробы воды, мл;

$X_{(нп+ж)хол}$ – результат измерения массовой концентрации нефтепродуктов и жиров в холостой пробе, мг/л.

Массовую концентрацию нефтепродуктов, $X_{(нп)}$ мг/л, в анализируемой пробе воды рассчитывали по формуле [ПНД Ф 14.1:2:4.273-2012, 2012]:

$$X_{(нп)} = \frac{X_{(нп)изм} \cdot V_{ЭК} \cdot K_p}{V_{пр}} - X_{(нп)хол}, \quad (9)$$

где $X_{(нп)изм}$ – результат измерения массовой концентрации нефтепродуктов в элюате на концентратомере, мг/л;

$V_{ЭК}$ – объем CCl_4 , использованного для проведения экстракции;

K_p – коэффициент разбавления;

$V_{пр}$ – объем анализируемой пробы воды, мл;

$X_{(нп)хол}$ - результат измерения массовой концентрации нефтепродуктов в холостой пробе, мг/л.

Массовую концентрацию жиров $X_{(ж)}$ мг/л, жиров в анализируемой пробе воды рассчитывали по формуле [ПНД Ф 14.1:2:4.273-2012, 2012]:

$$X_{(ж)} = X_{(нп+ж)} - X_{(нп)}, \quad (10)$$

где $X_{(нп+ж)}$ – массовая концентрация экстрагированных веществ (нефтепродукты + жиры), рассчитанная по формуле (1), мг/л;

$X_{(нп)}$ – массовая концентрация нефтепродуктов, мг/л.

Определение массовой концентрации нефтепродуктов в пробах на анализаторе жидкости «Флюорат-02». Для определения массовой концентрации нефтепродуктов в пробах использовали анализатор жидкости «Флюорат-02-3М» [ПНД Ф 14.1:2:4.128-98, 2012]. Микроорганизмы культивировали на минеральной среде состава (г/л): нитрат калия – 4,0; калий фосфорнокислый однозамещенный – 0,6; натрий фосфорнокислый однозамещенный – 0,6; натрий фосфорнокислый однозамещенный 12-ти водный – 2,1; магний сернокислый 7-ми водный – 1,2; нефть – 10,0 [Теппер, 2004]. Массу добавленной нефти измеряли с точностью до 0,0001 г. После культивирования инокулят переносили в колбу с притертой пробкой и доводили объем до 0,1 дм³ бидистиллированной водой. Для избежания потери нефтяных углеводородов емкость, содержащую инокулят, тщательно ополаскивали 2 см³ гексана, который в последующем переносили в разбавленную пробу.

Пробу помещали в делительную воронку объемом 250 мл. Сосуд, содержащий пробу, ополаскивали 8 мл гексана и выливали его в делительную воронку. Смесь интенсивно встряхивали в течение 1 мин, отстаивали до появления прозрачного верхнего слоя. Верхний слой переносили в кювету и измеряли концентрацию нефтепродуктов на приборе "Флюорат-02" согласно ПНД Ф 14.1:2:4.128-98 [2012].

Концентрацию нефтепродуктов в пробе воды вычисляли по формуле [ПНД Ф 14.1:2:4.128-98, 2012]:

$$X_{np} = \frac{X_{изм} \cdot V_2 \cdot K_1}{V_{np}}, \quad (11)$$

где: X_{np} – концентрация нефтепродуктов в пробе воды, мг/дм³;

$X_{изм}$ – концентрация нефтепродуктов в растворе гексана, мг/дм³;

V_2 – объем гексана, взятый для экстракции, см³;

V_{np} – объем пробы, см³;

K_1 – разбавление экстракта, т.е. соотношение объемов мерной колбы и аликвотной порции экстракта. Если экстракт не разбавляют, то $K_1 = 1$.

Определение концентрации нефтепродуктов в пробах методом газовой хроматографии. Определение концентрации нефтепродуктов осуществляли методом газовой хроматографии согласно ГОСТ 31953-2012 [2013]. Бактериальный изолят культивировали на минеральной среде состава (г/л): нитрат калия – 4,0; калий фосфорнокислый однозамещенный – 0,6; натрий фосфорнокислый однозамещенный – 0,6; натрий фосфорнокислый однозамещенный 12-ти водный – 2,1; магний сернокислый 7-ми водный – 1,2; нефть – 10,0 [Теппер, 2004]. Массу добавленной нефти измеряли с точностью до 0,0001 г. После культивирования инокулят переносили в колбу с притертой пробкой и доводили объем до 0,5 л бидистиллированной водой. Для избегания потери нефтяных углеводородов емкость, содержащую инокулят, тщательно ополаскивали 2 мл экстрагента, который в последующем переносили в разбавленную пробу. Пробу подкисляли 1 мл концентрированной серной кислоты и фиксировали 2 мл экстрагента.

В емкость с пробой добавляли (45±5) г сульфата магния из расчета на 0,5 л. Пробу интенсивно перемешивали мешалкой экстрактора в течение 20 мин, после чего эмульсию отстаивали 5–10 мин для разделения гидрофильной и гидрофобной фаз. Сепарацию пробы проводили в делительной воронке. Собирали не менее 1 мл экстракта. Для удаления полярных соединений полученный экстракт

пропускали через подготовленную колонку с сорбентом (на фильтр Шотта добавляли 2 г оксида алюминия и 2 г сульфата натрия. Полученный элюат использовали для хроматографии.

Проводили хроматографический анализ элюата объемом 2–20 мкл. С помощью компьютерной системы обработки хроматографической информации определяли суммарную площадь пиков углеводородов (нефтепродуктов). Если определяемая концентрация в пробе более 100 мг/л, то проводили разбавление элюата применяемым экстрагентом, регистрируя множитель разбавления K_p , и проводили хроматографический анализ разбавленного элюата. Множитель K_p рассчитывали по формуле [ГОСТ 31953-2012, 2013]:

$$K_p = \frac{V_p}{V_{и}}, \quad (12)$$

где V_p – объем разбавленного элюата, мл;

$V_{и}$ – объем исходного элюата, мл.

Концентрацию нефтепродуктов в исследуемой пробе воды y (мг/л) рассчитывали по формуле [ГОСТ 31953-2012, 2013]:

$$y = \frac{K_p \cdot C \cdot M_p}{M_r \cdot K_k}, \quad (13)$$

где K_p – множитель разбавления элюата;

K_k – множитель концентрирования элюата;

C – измеренная концентрация нефтепродуктов, мг/л ;

M_p – масса исследуемой пробы воды, г;

M_r – масса градуировочного раствора, г.

Массу градуировочного раствора вычисляли по формуле [ГОСТ 31953-2012, 2013]:

$$M_{\Gamma} = V_{\Gamma} \cdot \rho, \quad (14)$$

где V_{Γ} – объем градуировочного раствора, мл;

ρ – плотность раствора, принятая равной плотности воды (1 г/мл).

ГЛАВА 3. ЧИСЛЕННОСТЬ БАКТЕРИОПЛАНКТОНА И БАКТЕРИОБЕНТОСА В ПРИГЛУБОЙ ЗОНЕ ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ СЕВЕРНОГО КАСПИЯ

3.1 Бактериопланктон

Северная часть Каспийского моря захватывает 25% площади всей акватории, при этом малые глубины (в основном до 10 м) определяют крайне низкую емкость водных масс, составляющих около 0,5% общего объема Каспия. Именно мелководность района исследований определяет незначительные различия в численности бактериопланктона по горизонтам, поскольку высокий прогрев в летнее время и достаточный теплозапас в осеннее наряду с практически полным перемешиванием создают подходящие условия для оптимального развития бактерий в поверхностном и придонном горизонтах.

Общая численность бактерий (ОЧБ) в обследованном районе варьировала в пределах 0,29–2,70 млн кл./мл. Минимальные значения ОЧБ отмечали в 2015 г, когда общая численность бактерий в среднем составляла 1,72 и 1,59 млн кл./мл весной, 1,32 и 1,37 млн кл./мл летом, 1,06 и 1,10 млн кл./мл осенью в поверхностном и придонном горизонтах воды, соответственно (Приложение А). Максимальные средние значения ОЧБ в поверхностном и придонном горизонтах воды отмечены весной (2,06 и 2,11 млн кл./мл) и летом 2018 г. (1,62 и 1,64 млн кл./мл) и осенью 2013 г. (1,41 и 1,54млн кл./мл). С увеличением глубины акватории значения ОЧБ снижались, минимумы концентрации ОЧБ ежегодно отмечали в районе Мангышлакского порога. В период исследований ОЧБ ежегодно снижалась от весны к осени. Максимальные показатели в весенний период были обусловлены половодьем, во время которого на акваторию моря поступает большое количество аллохтонной микробиоты (рис.3.1.1).

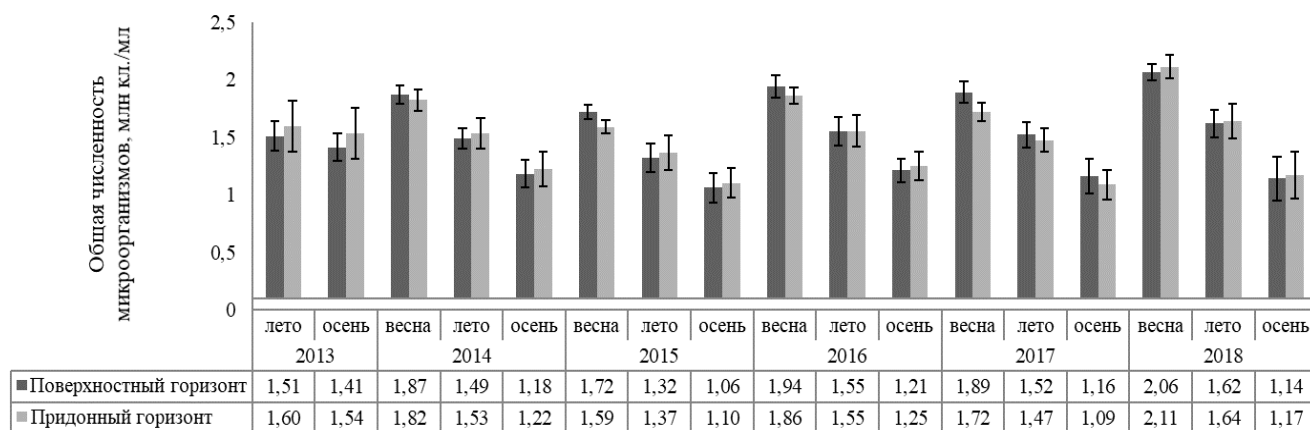


Рисунок 3.1.1 – Динамика общей численности бактерий (средние значения) в воде приглубой зоны западной части Северного Каспия

На протяжении всего периода исследований ежегодно показатели ОЧБ уменьшались от весны к осени. В целом, динамика ОЧБ в воде приглубой зоны западной части Северного Каспия преимущественно определялась водностью, температурой и содержанием биогенных веществ (таблица 3.1.1).

Таблица 3.1.1 – Гидролого-гидрохимические показатели в воде северной части Каспийского моря в вегетационные периоды 2013–2018 гг.

| Показатель | Год исследований | | | | | | Средне-годовое значение |
|--------------------------------------|------------------|--------|--------|----------|--------|--------|-------------------------|
| | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 | |
| Годовой сток, км ³ | 271,30 | 223,30 | 198,50 | 265,00 | 287,90 | 269,40 | 252,57 |
| Температура, °С | 23,45 | 21,97 | 24,55 | 24,50 | 23,62 | 22,30 | 23,40 |
| Содержание фосфора, мкг/л | 22,50 | 17,50 | 23,00 | 35,00 | 27,00 | 32,00 | 26,17 |
| Содержание кремния, мкг/л | 962,50 | 625,00 | 683,50 | 1 120,00 | 156,00 | 373,00 | 653,33 |
| Содержание минерального азота, мкг/л | 121,50 | 86,50 | 46,50 | 76,00 | 59,00 | 36,00 | 70,92 |

Гидролого-гидрохимические показатели воды Северного Каспия (таблица 3.1.1) предоставлены сотрудниками лаборатории водных проблем и токсикологии Волжско-Каспийского филиала ФГБНУ «ВНИРО» («КаспНИРХ») [Серебренникова, 2018; Дьякова, 2021].

В весенний период на ОЧБ преимущественно влиял речной сток и интенсивность половодья, в то время как температурный фактор был незначительным. Так, ежегодно в весенний период прогрев воды был минимальным, а показатели ОЧБ достигали максимума за счет массивного привнесения аллохтонной микробиоты во время половодья. В летне-осенний период температурный режим Северного Каспия оказывал влияние только на сезонное изменение показателей ОЧБ, поскольку температура воды ежегодно снижалась от лета к осени. Отдельно в летние и осенние периоды ОЧБ не зависела от теплового запаса, поскольку температурный режим 25,7–28,1 °С летом и 18,7–26,6 °С осенью соответствовал оптимуму развития большинства бактерий.

В большей степени на развитие ОЧБ оказывали влияние волжский сток ($r=+0,77$) и содержание в воде минерального азота ($r=+0,60$). Воздействие волжских вод на микробиоту северной части Каспийского моря определялось как обеспечением бактериопланктона биогенами и органическими веществами, так и массовым привнесением аллохтонных микроорганизмов, которые совместно с автохтонными бактериями отмечали в составе ОЧБ. Биогенные элементы, основным источником которых являлся речной сток [Катунин, 2014], также оказывали существенное воздействие на развитие бактериопланктона. Наибольшее влияние оказывало наличие минеральных соединений азота, на что указывала высокая корреляция ($r=+0,60$). Влияние концентрации минерального фосфора и кремния на ОЧБ незначительно ($r=+0,25$ и $r=+0,24$, соответственно).

Одной из составляющих бактериопланктона являются культивируемые гетеротрофные бактерии, осуществляющие процесс минерализации органического вещества. В ходе исследований рассматривали основные наиболее значимые группы гетеротрофов: сапротрофы, углеводородокисляющие бактерии (УОБ), олиготрофы. Самой массовой группой среди культивируемых гетеротрофных микроорганизмов являлись сапротрофные бактерии. Количество сапротрофов в воде приглубой зоны западной части Северного Каспия в период исследований изменялось от 0,20 до 210,00 тыс. КОЕ/мл, при этом концентрация

данной физиологической группы уменьшалось по мере увеличения глубины исследуемой части моря. Максимальный разброс численности сапротрофного бактериопланктона отмечали в многоводные годы, особенно в 2013 г. Неравномерное распределение численности сапротрофов в многоводные годы обусловлены влиянием волжского стока на мелководную и приглубую зону Северного Каспия за счет формирования бюджета биогенных веществ [Катунин, 2014], а также разностью содержания в водах взвешенного вещества. Максимум численности сапротрофных бактерий в поверхностном и придонном горизонтах воды отмечен весной 2016 г. (25,6 и 22,30 тыс. КОЕ/мл, соответственно) летом (44,15 и 60,00 тыс. КОЕ/мл, соответственно) и осенью 2013 г. (57,72 и 84,12 тыс. КОЕ/мл, соответственно) (рисунок 3.1.2).

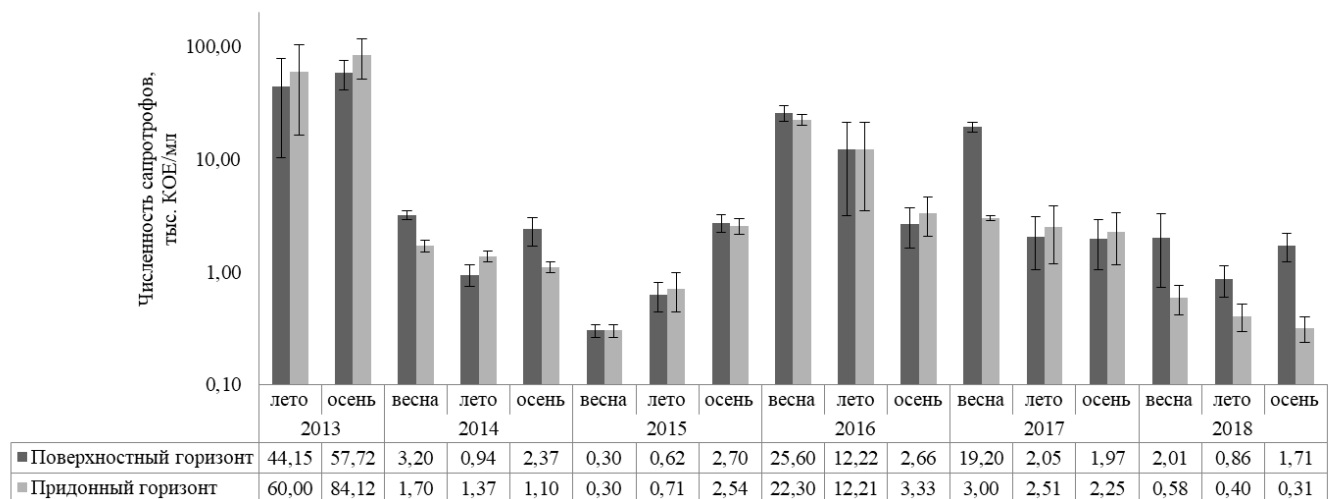


Рисунок 3.1.2 – Динамика численности сапротрофных бактерий (средние значения) в воде приглубой зоны западной части Северного Каспия

Примечательно, что на большей части акватории концентрация сапротрофов не превышала 5,50 тыс. КОЕ/мл. Высокие показатели численности сапротрофов летом 2013 г. обусловлены высокими концентрациями бактерий (до 270,90 тыс. КОЕ/мл) в зоне максимальной адвекции волжских вод (рисунок 3.1.3).

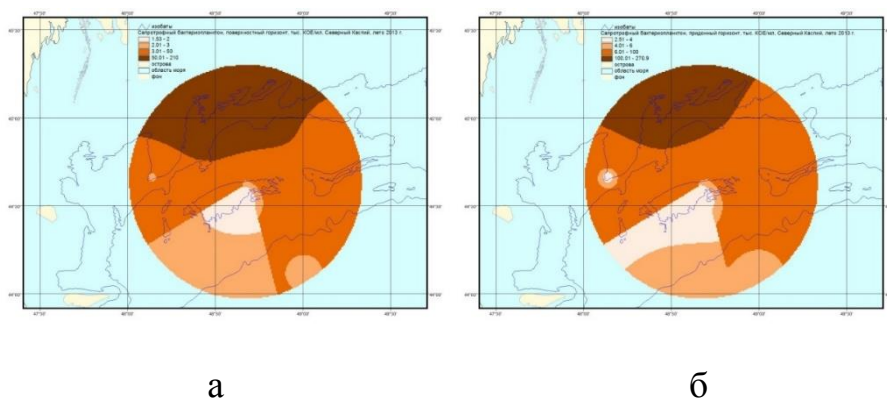


Рисунок 3.1.3 – Распределение сапротрофов в поверхностном (а) и придонном (б) горизонтах воды приглубой зоны западной части Северного Каспия летом 2013 г.

В многоводные годы волжский сток проникает далеко на восток, образуя зоны высокой продуктивности, что непосредственно определяет расположение высоких концентраций бактерий. В осенний период 2013 г. распределение сапротрофов на обследованной акватории стало более равномерным, максимум численности бактерий сместился к центральной части обследованной акватории. (рисунок 3.1.4).

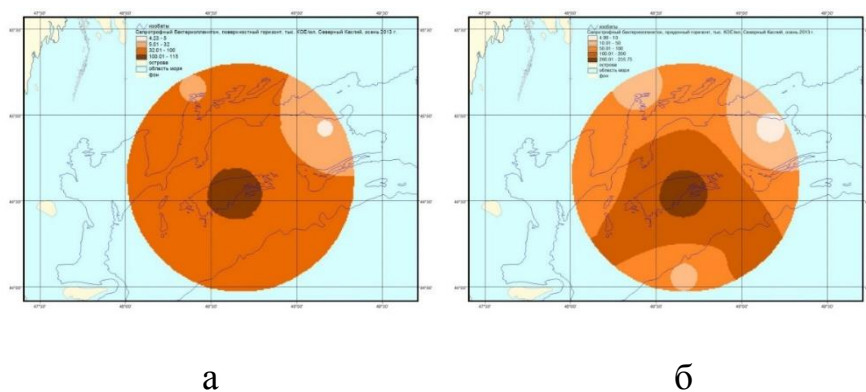


Рисунок 3.1.4 – Распределение сапротрофов в поверхностном (а) и придонном (б) горизонтах воды приглубой зоны западной части Северного Каспия осенью 2013 г.

Перераспределение концентраций бактериопланктона в осенний период обусловлено воздействием комплекса гидролого-гидрохимических факторов, в частности возрастающим в осенний период влиянием среднекаспийских вод, поступающих с востока на запад вдоль Мангышлакского порога [Катунин, 2014].

Выявленный в 2013 г. на акватории скачок численности бактерий носил кратковременный характер, поскольку уже весной 2014 г. численность сапротрофов в данном районе стабилизировалась и на протяжении 2014–2018 гг. не претерпевала серьезных изменений, за исключением весенне-летнего периода 2016 г. и весны 2017 г., когда также регистрировали повышение численности сапротрофного бактериопланктона на фоне высокого волжского стока.

В целом, концентрация сапротрофных бактерий в воде приглубой зоны западной части Северного Каспия зависела от годового стока р. Волги только в весенний период во время половодья ($r=+0,65$), в то время как в летне-осенний период уровень водности (таблица 3.1.1) оказывал намного меньшее влияние на сапротрофный бактериопланктон ($r=+0,38$). В большей степени влияние на сапротрофов оказывало содержание биогенных элементов. Высокая положительная корреляция концентрации сапротрофов отмечена только с минеральными соединениями азота ($r=+0,83$), более слабая – с кремнием ($r=+0,50$). Корреляционная связь сапротрофных бактерий минеральных источников азота закономерна, так как соединения азота выступают лимитирующими элементами для роста и жизнедеятельности бактерий.

Для оценки сапробности водоема использовали данные по общей численности бактерий (ОЧБ), численности сапротрофов, а также их соотношению, которое выражали в виде коэффициента К [ГОСТ 17.1.2.04-77, 2000] (таблица 3.1.2).

Таблица 3.1.2 – Классификация водоемов по ГОСТ 17.1.2.04–77

| Наименование показателей | Чистые воды | | Загрязненные воды | | Грязные воды | |
|---|------------------------|-----------------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------|------------------------|
| | Классы сапробности | | | | | |
| | Ксено-сапробность (кс) | Олиго-сапробность (о) | β - мезо-сапробность (бм) | α - мезо-сапробность (ам) | Поли-сапробность (п) | Гипер-сапробность (гп) |
| Общий счет микроорганизмов, млн. кл/мл | До 0.5 | 0.5 – 1.0 | 1.1 – 3.0 | 3.1 – 5.0 | 5.1 – 10.0 | Более 10 |
| Сапротрофы, тыс. кл/мл | До 0.5 | 0.5 – 5.0 | 5.1 – 10.0 | 10.1 – 50.0 | 50.1 – 100.0 | Более 100 |
| Индекс: (Общий счет / сапротрофы) (Коэффициент К) | Более 10^3 | Более 10^3 | $10^3 - 10^2$ | Менее 10^2 | Менее 10^2 | Менее 10^2 |

В целом, значения ОЧБ в поверхностном и придонном горизонтах воды соответствовали категории загрязненные воды (β -мезо-сапробность). Однако по численности сапротрофов вода исследованной акватории в основном соответствовала категории чистая, за исключением 2013 г., когда зафиксирована самая высокая концентрация сапротрофов и вода относилась к категории «грязная» (полисапробность), весеннего и летнего периодов 2016 г. и весны 2017 г., когда численность сапротрофов соответствовала категории «загрязненная» (β - и α -мезосапробность). Соотношение ОЧБ к сапротрофам, выраженное в виде коэффициента К, варьировало в пределах трех порядков (рисунок 3.1.5).

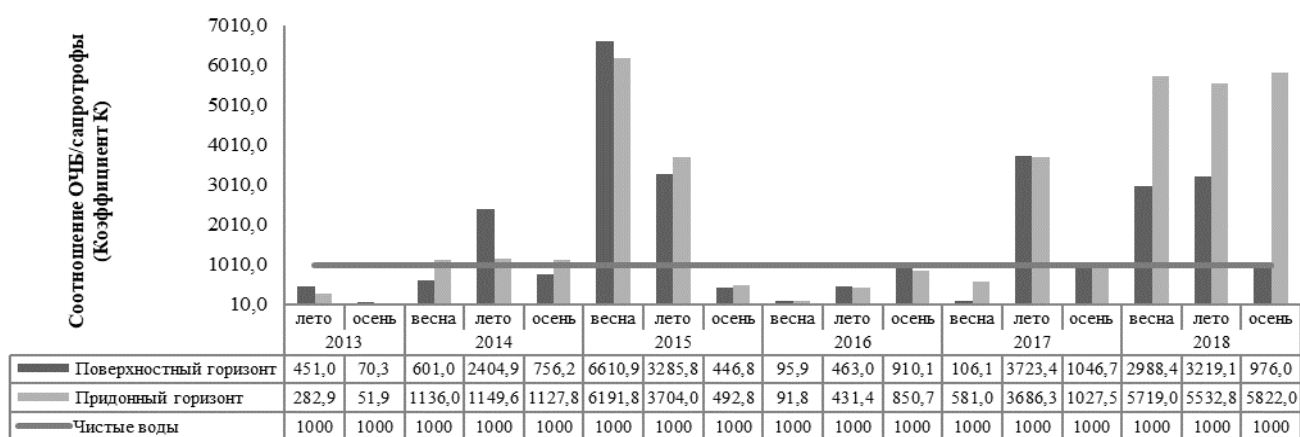


Рисунок 3.1.5 – Соотношение ОЧБ и сапротрофов в воде приглубой зоны западной части Северного Каспия

Так, согласно ГОСТ 17.1.1.04-77, если коэффициент К ниже 100, вода относится к категории «грязная». Значения коэффициента К в пределах 100–1000, определяет качество воды как «загрязненная». Если значения коэффициента К превосходит 1000, вода оценивается как «чистая». Эвтрофирование воды исследованной акватории зарегистрировано в 2013 и 2016 гг., а также весной и осенью 2014 и 2017 гг., осенью 2015 и 2018 гг., когда отмечали увеличение доли сапротрофов в составе ОЧБ, а значения коэффициента К не превышали 1000. В остальное время соотношение ОЧБ и сапротрофов превышало 1000 и соответствовало олиготрофному водоему. Исходя из оценки соотношения ОЧБ и

сапротрофов, категория качества воды в районе исследований варьировала от «грязной» до «чистой».

Принимая во внимание все три показателя (ОЧБ, численность сапротрофов и коэффициент К), вода в приглубой зоне западной части Северного Каспия относилась к категории грязная в 2013 г. (полисапробная), начиная с 2014 г. сапробность воды снизилась до α - и β -мезосапробной, что соответствовало загрязненным водам.

Следующей важной группой культивируемых гетеротрофного бактериопланктона являлись углеводородокисляющие бактерии (УОБ). Численность УОБ в воде приглубой зоны западной части Северного Каспия в течении всего периода исследований была ниже концентрации сапротрофных бактерий. Количество УОБ изменялось от 0,05 до 32,00 тыс. КОЕ/мл.

Максимальная средняя численность УОБ поверхностном и придонном горизонтах воды зарегистрирована весной 2016 г. (12,39 и 10,44 тыс. КОЕ/мл), летом (7,63 и 13,05 тыс. КОЕ/мл) и осенью (7,63 и 11,83 тыс. КОЕ/мл) 2013 г. (рисунок 3.1.6).

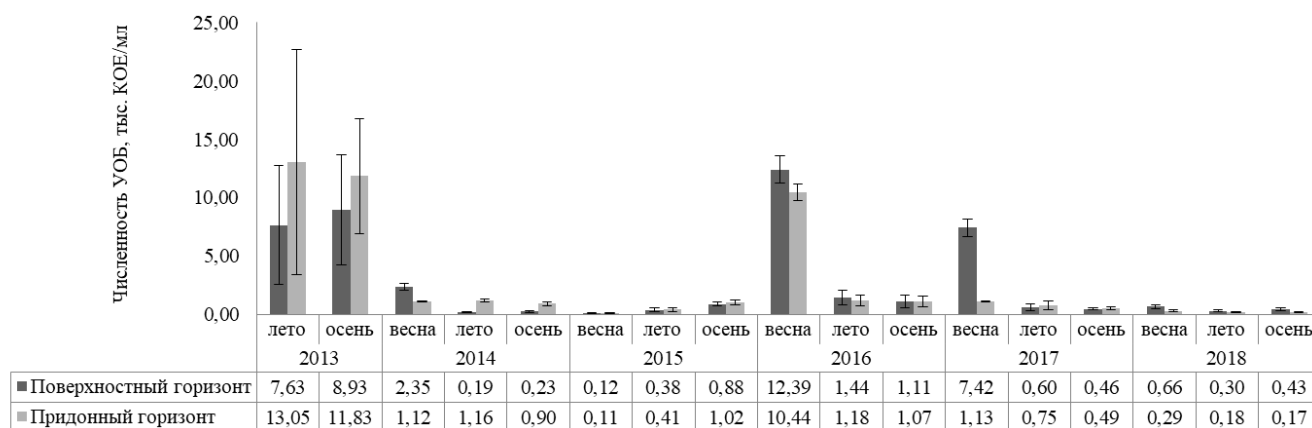


Рисунок 3.1.6 – Динамика численности УОБ (средние значения) в воде приглубой зоны западной части Северного Каспия

Также, как и в случае с сапротрофными бактериями, распределение УОБ было максимально неоднородным с ярко выраженной зональностью в 2013 г. (рисунок 3.1.7).

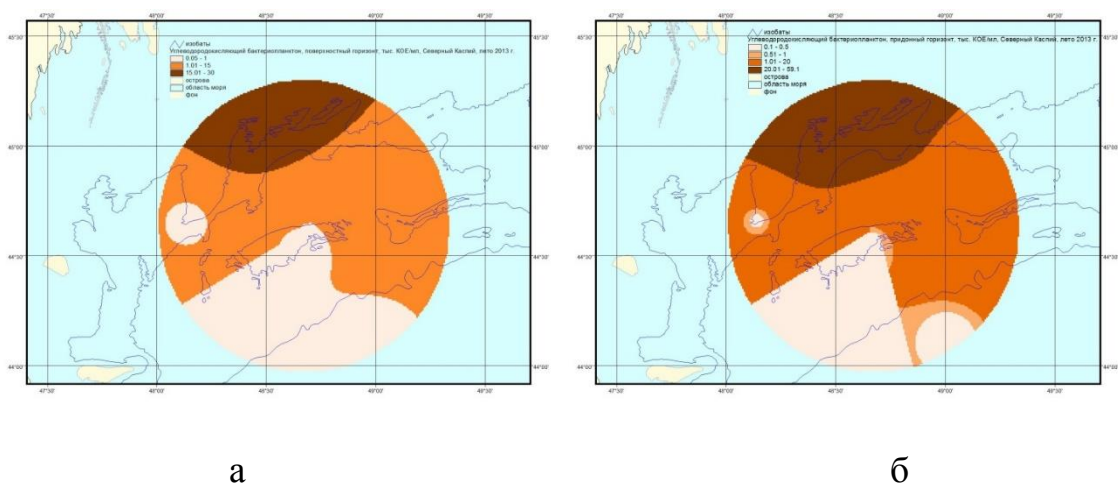


Рисунок 3.1.7 – Распределение УОБ в поверхностном (а) и придонном (б) горизонтах воды приглубой зоны западной части Северного Каспия летом 2013 г.

Поскольку для района исследований характерна тесная корреляция численности сапротрофных бактерий и УОБ ($r=0,99$), значительная неоднородность распределения численности УОБ, отмеченная в многоводные годы, обусловлена особенностями распределения волжского стока и возрастающим влиянием в осенний период среднекаспийских вод, под воздействием которых в осенний период зоны высоких концентраций УОБ сместились в район свала глубин (рисунок 3.1.8).

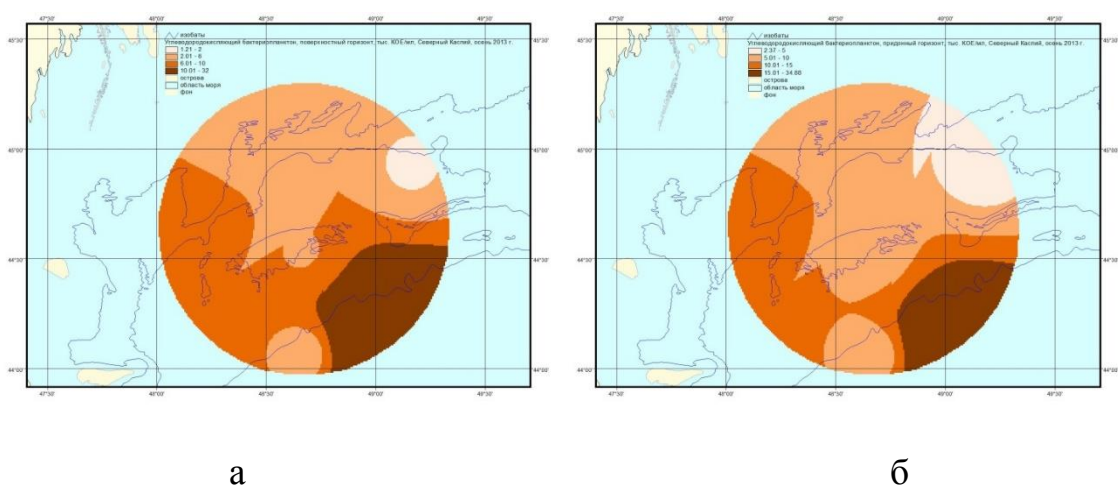


Рисунок 3.1.8 – Распределение УОБ в поверхностном (а) и придонном (б) горизонтах воды приглубой зоны западной части Северного Каспия осенью 2013 г.

Высокие показатели численности УОБ в многоводный 2013 г. носили временный характер, так как уже весной 2014 г. концентрация бактерий снизилась и оставалась достаточно стабильной на протяжении всего периода исследований, за исключением весенних периодов 2016 и 2017 гг., когда отмечали всплеск численности УОБ на фоне обильного половодья. Количество УОБ также во многом зависело от гидрохимических параметров моря и тесно коррелировало с содержанием в воде минерального азота и кремния ($r = +0,81$). Если тесная связь с азотом вполне закономерна и отмечена многими исследователями [Емцев, 2005; Нетрусов, 2015; Еськова, 2016], то корреляция с кремнием представляет интерес. Кремний является важным биогенным элементом для диатомовых водорослей [Стрельникова, 2019]. В последние годы внимание исследователей, работающих в этом направлении, привлекли ассоциации морских растений (водорослей-макрофитов) и нефтеокисляющих бактерий. Показано, что водоросли-макрофиты способны аккумулировать на своей поверхности нефтепродукты, а эпифитные углеводородоокисляющие бактерии, преобразуют нефтепродукты до более простых соединений, и в результате делают их доступными для водорослей [Пуговкин, 2018]. Также известны работы, описывающие ассоциации бактерий, в том числе и рода *Pseudomonas*, и диатомей [Михайлов, 2015]. Обнаруженная корреляция численности УОБ с содержанием кремния в воде могла указывать на развитие симбиотических альго-бактериальных сообществ в водах Северного Каспия.

Расчет ассимиляционного потенциала воды приглубой зоны западной части Северного Каспия показал, что бактериальная деградация нефтяных углеводородов углеводородоокисляющими бактериями варьировала от 0,005 до 0,466 г УВ/м³ в сутки в поверхностном горизонте и от 0,004 до 0,491 г УВ/м³ в сутки в придонном горизонте (рисунок 3.1.9).

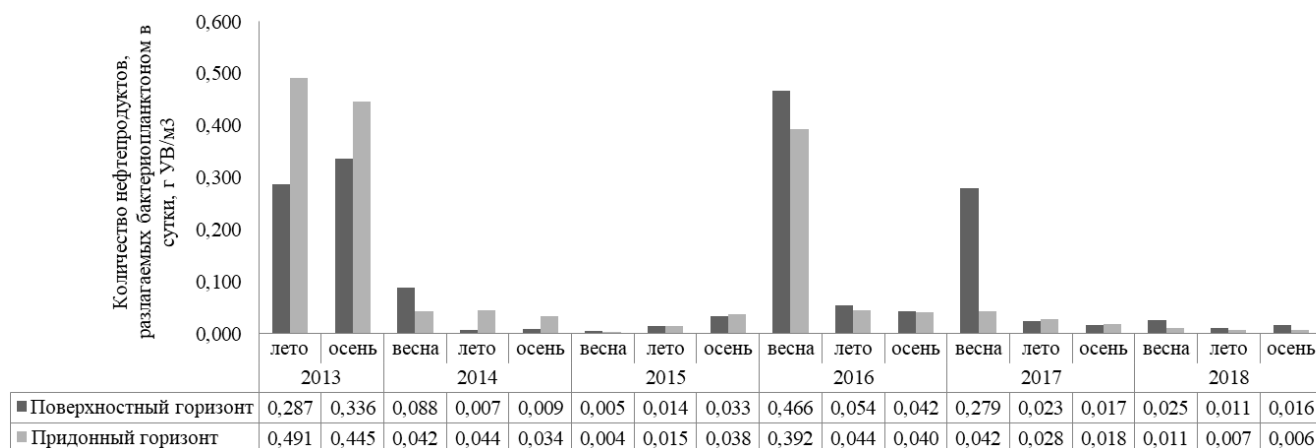


Рисунок 3.1.9 – Бактериальная деградация нефтепродуктов

Исследования показали, что максимальная бактериальная деградация нефтепродуктов (до 0,466 г УВ/м³ в сутки) происходит преимущественно в весенний период, в то время как в летние и осенние периоды показатели бактериальной деструкции в основном сокращались (до 0,004-0,044 г УВ/м³ в сутки). Сезонные показатели ассимиляционного потенциала воды приглубой зоны западной части Северного Каспия по величине бактериальной деградации обусловлены повышенной нагрузкой на микробиоту в весенний период на фоне влияния половодья. Повышение бактериальной деградации нефтепродуктов в весенний период с последующим снижением в летние и осенние периоды указывало на адаптивные возможности бактериальных сообществ исследованной акватории справляться с повышенным содержанием поллютантов, возникающим в период максимальной адвекции волжских вод.

Помимо абсолютных величин численности сапротрофов и УОБ в воде значимым показателем приспособляемости микробиоты к нефтяному загрязнению являлось соотношение концентрации УОБ и сапротрофов, выраженное в виде коэффициента K_u . Согласно данным исследователей [Ильинский, 2000; Перетрухина, 2012], высокие значения соотношения УОБ к сапротрофам указывают на высокую адаптивность микробиоты определенной экосистемы к нефтяным углеводородам.

В период исследований на изучаемой акватории моря значения коэффициента K_u в воде изменялось от 10,08 до 80,95% (рисунок 3.1.10).

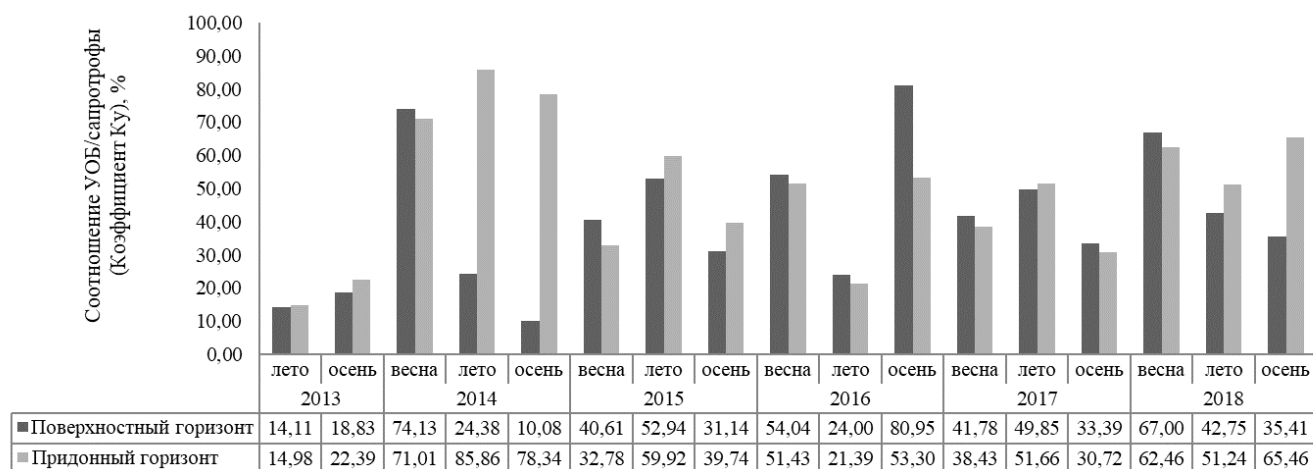


Рис.3.1.10 – Соотношение численности УОБ и сапротрофов в воде приглубой зоны западной части Северного Каспия.

В среднегодовом аспекте в поверхностном и придонном горизонтах воды минимальное соотношение численности УОБ к сапротрофам регистрировали в 2013 г. (среднегодовое значение 16,47%). Весной 2014 г. коэффициент K_u превысил 70% в обоих горизонтах воды, а летом и осенью соотношение УОБ и сапротрофов по горизонтам значительно разнилось. На поверхности коэффициент K_u составлял 10–24%, в придонном слое – до 86%. Начиная с весны 2015 г. соотношение УОБ к сапротрофам по горизонтам выравнивалось, значения показателя ежегодно менялись, однако не опускались ниже 24%. Способность бактерий использовать нефть в качестве единственного источника углерода не свидетельствует непосредственно о наличии нефтяного загрязнения, скорее указывает на лабильность бактерий в отношении различных источников питания. При этом, многие исследователи отмечают, что в водных экосистемах, неподверженных антропогенному воздействию, доля УОБ в сапротрофном бактериопланктоне не превышает 5% [Ильинский, 2000; Акулова, 2014], а на акваториях, испытывающих хроническое нефтяное загрязнение, доля УОБ возрастает до 100%. Преимущественно высокие показатели соотношения УОБ и

сапротрофов в районе исследований указывали на высокую адаптивность культивируемых гетеротрофных бактерий к нефтяным углеводородам и способность вовлекать данные соединения в круговорот углерода, понижая таким образом токсичность поллютанта и обеспечивая самоочищение акватории, что немаловажно ввиду высокого хозяйственного значения Северного Каспия.

Помимо сапротрофных бактерий и УОБ, которые, как и сапротрофы, растут при высоких концентрациях органических веществ, изучали также олиготрофный бактериопланктон. Поскольку в норме содержание растворенного органического вещества невелико, преобладающей группой в гетеротрофном бактериопланктоне являются именно олиготрофы [Ильинский, 2000; Литвинова, 2011; Перетрухина, 2012]. При наличии в среде органического загрязнения олиготрофные бактерии замедляют или прекращают рост, в то время как сапротрофы занимают доминирующее положение. Поэтому соотношение сапротрофов и олиготрофов является критерием трофности водоема [Ильинский, 2000, Литвинова, 2011, Перетрухина, 2012].

Численность олиготрофных микроорганизмов изучали в период с 2016 по 2018 гг. В приглубой зоны западной части Северного Каспия количество олиготрофных бактерий в воде изменялось от 0,13 до 5,00 тыс. КОЕ/мл. Максимум численности олиготрофов регистрировали в 2016 г. и весной 2017 г. Летом 2017 г. отмечали снижение численности олиготрофов в 2-4 раза. Минимальной концентрации в воде олиготрофы достигли в 2018 г. (рисунок 3.1.11)

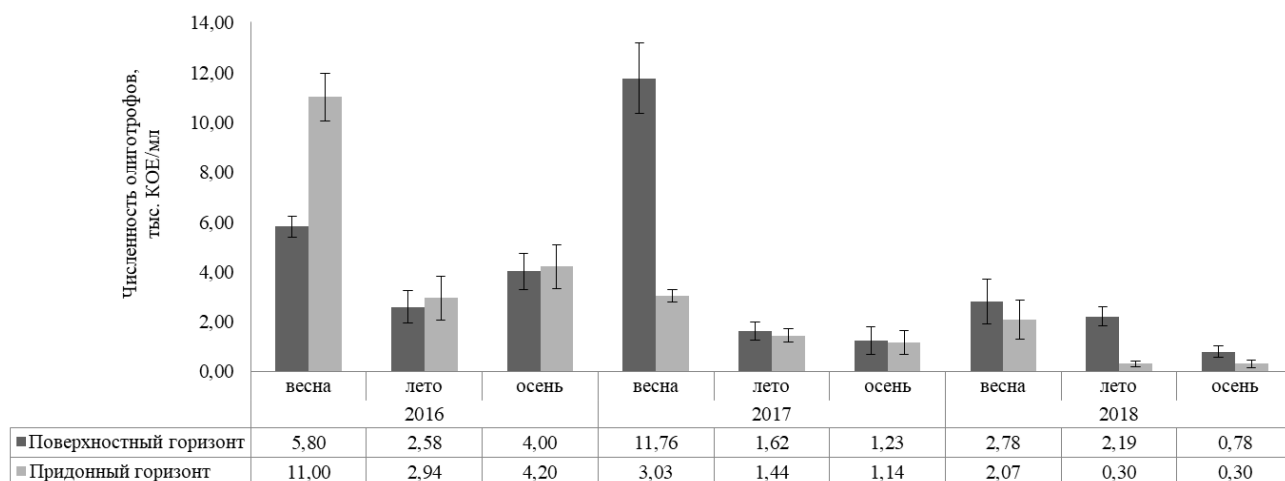


Рисунок 3.1.11 – Динамика численности олиготрофных бактерий (средние значения) в воде приглубой зоны западной части Северного Каспия

Соотношение численности сапротрофов к олиготрофам выражали в виде коэффициента трофности K_t . Чем меньше значение коэффициента, тем благополучнее водная экосистема. Если коэффициент трофности превышает 1, то экосистема испытывает антропогенный прессинг, а концентрация аллохтонного органического вещества и аллохтонных сапротрофных микроорганизмов настолько велик, что подавляет жизнедеятельность естественной олиготрофной микробиоты.

Так, на обследованной акватории среднесезонные значения коэффициента трофности K_t , выраженного соотношением сапротрофов к олиготрофам в большинстве случаев превышали 1. В районе исследований преобладание естественной олиготрофной микробиоты отмечено только осенью 2016 г., весной и летом 2018 г. В остальное время численность сапротрофов превышала олиготрофов в 2–9 раз (рисунок 3.1.12).

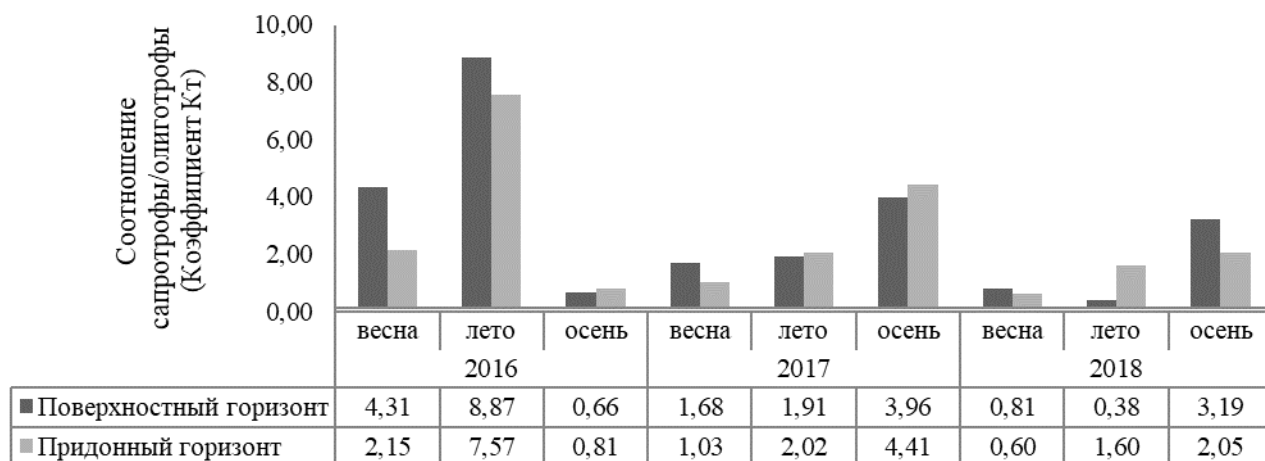


Рис.3.1.12 – Соотношение сапротрофов и олиготрофов (Кт) в воде приглубой зоны западной части Северного Каспия

Высокие показатели соотношения сапротрофов и олиготрофов также подтверждали повышенную трофность акватории наряду с соотношением ОЧБ и сапротрофов, выраженным в виде коэффициента К.

3.2 Бактериобентос

Донные отложения в северной части Каспийского моря отличаются большим разнообразием типов осадков. Именно характер донных отложений является определяющим для концентрации в грунтах органического вещества ($C_{орг}$), которая изменяется от 0,01 до 2,82% [Дегтярева, 2017]. Обычно, илистые грунты характеризуются наибольшим содержанием $C_{орг}$, в то время как бескарбонатные или слабокарбонатные осадки в большей степени обеднены органическим веществом. Именно разнообразие донных осадков в Северном Каспии наряду с кислородным и гидрологическим режимами обуславливает значительный разброс численности бактериобентоса [Умербаева, 2003]. В районе исследований преобладали следующие типы донных отложений: ил, илистый песок, илистый песок с ракушей, песок, песок с ракушей, ракуша.

В донных отложениях изучаемой акватории преобладающей группой в культивируемом гетеротрофном бактериобентосе являлись сапротрофные бактерии, концентрация которых варьировала от 0,72 до 610,00 тыс. КОЕ/г.

Максимум численности сапротрофов зарегистрирован весной 2016 г. (336,00 тыс. КОЕ/г), летом 2013 г. и осенью 2013 г. (149,13 и 220,49 тыс. КОЕ/г) (рисунок 3.2.1).

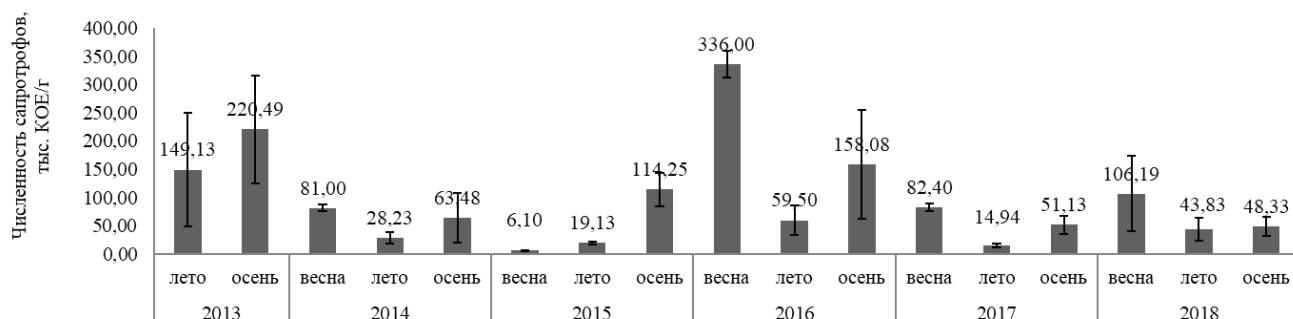


Рисунок 3.2.1 – Динамика численности сапротрофных бактерий (средние значения) в донных отложениях приглубой зоны западной части Северного Каспия

Также, как и в воде, в донных отложениях численность сапротрофов в грунте во многом зависит от уровня водности. Так, летом 2013 г. регистрировали повышение численности сапротрофов в районе максимальной адвекции волжской струи (рисунок 3.2.2).

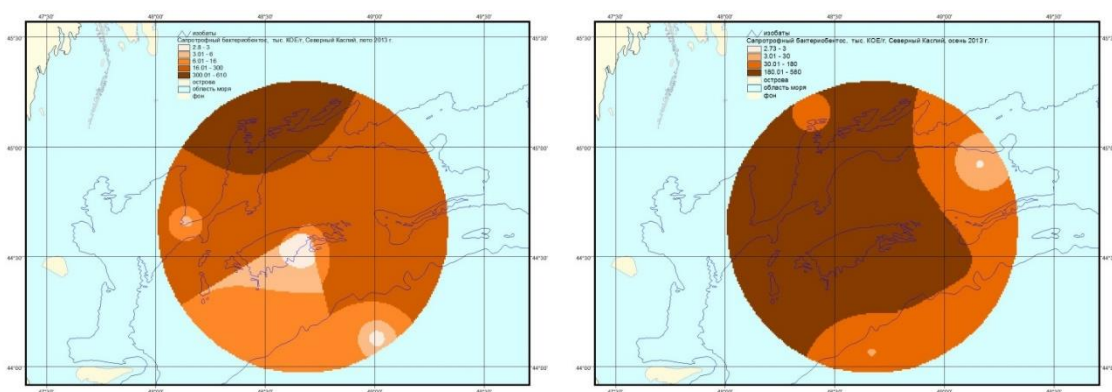


Рисунок 3.2.2 – Распределение сапротрофов в донных отложениях приглубой зоны западной части Северного Каспия летом (а) и осенью (б) 2013 г.

Осенью произошло перераспределение сапротрофов в грунте, на большей части обследованной акватории отмечали высокие показатели численности.

В 2014 г. регистрировали снижение концентрации сапротрофов, однако по-прежнему, отмечали неоднородность распределения бактериобентоса на обследованной акватории, что связано, в основном, с характером донных отложений (ракуша, ил). Ежегодно отмечали циклические колебания количества сапротрофов в составе микробиоты донных отложений, численность сапротрофов достигало максимума в весенние периоды, к лету концентрация бактерий сокращалась, а к осени несколько возрастала. Данные изменения численного состава сапротрофного бактериального бентоса весной связаны с повышением нагрузки на морскую экосистему за счет привнесения множественных аллохтонных компонентов во время половодья. В летние периоды сокращение концентрации бактерий в донных отложениях являлось следствием процесса самоочищения морской среды от аллохтонных бактериальных агентов и органических веществ. Осенью количество бактерий возрастало на фоне осадения образовавшейся за вегетационный период органики и сохранившегося теплозапаса, достаточного для развития мезофильной и эвритермной микробиоты.

Еще одной значимой группой культивируемого гетеротрофного бактериобентоса являются углеводородокисляющие бактерии. Концентрация УОБ в донных отложениях исследованной акватории не превышала численность сапротрофного бактериобентоса на протяжении всего периода исследований. Количество УОБ в донных отложениях варьировало от 0,17 до 102,00 тыс. КОЕ/г (Приложение А).

Максимальная численность УОБ в донных отложениях зарегистрирована весной (73,11 тыс. КОЕ/г) и летом (17,27 тыс. КОЕ/г) 2016 г. и осенью 2013 г. (29,95 тыс. КОЕ/г) (рисунок 3.2.3).

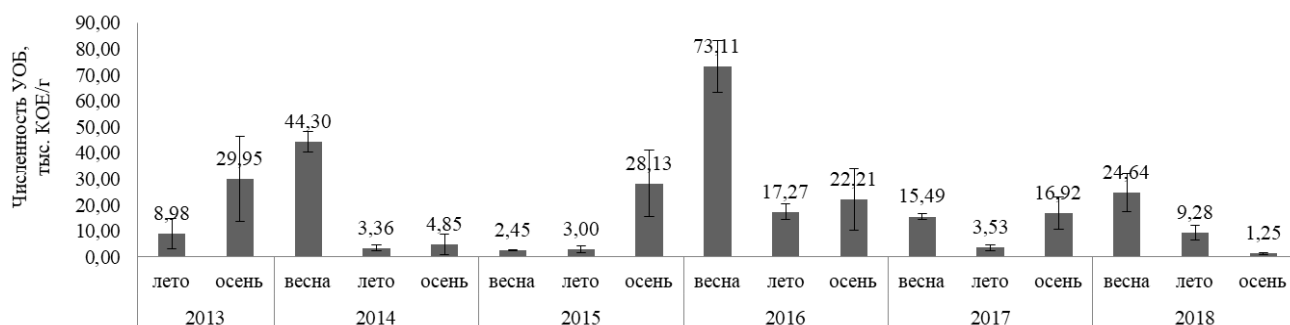


Рисунок 3.2.3 – Динамика численности УОБ (средние значения) в донных отложениях приглубой зоны западной части Северного Каспия

В отличие от сапротрофов, УОБ донных отложений характеризовались сезонной разнонаправленностью, что оказывало значительное влияние значения коэффициента K_u , который изменялся от 6,71 до 57,92% (рисунок 3.2.4)

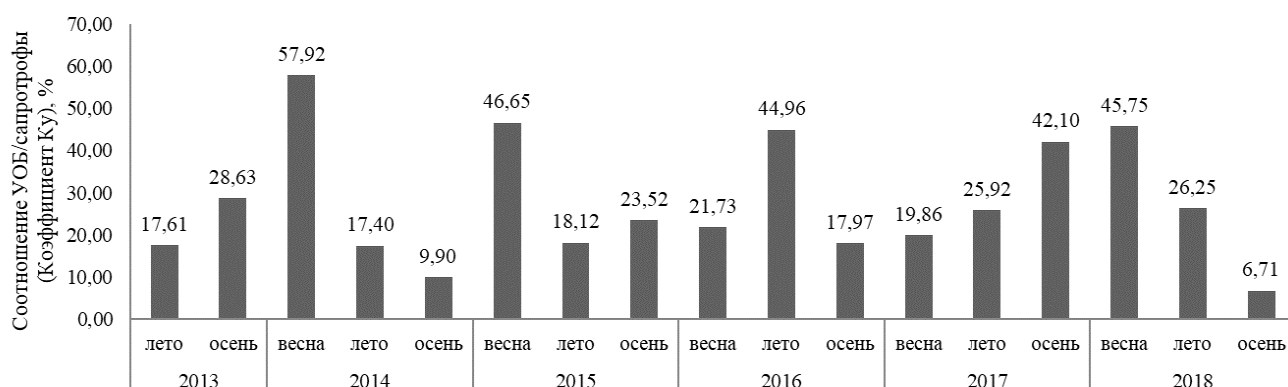


Рис.3.2.4 – Соотношение численности УОБ и сапротрофов в донных отложениях приглубой зоны западной части Северного Каспия

В начале периода исследований значения коэффициента K_u для донных отложениях постепенно возрастало, достигая максимума весной 2014 г., однако уже летом 2014 значение коэффициента K_u снизилось до сезонного минимума (17,40%). Начиная с 2015 г. коэффициент K_u варьировал в пределах 18–46%, осенью 2018 г. зарегистрирован минимум показателя (6,71%). В целом, соотношение УОБ и сапротрофов в донных отложениях уступало аналогичному показателю для воды, что свидетельствовало о большей уязвимости донного

экотопа к нефтяному загрязнению по сравнению с водой. Вероятно, различную адаптивность бактериопланктона и бактериобентоса к нефтяному загрязнению обуславливает степень доступности субстрата, поскольку в донных отложениях происходит накопление наиболее устойчивых к биологическому разложению нефтяных углеводородов (смолы, асфальтены, парафины и др.) [Миронов, 2002; Патин, 2017], в то время как в воде содержится больше растворенных и эмульгированных форм нефтепродуктов.

Численность олиготрофных микроорганизмов в донных отложениях изучали в период с 2016 по 2018 гг. Количество олиготрофных бактерий в грунте изменялось от 1,25 до 420,00 тыс. КОЕ/г. Пик численности олиготрофного бактериобентоса приходился на весну 2016 г. (130,00 КОЕ/г) (Приложение А) (рисунок 3.2.5).

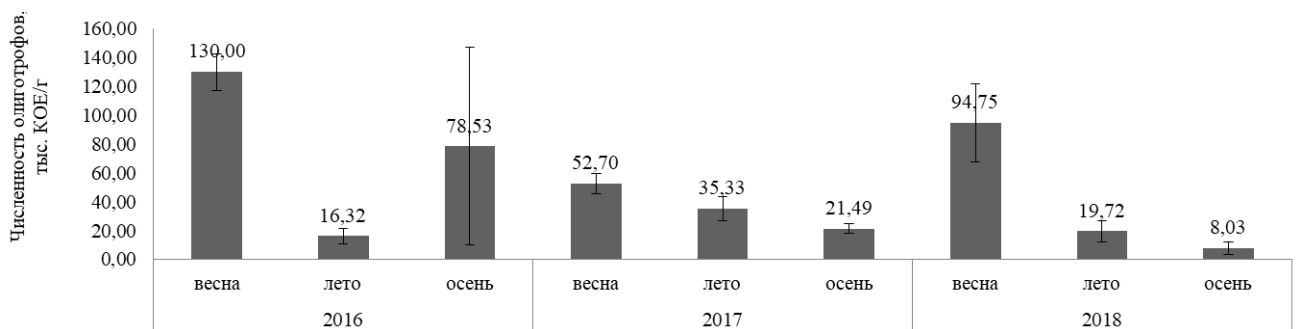


Рисунок 3.2.5 – Динамика численности олиготрофных бактерий (средние значения) в донных отложениях приглубой зоны западной части Северного Каспия

Сезонная динамика олиготрофного бактериобентоса была разнонаправленная, в 2016 г. численность бактерий уменьшалась от весны к лету и возрастала к осени. В 2017 и 2018 гг. концентрация бактерий уменьшалась от весны к осени, достигая минимума осенью 2018 г. (8,03 тыс. КОЕ/г).

Соотношение сапротрофов к олиготрофам, выраженное в виде коэффициента трофности K_t , в грунте исследованной акватории в большинстве случаев превышало 1 (рисунок 3.2.6).

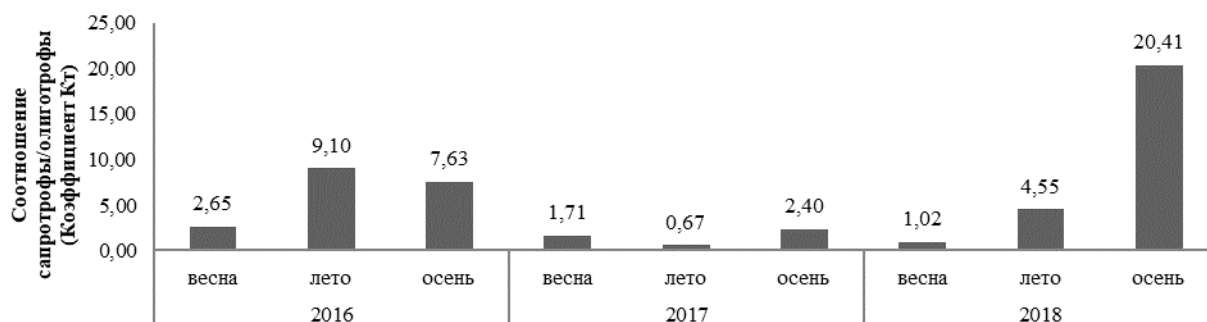


Рис.3.2.6 – Соотношение сапротрофов и олиготрофов (K_t) в донных отложениях приглубой зоны западной части Северного Каспия

Преобладание олиготрофной микробиоты в донных отложениях исследованной акватории отмечено только летом 2017 г. В остальное время численность сапротрофов превышала олиготрофов от 2-х до 20-ти раз. Относительно донных отложений соотношение сапротрофов и олиготрофов, выраженное в виде коэффициента K_t , отражает динамику седиментации органического вещества в донных отложениях. В донных отложениях массовое развитие сапротрофов обусловлено высоким содержанием органического вещества (0,1 – 28,2 г/кг) [Дегтярева, 2017] по сравнению с водой. Преобладание в бактериобентосных сообществах сапротрофов свидетельствовало о том, что основная масса осаждающегося органического вещества находится на промежуточных этапах разложения и не закончила трансформацию в водной толще, что способствовало его накоплению в донных осадках.

В целом, комплексное изучение различных групп бактериопланктона и бактериобентоса показало тесную взаимосвязь как внутри физиологических групп, так и в общем двух экотопов. Максимумы и минимумы численности бактерий приходились на одни и те же временные промежутки. При этом в

бактериопланктоне отмечали большую адаптивность к нефтяному загрязнению, чем в бактериобентосе, что, учитывая комплекс факторов, влияющих на деградацию нефти в море (аэрация, доступность биогенов, фракционный состав нефтяных углеводородов), указывало на значительно большую уязвимость донного экотопа к возможному нефтяному загрязнению.

Результаты исследований, представленные в данной главе, опубликованы в [Дьякова, 2018; Серебренникова, 2018; Дьякова, 2021; Dyakova, 2020; Дьякова, 2022; Дьякова, 2023].

ГЛАВА 4. БИОРАЗНООБРАЗИЕ КУЛЬТИВИРУЕМОГО БАКТЕРИОПЛАНКТОНА И БАКТЕРИОБЕНТОСА В ПРИГЛУБОЙ ЗОНЕ ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ СЕВЕРНОГО КАСПИЯ

Для определения бактериального биоразнообразия воды и донных отложений в приглубой зоне западной части Северного Каспия выполняли постановку накопительных культур с последующим изолированием чистых бактериальных культур. Для сапротрофов использовали полужидкую среду Клодницкого, а для углеводородокисляющих бактерий применяли жидкую минеральную среду Теппера с добавлением нефти в качестве единственного источника углерода. В период мониторинга с 2013 по 2018 гг. из проб воды и донных отложений приглубой зоны западной части Северного Каспия было выделено более 2000 бактериальных изолятов сапротрофов, определенных как *Arthrobacter sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Aeromonas sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Bacillus sp.*, *Citrobacter sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Edwardsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Enterococcus sp.*, *Escherichia sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Hafnia sp.*, *Klebsiella sp.*, *Micrococcus sp.*, *Moraxella sp.*, *Nocardia sp.*, *Photobacterium sp.*, *Planococcus sp.*, *Proteus sp.*, *Providencia sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Salinococcus sp.*, *Salmonella sp.*, *Serratia sp.*, *Shigella sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Vibrio sp.* Следует отметить, что в элективных условиях накопительных культур таксономический состав сапротрофной микробиоты воды и донных отложений не имел значительных различий по количеству определяемых таксонов, однако несколько отличался в соотношении видов, особенно на уровне более крупных таксономических групп. Так, если из проб воды чаще выделяли представителей сем. Pseudomonadaceae и Vibrionaceae, то в накопительных культурах донных отложениях чаще отмечали бактерии сем. Pseudomonadaceae и грамположительные формы. В накопительных культурах, содержащих пробы воды, ежесезонно в период с 2013 по 2018 гг. наиболее часто отмечали *Pseudomonas sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Bacillus sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Vibrio sp.* Остальные таксоны встречались единично

(Приложение Б). В накопительных культурах донных отложений ежегодно регистрировали *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Vibrio sp.* Именно эти бактерии, а также *Acinetobacter sp.*, *Arthrobacter sp.*, *Citrobacter sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Staphylococcus sp.* наиболее часто относились к доминантам и субдоминантам. Бактерии *Aeromonas sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Edwardsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Enterococcus sp.*, *Hafnia sp.*, *Klebsiella sp.*, *Marinococcus sp.*, *Moraxella sp.*, *Nocardia sp.*, *Plesiomonas sp.*, *Proteus sp.*, *Salmonella sp.*, *Serratia sp.*, *Shigella sp.* регистрировали значительно реже (Приложение Б).

Выделяемые из накопительных культур воды и донных отложений УОБ во многом повторяли разнообразие сапротрофов (Приложение Б). В период исследований наиболее часто выделяли представителей *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.* и *Vibrio sp.* Бактерии *Acinetobacter sp.*, *Aeromonas sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Citrobacter sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Edwardsiella sp.*, *Enterococcus sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Micrococcus sp.*, *Nocardia sp.*, *Proteus sp.*, *Serratia sp.*, *Staphylococcus sp.* регистрировали периодически, их встречаемость в накопительных культурах была невелика. В донных отложениях среди УОБ также ежегодно регистрировали *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, и *Vibrio sp.* На долю бактерий *Pseudomonas sp.* приходилась большая часть выделенных изолятов, именно они встречались на всей обследованной акватории. Бактерии *Nocardia sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Vibrio sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Citrobacter sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Enterobacter sp.*, *Enterococcus sp.*, *Proteus sp.*, *Rhodococcus sp.*, *Serratia sp.* выделяли из накопительных культур меньшим числом изолятов.

В целом, в элективных условиях значительных различий в таксономическом составе сапротрофов и УОБ по сезонам не отмечено. В накопительных культурах ежегодно летом и осенью на всей обследованной акватории регистрировали бактерии *Acinetobacter sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Bacillus sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Vibrio sp.*, в то время как остальные таксоны отмечали с разной периодичностью. В группе доминирующих таксонов наиболее часто отмечали *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Staphylococcus sp.* и *Vibrio sp.*, при

этом *Pseudomonas sp.* обладал окислительным потенциалом, а остальные – окислением и ферментацией. Среди ежегодно встречающихся бактерий чаще всего в пробах воды и грунта отмечали *Pseudomonas sp.*, данные бактерии были выделены из проб воды и грунта на всей обследованной акватории.

В элективных условиях среди выделенных водных сапротрофов отмечена тенденция увеличения встречаемости псевдомонад, среди УОБ данные бактерии имели разнонаправленную динамику (рисунок 4.1).

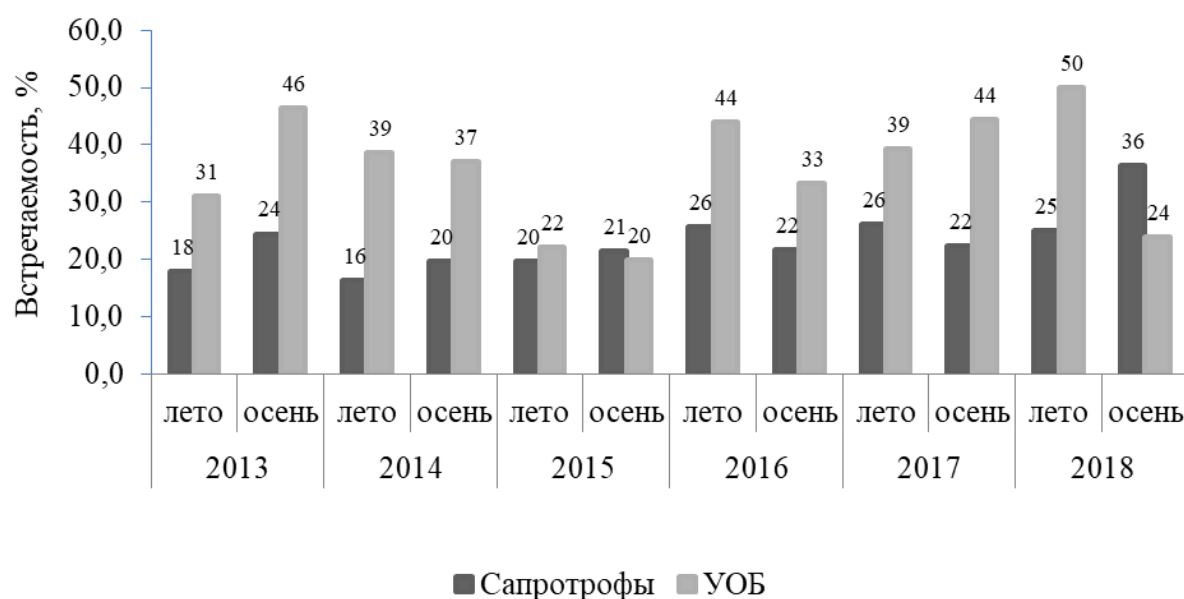


Рисунок 4.1 – Встречаемость бактерий *Pseudomonas sp.* в накопительных культурах гетеротрофного бактериопланктона

В накопительных культурах донных отложений *Pseudomonas sp.* наиболее часто регистрировали в составе УОБ, среди сапротрофов псевдомонад отмечали значительно реже (рисунок 4.2).

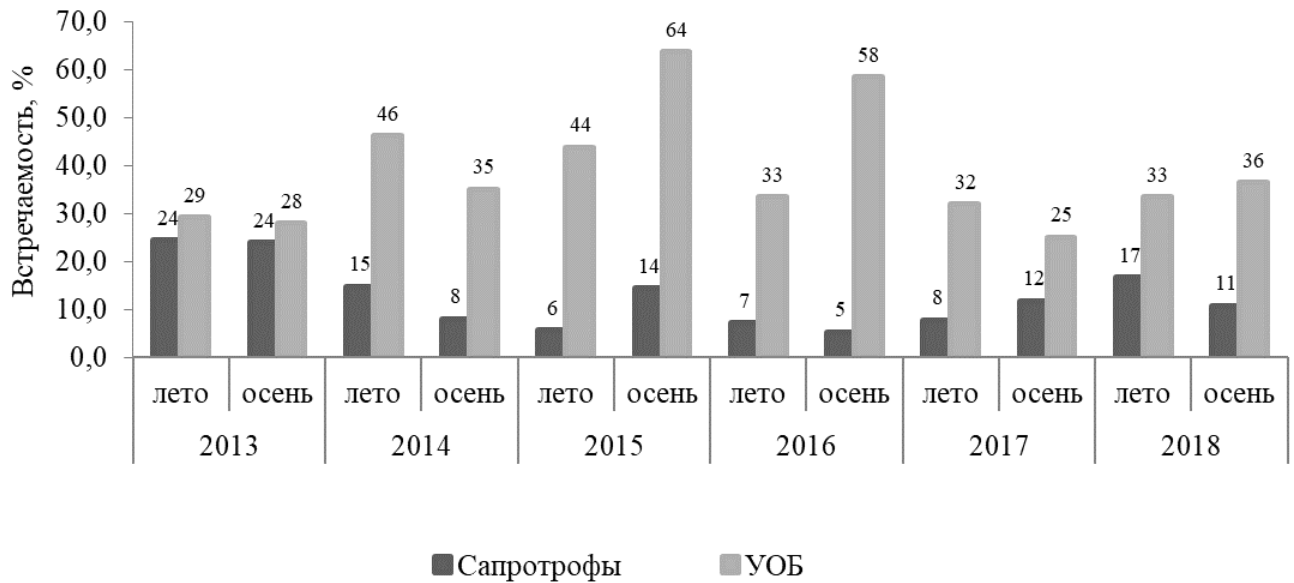


Рисунок 4.2 – Встречаемость бактерий *Pseudomonas sp.* в накопительных культурах гетеротрофного бактериобентоса

Бактерии *Pseudomonas sp.* являются космополитами и обладают способностью к утилизации огромного количества органических веществ, в том числе и поллютантов природного и техногенного происхождения [Винокуров, 2012]. Частая встречаемость данных бактерий в накопительных культурах воды и грунта Каспийского моря обусловлена, в первую очередь, их лабильным метаболизмом, гало- и термотолератностью, выявленными в ходе изучения физиолого-биохимических свойств выделенных изолятов. Не менее важно, что большинство выделенных культур продуцировали пигменты пиоцианин и пиорубин, обладающие антибактериальными свойствами, что также помогало бактериям *Pseudomonas sp.* занимать главенствующее положение в селективных условиях, подавляя рост других представителей сапротрофов и УОБ. В целом, в настоящее время частая встречаемость в накопительных культурах воды и донных отложений приглубой зоны западной части Северного Каспия бактерий *Pseudomonas sp.* носит неоднозначный характер, поскольку с одной стороны физиолого-биохимические свойства данных бактерий обеспечивают их быстрое включение в биоремедиационные процессы, в том числе обеспечивая деструкцию

нефти и других загрязнителей, с другой стороны в состав рода входят виды, представляющие опасность для человека и животных. В частности, среди выделенных нами представителей рода *Pseudomonas* отмечены бактерии, обладающие факторами патогенности (лецитиназной, протеолитической, гемолитической и ДНК-азной активностью) и множественной антибиотикорезистентностью. Однако, следует отметить, что случаев выявления заболеваний гидробионтов, вызываемых бактериями рода *Pseudomonas*, в Каспийском море не зарегистрировано.

Среди грамположительных бактерий преобладали *Bacillus sp.* и *Staphylococcus sp.*, обладающие способностью к деструкции широкого спектра органических веществ. Данные бактерии из накопительных культур воды выделяли реже псевдомонад. В накопительных культурах донных отложений среди сапротрофов доминирующее положение занимали бактерии *Bacillus sp.*

Бактерии *Acinetobacter sp.*, *Alcaligenes sp.* и *Flavobacterium sp.*, относящиеся к группе неферментирующих несакхаролитических бактерий, также ежегодно и ежесезонно встречались в накопительных культурах воды и донных отложений. По литературным данным [Анкудинова, 2010; Козлов, 2011] данные бактерии способны утилизировать как доступные органические вещества, так и токсичные соединения природного и техногенного происхождения (нефтепродукты, полиароматические углеводороды и др.), в связи с чем можно предположить активную роль бактерий *Acinetobacter sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Flavobacterium sp.* в процессе самоочищения моря.

В целом, ежегодная регистрация в накопительных культурах воды таксонов *Acinetobacter sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Bacillus sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Vibrio sp.* указывала на то, что данные бактерии являлись частью культивируемого сапротрофного бактериопланктона приглубой зоны западной части Северного Каспия и принимали участие в процессе минерализации органического вещества и деструкции загрязнителей. Выделенные бактерии обладали рядом общих положительных свойств, таких как высокая лабильность метаболизма, гало- и термотолерантность, способность

деструктировать различные поллютанты. В каждом таксоне единично регистрировали условно-патогенные виды, в частности *Pseudomonas aeruginosa*, *Alcaligenes faecalis*, *Staphylococcus aureus*, способные вызывать заболевания человека и гидробионтов.

Большую часть биоразнообразия бактерий в накопительных культурах воды и донных отложений приглубой зоны западной части Северного Каспия отмечали единично. В элективных условиях грамположительные таксоны *Arthrobacter sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Micrococcus sp.*, *Nocardia sp.*, *Planococcus sp.*, *Salinococcus sp.* регистрировали значительно меньшим числом изолятов. Данные бактерии не обладали патогенными свойствами и относились к истинным сапротрофам, осуществлявшим самоочищение моря через минерализацию органических веществ разного уровня сложности. Низкая встречаемость данных бактерий указывала на их неконкурентоспособность в условиях накопительных культур по сравнению с доминантными видами, в то время как в естественных условиях численное распределение данных видов сапротрофного и углеводородокисляющего бактериопланктона и бактериобентоса может разительно отличаться от элективных условий.

Особое внимание привлекало наличие среди непостоянных членов накопительных культур воды и грунта условно-патогенных бактерий *Aeromonas sp.*, *Enterococcus sp.*, *Moraxella sp.*, *Providencia sp.*, а также бактерии сем. Enterobacteriaceae (*Citrobacter sp.*, *Edwardsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia sp.*, *Hafnia sp.*, *Klebsiella sp.*, *Proteus sp.*, *Salmonella sp.*, *Serratia sp.*, *Shigella sp.*). Бактерии *Aeromonas sp.*, *Enterococcus sp.*, *Moraxella sp.*, *Providencia sp.* отмечали единично в 2013, 2014 и 2015 гг. Выделенные бактерии сем. Enterobacteriaceae являлись санитарно-показательными, их обнаружение в пробах воды и грунта могло указывать на нарушение санитарного состояния акватории на фоне высокого антропогенного прессинга.

Поскольку некоторые выделенные микроорганизмы относились к группе условно-патогенных бактерий, которые представляют потенциальную опасность для гидробионтов, необходимо исследование их патогенных свойств, отвечающих

за вирулентность болезнетворного агента. Ежегодно в составе культивируемого сапротрофного бактериопланктона и бактериобентоса приглубой зоны западной части Северного Каспия моря массово регистрировали условно-патогенные бактерии, располагавшие комплексом факторов патогенности и множественной антибиотикорезистентностью. В многолетнем аспекте отмечено, что встречаемость бактерий, способных синтезировать определенные ферменты, отвечающие за проявление патогенности, носит спорадический характер и не имеет общей направленности (рисунок 4.3).

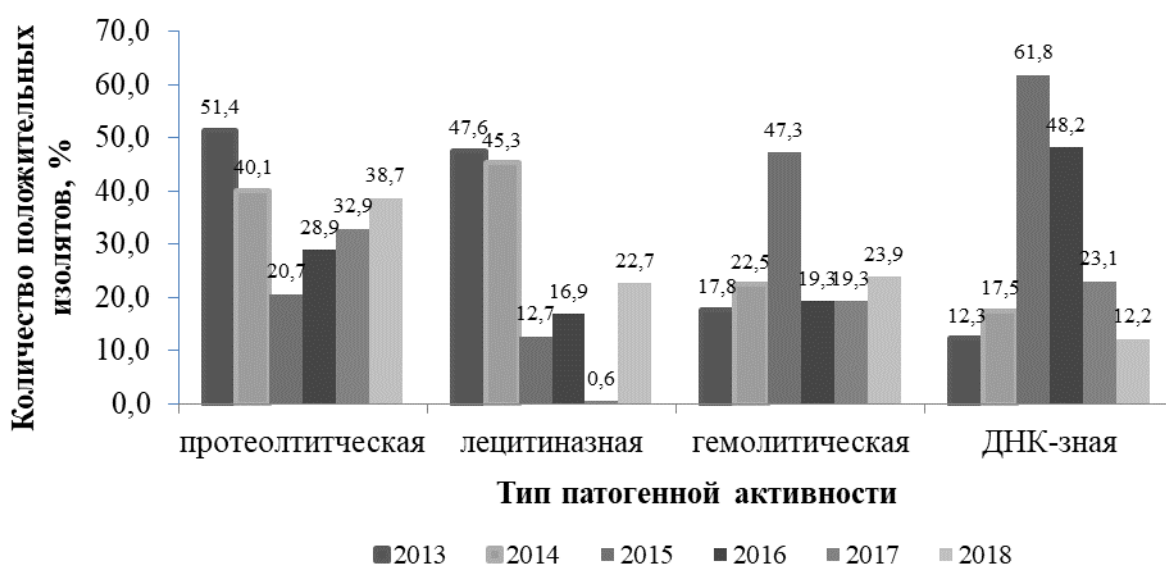


Рисунок 4.3 – Типы патогенной активности микроорганизмов, выделенных в период исследований

В накопительных культурах массовое развитие бактерий-протеолитиков отмечали 2013 г, в следующие годы случаи проявления бактериями протеолитической активности снижалась до 2015 г. Начиная с 2016 г. до конца периода исследований, регистрировали стабильный рост численности бактериальных агентов с протеолитической активностью. Регистрация в накопительных культурах бактерий, обладавших лецитиназной активностью, имела тренд на снижение в период 2013-2017 гг. В 2018 г численность микроорганизмов, проявлявших лецитиназную активность, возросла, однако не

достигла максимума, отмеченного в 2013 г. Протеолитическая и лецитиназная активности инициируют проникновение бактерий в организм хозяина, запуская таким образом инфекционный процесс. Среди выделенных бактерий часто отмечали изоляты, которые обладали комплексом протеолитических и лецитиназных ферментов, что теоретически повышало вирулентность данных бактерий.

Бактерии-гемолитики регистрировали ежегодно, их частота определения в накопительных культурах не претерпевала значительных изменений (17–23%), за исключением 2015 г., когда отмечали рост количества бактерий, продуцирующих гемолизин, до 47%. Доля бактериальных изолятов, способных разрушать ДНК посредством ферментативной активности, увеличивалась до 2015 г. Начиная с 2016 г. отмечали снижение встречаемости бактерий, синтезировавших ДНК-азу. ДНК-зная и гемолитическая активности определяли специфические качества болезнетворных бактериальных агентов, в частности данные ферменты характерны для представителей *Aeromonas sp.*, *Staphylococcus aureus*. В период исследований данные специфические факторы патогенности зарегистрированы не только у условно патогенных бактерий, но и у истинных сапротрофов. Гемолитическая и ДНК-азная активности определяют способность бактерий лизировать эритроциты и молекулы ДНК организма хозяина, инициируя таким образом тяжелые инфекционные процессы. В целом, наличие у бактерий, выделенных из накопительных культур воды и грунтов северной части Каспийского моря, одного или нескольких ферментов, определяющих факторы патогенности, указывало на вирулентную активность выделенных бактерий *in vitro*, однако однозначного вывода о наличии в районе очага сапронозных инфекций сделать невозможно, поскольку на протяжении всего периода исследований у гидробионтов не регистрировали наличие заболеваний, инициированных сапронозными инфекциями.

Выделанные бактериальные культуры тестировали также на проявление устойчивости к антимикробным препаратам различных классов (рисунок 4.4).

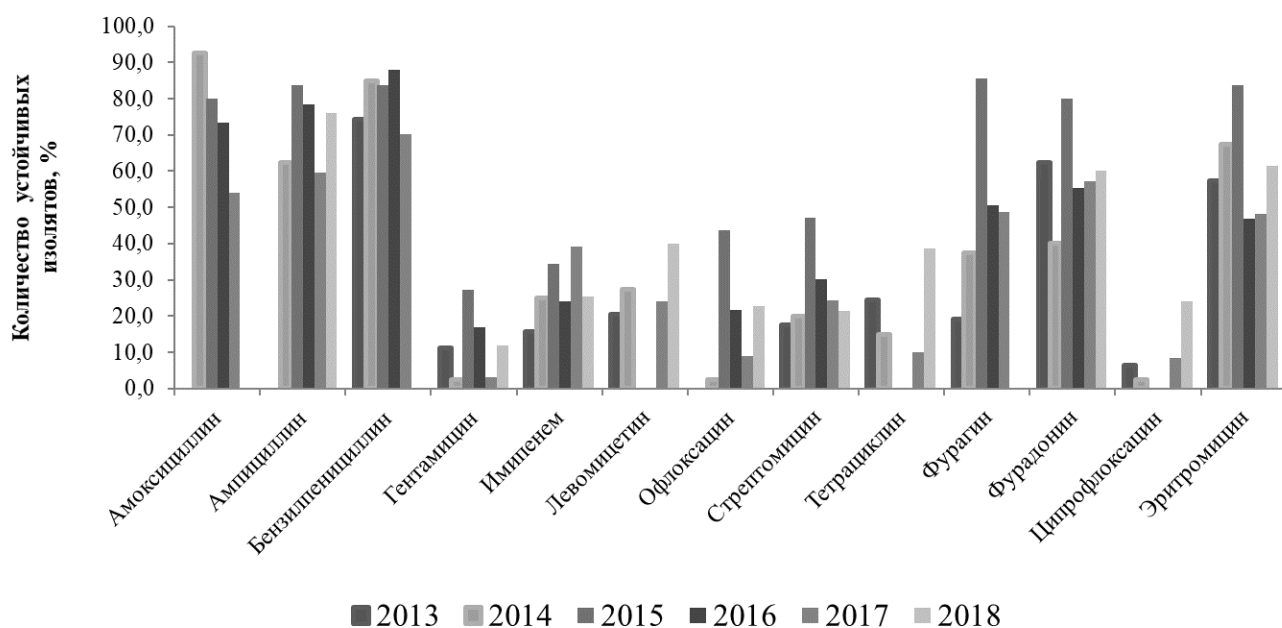


Рисунок 4.4 – Антибиотикорезистентность бактерий, выделенных из воды и грунта приглубой зоны западной части Северного Каспия

Ежегодно у выделенных бактериальных культур регистрировали высокую устойчивость к воздействию таких бета-лактамовых антибиотиков пенициллинового ряда, как бензилпенициллин, амоксициллин и ампициллин (резистентность до 92%). Ежегодное снижение резистентности отмечено в отношении амоксициллина. Высокая устойчивость к данным препаратам бактерий, изолированных из морских экотопов, могла быть следствием антропогенной нагрузки на акваторию посредством массового поступления аллохтонных микроорганизмов с речным стоком, поскольку в экосистемах, неподверженных значительному антропогенному прессингу, количество резистентных к антибиотикам микроорганизмов невелико [Абдуллин, 1997; Егоров, 2004; Верховина, 2011]. Устойчивость выделенных бактерий к фурагину возрастала с 2013 по 2015 гг. В 2016 и 2017 гг. регистрировали стагнацию количества устойчивых изолятов на уровне 48%. Фурадонин и эритромицин обладали малой эффективностью относительно выделенных бактериальных изолятов, количество устойчивых бактерий не опускалось ниже 40%.

В отношении антимикробных препаратов имипинема, левомицетина, офлоксацина, стрептомицина и тетрациклина отмечали разнонаправленную динамику встречаемости резистентных изолятов, количество устойчивых к данным антибиотикам микроорганизмов варьировало от 2,5 до 47,3%. Наилучшие результаты отмечены при воздействии на выделенные бактериальные культуры препаратов гентамицин и ципрофлоксацин, в среднемноголетнем аспекте количество устойчивых изолятов составляло 12,2 и 10,4%, соответственно (таблица 4.1).

Таблица 4.1 – Доля антибиотикорезистентных бактерий, выделенных из воды и грунта приглубой зоны западной части Северного Каспия, %

| Антибиотик | Год исследований | | | | | | Среднемноголетнее значение |
|------------------|------------------|------|------|------|------|------|----------------------------|
| | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 | |
| Амоксициллин | - | 92,5 | 80,0 | 73,5 | 54,0 | - | 75,0 |
| Ампициллин | - | 62,5 | 83,6 | 78,3 | 59,6 | 76,0 | 72,0 |
| Бензилпенициллин | 74,3 | 85,0 | 83,6 | 88,0 | 70,3 | - | 80,2 |
| Гентамицин | 11,3 | 2,5 | 27,3 | 16,9 | 3,2 | 12,0 | 12,2 |
| Имипенем | 15,7 | 25,0 | 34,5 | 24,1 | 39,2 | 25,3 | 27,3 |
| Левомецетин | 20,5 | 27,5 | - | - | 24,1 | 40,0 | 28,0 |
| Офлоксацин | - | 2,5 | 43,6 | 21,7 | 8,9 | 22,7 | 19,9 |
| Стрептомицин | 17,7 | 20,0 | 47,3 | 30,1 | 24,4 | 21,3 | 26,8 |
| Тетрациклин | 24,5 | 15,0 | - | - | 9,9 | 38,7 | 22,0 |
| Фурагин | 19,3 | 37,5 | 85,5 | 50,6 | 48,7 | - | 48,3 |
| Фурадонин | 62,4 | 40,0 | 80,0 | 55,4 | 57,3 | 60,0 | 59,2 |
| Ципрофлоксацин | 6,5 | 2,5 | - | - | 8,6 | 24,0 | 10,4 |
| Эритромицин | 57,4 | 67,5 | 83,6 | 47,0 | 48,2 | 61,3 | 60,8 |

Примечание: «-» - нет данных

Помимо устойчивости к отдельным антибиотикам важным фактором антропогенного воздействия на акваторию моря является множественная антибиотикорезистентность. Так, в период исследований наиболее часто в накопительных культурах встречались бактерии, обладающие резистентностью к 2–4 или 5–7 антибактериальным препаратам (рисунок 4.5).

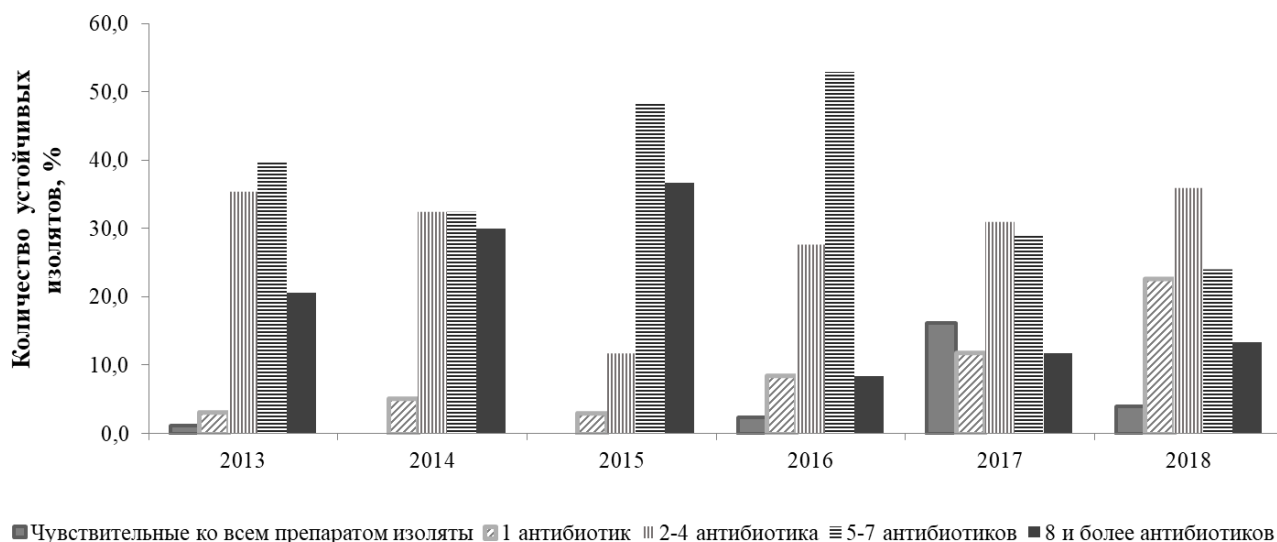


Рисунок 4.5 – Множественная антибиотикорезистентность выделенных бактерий

Ежегодно в накопительных культурах регистрировали значительное количество бактерий, резистентных к 8 и более препаратам. Наиболее редко выделяли бактерии, обладавшие устойчивостью к одному препарату и чувствительные ко всем препаратам. Подобная картина множественной антибиотикорезистентности отдельных представителей бактериопланктона и бактериобентоса Северного Каспия еще раз подтверждала значительный вклад антропогенного воздействия в морскую среду, в том числе и за счет привнесения бактериального загрязнения на акваторию. Развитие множественной антибиотикорезистентности бактериальных сообществ моря также предполагало высокие адаптационные возможности выделенных микроорганизмов.

Помимо изучения таксономического состава микробиоты приглубой зоны западной части Северного Каспия производили оценку биоразнообразия культивируемого бактериопланктона и бактериобентоса с помощью индексов Шеннона и Симпсона [Шитиков, 2003]. Поскольку для определения таксономического состава сапротрофного и углеводородокисляющего бактериопланктона и бактериобентоса использовали метод постановки накопительных культур, который в полной мере не отражает видовое

разнообразие всей микробиоты, в работе представлена попытка охарактеризовать состояние культивируемого бактериопланктона и бактериобентоса через изменение встречаемости наиболее конкурентоспособных в элективных условиях бактерий.

Наиболее часто используемым индексом для характеристики разнообразия сообществ является индекс Шеннона. Индекс биоразнообразия Шеннона отражает сложность структуры сообщества, основываясь на количественной представленности видов. Для сапротрофного бактериопланктона исследованного района в 2013–2018 гг. индекс Шеннона варьировал в пределах 2,065–2,616 бит (рисунок 4.6).

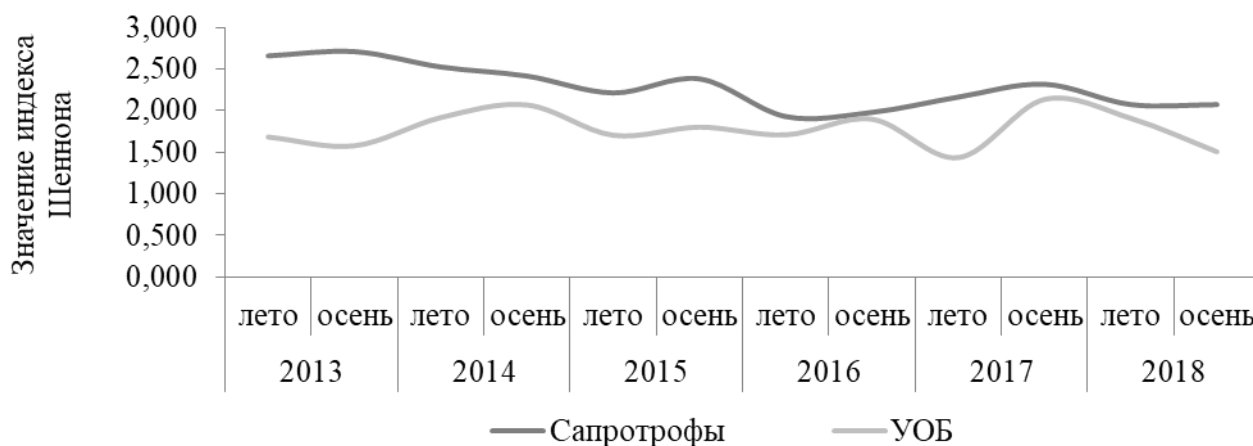


Рисунок 4.6 – Динамика индекса Шеннона для культивируемого бактериопланктона приглубой зоны западной части Северного Каспия

Для углеводородокисляющих бактерий индекс Шеннона составлял 1,354–2,188 бит (рисунок 4.6). При этом видовое разнообразие УОБ в условиях накопительных культур на протяжении всего периода исследований уступало сапротрофам. При этом, в сапротрофном бактериопланктоне отмечена тенденция уменьшения видового разнообразия, в то время как биоразнообразие углеводородокисляющих бактерий имеет нечеткую периодичность.

Динамика индекса Симпсона имела противоположную тенденцию относительно индекса Шеннона. Индекс Симпсона для сапротрофного

бактериопланктона в исследуемый период варьировал в пределах 0,077–0,159, для УОБ – 0,094–0,275 (рисунок 4.7).

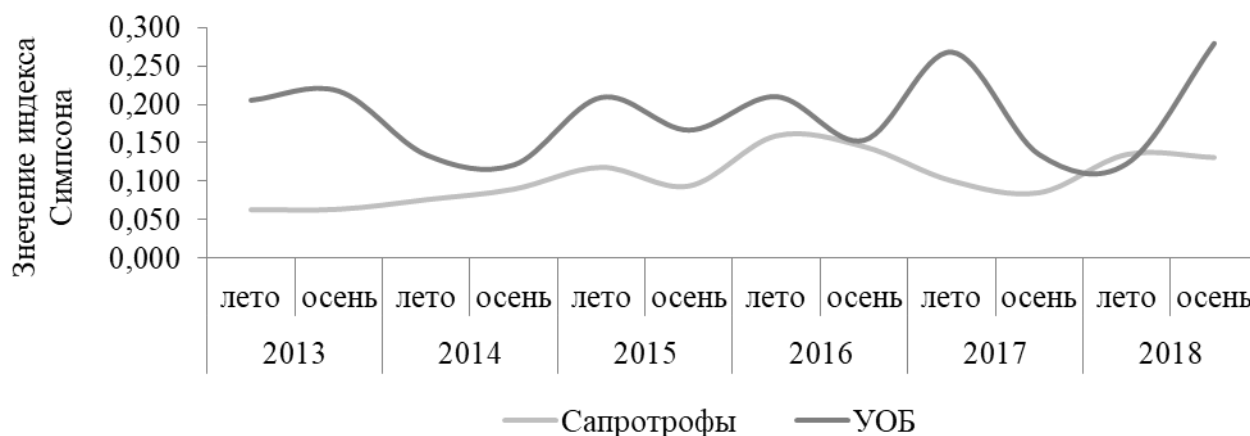


Рисунок 4.7 – Динамика индекса Симпсона для культивируемого бактериопланктона приглубой зоны западной части Северного Каспия

Значения индекса Симпсона в исследуемый период сравнительно невысоки и не превышали 0,172. На исследованной акватории значения индекса Симпсона варьировали незначительно, что указывало на устойчивость таксономического состава бактериопланктона, что подтверждалось анализом таксономической структуры бактериопланктона, в котором отсутствовало постоянное значительное преобладание определенных видов.

Значения индекса Симпсона для УОБ были выше, чем показатели индекса Симпсона для сапротрофов, что также указывало на меньшее биоразнообразие в сообществе по сравнению с сапротрофами. Изменения индекса Симпсона определялись степенью преобладания доминантных УОБ, в первую очередь *Pseudomonas sp.* Так в районе исследований наиболее часто в накопительных культурах *Pseudomonas sp.* регистрировали осенью 2013 г. и летом 2016 и 2018 гг., что отразилось на максимальных значениях индекса Симпсона.

В донных отложениях Северного Каспия индекс Шеннона для сапротрофов варьировал в пределах 1,709 – 2,466 бит (рисунок 4.8).

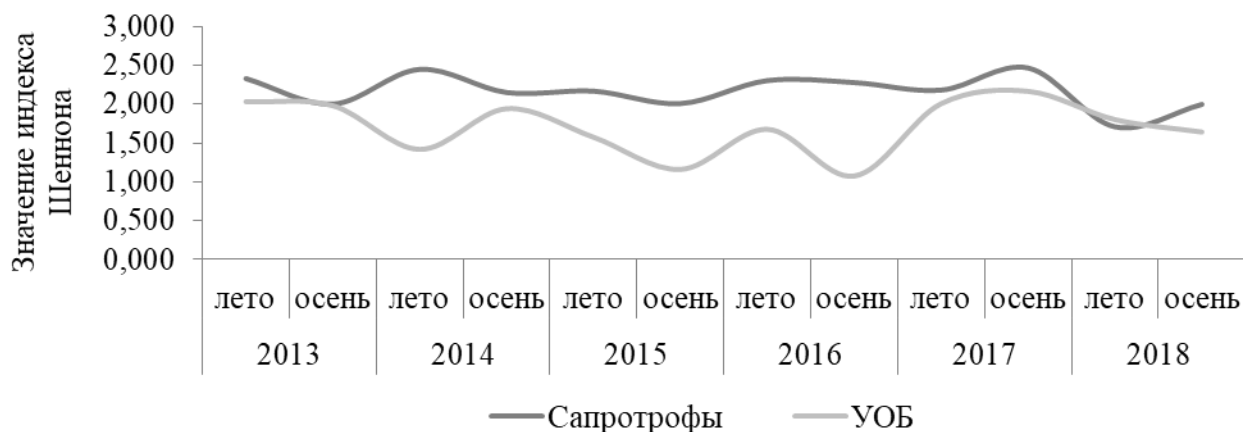


Рисунок 4.8 – Динамика индекса Шеннона для культивируемого бактериобентоса приглубой зоны западной части Северного Каспия

Для углеводородокисляющих бактерий индекс Шеннона составлял 1,075–2,033 бит (рис.4.8). Также, как и в накопительных культурах воды, видовое разнообразие УОБ в грунтах практически на протяжении всего периода исследований уступало сапротрофным бактериям. Однако, несмотря на колебания показателей индекса, в бактериобентосе тренд на снижение биоразнообразия не отмечен.

Индекс Симпсона для сапротрофного бактериобентоса в исследуемый период варьировал в пределах 0,044–0,170, для УОБ – 0,075–0,382 (рисунок 4.9).

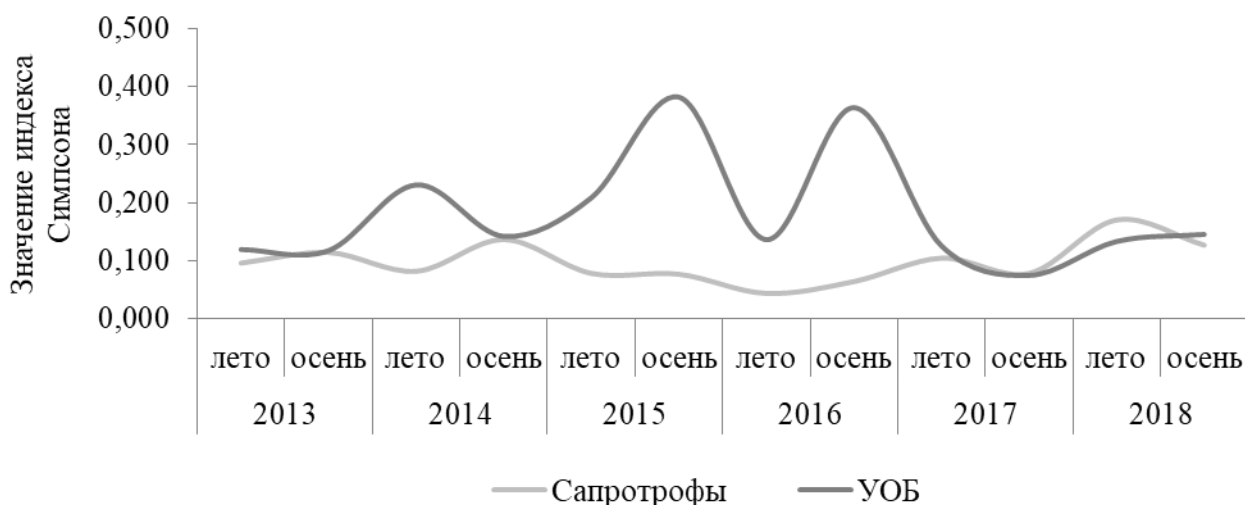


Рисунок 4.9 – Динамика индекса Симпсона для культивируемого бактериобентоса приглубой зоны западной части Северного Каспия

Значения индекса Симпсона для УОБ, также как и в воде, были выше аналогичных показателей для сапротрофов, что указывало на меньшее биоразнообразие среди УОБ по сравнению с сапротрофами.

В целом, изучение биоразнообразия культивируемых гетеротрофных бактерий, выделенных из воды и грунта методом накопительных культур, показало, что видовое богатство сапротрофов в элективных условиях невелико, при этом в воде также отмечена тенденция к сокращению биоразнообразия, что в целом, может негативно сказаться на микробном сообществе приглубой зоны западной части Северного Каспия, поскольку сокращение видового богатства происходило в том числе за счет увеличения встречаемости в накопительных культурах условно-патогенных бактерии *Pseudomonas sp.* В накопительных культурах донных отложений биоразнообразие сапротрофов отличалось большей стабильностью по сравнению с водой. Значения индекса Шеннона для УОБ уступали аналогичным показателям для сапротрофов.

Таким образом, изучение таксономического состава сапротрофной и углеводородокисляющей микробиоты в накопительных культурах воды и донных отложений показало практически полную идентичность биоразнообразия бактерий в элективных условиях. В накопительных культурах воды преобладали представители сем. Pseudomonadaceae и Vibrionaceae, в донных отложениях чаще отмечали бактерии сем. Pseudomonadaceae и грамположительные формы. Сезонная динамика встречаемости видов практически отсутствовала. Чаще остальных в накопительных культурах отмечали бактерии р. *Pseudomonas*. Некоторые выделенные бактерии обладали одним или несколькими факторами патогенности и множественной антибиотикорезистентностью, что может представлять потенциальную опасность для гидробионтов и человека. Видовое богатство сапротрофов и УОБ в накопительных культурах воды и грунта невелико, при этом в воде также отмечена тенденция к сокращению биоразнообразия. В донных отложениях биоразнообразие сапротрофов отличалось большей стабильностью по сравнению с водой. Снижение биоразнообразия сапротрофов и УОБ, выделенных в элективных условиях, за счет

увеличения встречаемости некоторых таксонов, в том числе и условно-патогенных представителей рода *Pseudomonas*, могло косвенно указывать на стрессирование микробиоты акватории, что, обуславливало необходимость разработки мер по биоремедиации акватории в случае ухудшения экологической обстановки.

Результаты исследований, представленные в данной главе, опубликованы в [Дьякова, 2018; Дьякова, 2020; Дьякова, 2024].

ГЛАВА 5. ВЫДЕЛЕНИЕ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ ИЗ ВОД СЕВЕРНОГО КАСПИЯ

5.1 Выделение и изучение физиолого-биохимических свойств нефтеокисляющих бактерий

Выделение нефтеокисляющих бактерий из воды Северного Каспия производилось методом постановки накопительной культуры с добавлением в среду для нефтеокисляющих бактерий нефти в качестве единственного источника углерода. Накопительную культуру культивировали при температуре 28°C в течение 30 суток. Высев накопительной культуры для выделения чистых культур бактерий производили глубинным методом на Теппера с нефтью в качестве единственного источника углерода.

В результате проведенной работы выделено 5 бактериальных изолятов. Культуральные и морфологические свойства представлены в таблице 5.1.1.

Таблица 5.1.1 – Культуральные и морфологические признаки бактерий

| Обозначение штамма | Район выделения | Культуральные признаки | Морфологические признаки |
|--------------------|--|---|---|
| Изолят 1 | Придонный горизонт воды Северного Каспия | Колония бежевая, плоская, сухая, складчатая, край неровный, консистенция однородная, d = 3 мм | Грамотрицательные палочки правильной формы в цепочках |
| Изолят 2 | Поверхностный горизонт воды Северного Каспия | Колония бежевая, однородная, по край ровный, диффундирует в агар зеленый пигмент, слизистая, d = 5 мм | Грамотрицательные палочки правильной формы, соединенные парами |
| Изолят 3 | Поверхностный горизонт воды Северного Каспия | Колония оранжевая, однородная, выпуклая, с ровным краем, слизистая, d = 5 мм | Крупные палочки правильной формы соединенные в нити, по Граму окрашиваются неравномерно |
| Изолят 4 | Поверхностный горизонт воды Северного Каспия | Колония молочная, плоская, сухая, с ризоидным краем, d = 2 мм | Грамотрицательные палочки правильной формы, расположены одиночно |
| Изолят 5 | Поверхностный горизонт воды Северного Каспия | Колония бежевая, складчатая, сухая, край неровный, d = 4 мм | Грамотрицательные палочки правильной формы в цепочках |

Все грамотрицательные бактерии по физиолого-биохимическим признакам определены как бактерии р. *Pseudomonas*, грамположительные бактерии относились к актинобактериям. Из пяти культур только одна не потеряла способности к росту на средах с нефтью во время пересевов. Изолят № 3, выделенный из воды Северного Каспия, обладал следующими свойствами: аэробный тип дыхания, каталазо- и оксидазоположительный, реакции с метилрот и Фогесса-Проскауэра отрицательные, индол и сероводород не синтезировал, отмечали рост в температурном диапазоне 20–37°C при концентрации NaCl 3%.

Для определения безопасности выделенного изолята проводили тестирование на наличие факторов патогенности. Данный изолят не проявлял патогенность в виде гемолитической, лецитиназной, ДНК-азной и протеолитической активности.

В рамках проводимых исследований изучали чувствительность изолята 3 к антибиотикам различных групп, в частности пенициллины (оксациллин, азлоциллин, ампициллин, амоксициллин), цефалоспорины (цефазолин, цефокситин, цефаклор, цефтазидин, цефтриаксон), аминогликозиды (гентамицин), макролиды (азитромицин), тетрациклины (тетрациклин), фторхинолоны (ципрофлоксацин), препараты других групп (левомецетин, фузидин). Изолят обладал различным уровнем чувствительности к антимикробным препаратам. Изолят 3 был чувствителен к 13 препаратам из 16 изученных. Выделенная культура проявила устойчивость только к амоксициллину из группы пенициллинов, цефиксиму из группы цефалоспоринов и к гентамицину из группы аминогликозидов.

В целом, проведенные исследования показали, что изолят – нефтедеструктор, выделенный из воды северной части Каспийского моря, не проявлял факторов патогенности в виде гемолитической, протеолитической, ДНК-азной и лецитиназной активностей, а изучение воздействия антибиотиков на культуру показало чувствительность изолята к различным группам антимикробных препаратов, что указывало на его безопасность в целях применения в биоремедиации нефтяного загрязнения.

5.2 Идентификация выделенного углеводородокисляющего бактериального изолята

Идентификацию изолята проводили с помощью анализа нуклеотидных последовательностей 16S рРНК в ФГБУН «Институт экологии и генетики микроорганизмов» Уральского отделения Российской академии наук. Изолят 3 следующую нуклеотидную последовательность:

TTGCTGGGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTGATCTGCCCTGCA
 CTCTGGGATAAGCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCGGATATGACCTCKKGMTGCATGKTS
 WGGGGTGGAAAGTTTTTCGGTGCAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGT
 AATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGG
 ACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGC
 GCAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTT
 CACCCATGACGAAGCGCAAGTGACGGTAGTGGGAGAAGAAGCACCGGCCAACTACGTGC
 CAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTGTCCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGAG
 CTCGTAGGCGGTTTTGTCGCGTCGTCTGTGAAATCCCGCAGCTCAACTGCGGGCTTGCAGG
 CGATACGGGCAGACTCGAGTACTGCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAA
 TGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCAGTAACTGACG
 CTGAGGAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA
 AACGGTGGGCGCTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACGGGATCCGTGCCGTAGCCAACGCATTA
 AGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC
 CGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTT
 TGACATGTACCGGACGACTGCAGAGATGTGGTTTTCCCTTGTGGCCGGTAGACAGGTGGTG
 CATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC
 CTTGTCCTGTGTTGCCAGCACGTGATGGTGGGGACTCGCAGGAGACTGCCGGGGTCAACT
 CGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGGGCTTACACAT
 GCTACAATGGTTCGGTACAGAGGGCTGCGATACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCC
 GGTCTCAGTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATC
 GCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGT
 CATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGT

Результаты анализа нуклеотидных последовательностей 16S рРНК выделенных бактерий представлены в таблице 5.2.1.

Таблица 5.2.1 – Анализ нуклеотидных последовательностей 16S рРНК выделенных бактерий

| Штамм | Идентификация по гену 16S рРНК | | | |
|----------|---|-----------|-------------|------------------------|
| | Близкородственный типовой штамм | № GenBank | Сходство, % | Количество нуклеотидов |
| Изолят 3 | <i>Rhodococcus pyridinivorans</i> PDB9 ^T | AF173005 | 100 | 1337 |

Таким образом, на основании проведенного анализа выделенный изолят идентифицирован как *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T.

5.3 Первичный скрининг деструкционной активности штамма в отношении поллютантов

Выделенный штамм протестировали на возможность использовать нефть и фенол в качестве источника углерода при различных температурах (таблица 5.3.1).

Таблица 5.3.1 – Рост штамма *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T в присутствии различных источников углерода

| Среда | Источник углерода | Температура, °C | Интенсивность роста штамма <i>R. pyridinivorans</i> |
|----------|-------------------|-----------------|---|
| М9 | Нефть | 10 | |
| | | 20 | ++ |
| | | 28 | +++ |
| | Фенол | 10 | – |
| | | 20 | – |
| | | 28 | – |
| Нельсона | Нефть | 10 | – |
| | | 20 | ++ |
| | | 28 | +++ |
| | Фенол | 10 | – |
| | | 20 | ++ |
| | | 28 | +++ |

Примечание: +++ – интенсивный рост по штриху, ++ – умеренный рост по штриху, + – слабый, прерывистый рост по штриху, – отсутствие роста

Результаты эксперимента показали, что выделенный штамм не способен к росту и развитию на указанных средах при температуре 10 °С. Фенол в качестве источника углерода для *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T являлся доступным только на среде Нельсона при температуре 20–28°С. Нефть как источник энергии *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T использовал на обеих минеральных средах, при этом наиболее обильный рост наблюдали при температуре 28°С.

Чувствительность к тяжелым металлам является важным лимитирующим развитием признаком. Присутствие в среде тяжелых металлов может привести как к изменению физиологических свойств бактерий, так и к полной их гибели. В результате проведенного исследования чувствительности к тяжелым металлам установлено, что выделенный штамм устойчив к воздействию загрязнителя (таблица 5.3.2).

Таблица 5.3.2 – Рост штамма *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T в присутствии тяжелых металлов

| Тяжелый металл | Концентрация в пересчете на ион, мг/л | Способность к росту <i>Rhodococcus pyridinivorans</i> PDB9 ^T на жидкой среде |
|------------------|---------------------------------------|---|
| Co ²⁺ | 30 | + |
| | 60 | – |
| Zn ²⁺ | 30 | ++ |
| | 60 | ++ |
| Ni ²⁺ | 30 | ++ |
| | 60 | ++ |
| Pb ²⁺ | 10 | + |
| | 20 | ++ |
| Sn ²⁺ | 15 | + |
| | 30 | ++ |
| Cu ²⁺ | 15 | ++ |
| | 30 | ++ |

Примечание: ++ – рост во всей толще пробирки, + – рост в виде пленки, – отсутствие роста

Следует отметить, что отсутствие роста выделенного штамма отмечено только при добавлении кобальта в концентрации 60 мг/л. В остальных случаях

высокие концентрации меди, цинка, никеля, свинца и олова не вызывали остановку роста *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T, что указывало на толерантность данного штамма к загрязнению тяжелыми металлами.

Для выделенного штамма *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T была изучена эмульгирующая активность по отношению к дизельному топливу (ДТ), бензину и керосину. Инкубирование бактериальной суспензии производилось при температуре 28 °С в течение суток. Измерения индекса эмульгации осуществляли через 2 и 24 часа.

Выделенный штамм *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T не обладал способностью к синтезу экзогенных биоПАВ. Вероятно, *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T обладает клеточно-связанными биосурфактантами, определявшими возможность выделенного штамма включать нефтяные углеводороды в метаболизм без необходимости их дисперсии во внешней среде. Для подтверждения этой теории производили оценку гидрофобных свойств клеток методом количественного определения гидрофобности поверхности клеток, разработанным Розенбергом в модификации Серебряковой [Серебрякова, 2002]. В качестве гидрофобной фазы использовали хлороформ. Концентрацию клеток в суспензии определяли с помощью фотокolorиметра. Уменьшение коэффициента поглощения водной фазы использовали как меру гидрофобности поверхности клеток. Исследования показали, что показатель гидрофобности клеточных стенок выделенной культуры составлял 48%.

В целом, штамм *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T использовал в качестве источника энергии нефть и фенол, обладал устойчивостью к воздействию тяжелых металлов, не синтезировал экзобиосурфактантов, но при этом клеточная стенка бактерий обладала гидрофобными свойствами, что делало штамм перспективным для дальнейшего изучения его свойств в целях возможного применения их в качестве микробного агента для биоремедиации нефтезагрязненной морской акватории.

5.4 Изучение деструкции нефти бактериальным штаммом

Деструкцию нефти изучали четырьмя способами: гравиметрический метод показывал суммарную убыль нефти, флуометрический метод определял изменение содержания полиароматических углеводородов (ПАУ), ИК-спектрометрия измеряло содержание алифатических углеводородов, методом газовой хроматографии определяли изменение содержания алканов.

Деградацию нефти гравиметрическим методом проводили в морской воде и жидкой минеральной среде Теппера [Теппер, 2004]. Результаты исследований показали, что в морской воде убыль нефти в контрольных пробах без внесения суспензии бактерий к 30 суткам достигала 13,3% (рисунок 5.4.1).

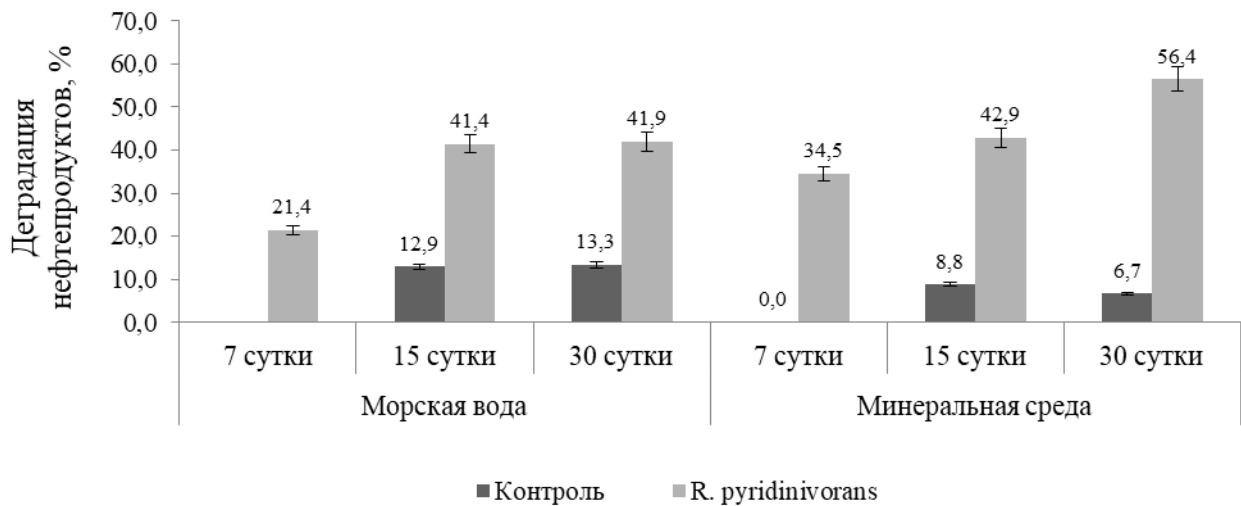


Рисунок 5.4.1 – Деградация нефти (гравиметрический метод)

При внесении суспензии *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T уже на 7 сутки убыль нефти составила 21,4%, к 15 суткам деструкция углеводородов повышалась до 41,4% и практически не изменялась до конца эксперимента. В минеральной среде динамика деструкции нефти несколько отличалась (рисунок 5.4.1). В контрольной пробе убыль нефти была 6,67–8,82%. Максимальную деструкцию *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T продемонстрировал в первые 7 суток эксперимента (34,5%), в последующем степень деградации нефти повышалась до

56,4% на 30-е сутки, однако интенсивность процесса снижалась. В целом показатели убыли нефти в минеральной среде на 30-е сутки были выше, чем в морской воде, в то время как на 15-е сутки показатели в морской воде и минеральной среде были близки. Это свидетельствовало о дефиците в морской воде биогенных элементов, в первую очередь азотистых соединений, необходимых для роста бактерий, и указывало на необходимость добавления солей азота для более продуктивной деструктирующей активности культуры.

Результаты деградации нефти на минеральной среде Теппер с использованием флуометрии показали, что процент убыли углеводородов полиароматического ряда с использованием *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T превышал значение контроля более, чем в 2 раза (рисунок 5.4.2).

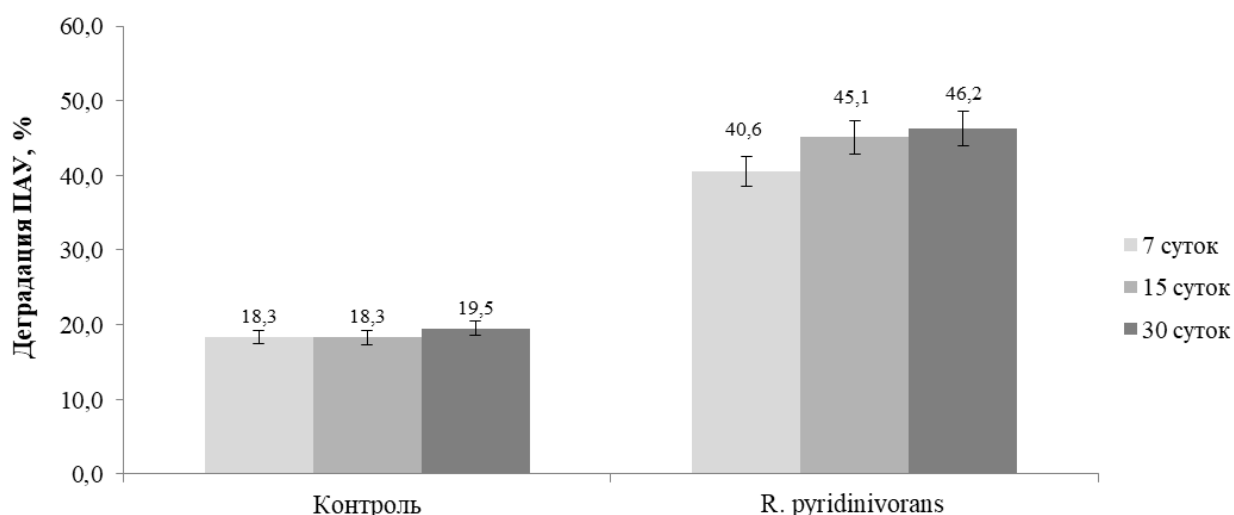


Рисунок 5.4.2 – Деградация полиароматических углеводородов (ПАУ)

К 30-м суткам деградация ПАУ в пробе, содержащей штамм *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T, возростала незначительно.

Деградацию нефти методом ИК-спектрометрии, позволяющей определить массовую концентрацию алифатических углеводородов проводили на минеральной среде Теппера (рис 5.4.3).

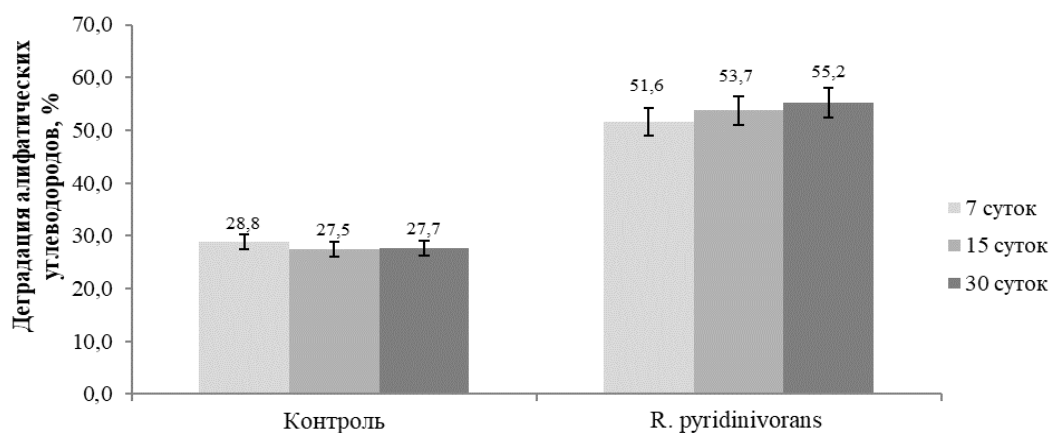


Рисунок 5.4.3 – Деградация алифатических углеводов

Результаты исследований показали, что степень деструкции алифатических углеводов, определяемых методом ИК-спектрометрии, практически постоянна на всем протяжении эксперимента (51,6–55,2%). Максимальную деструкцию штамм проявлял в первые 7 суток. К 30-м суткам деградация алифатических углеводов возростала незначительно.

С помощью ИК-спектрометра определяли не только остаточное содержание нефтепродуктов, но и содержание в инокуляте жиров. В контрольной пробе, не содержащей бактериальный штамм, содержание жиров было стабильно низким на протяжении всего эксперимента (рисунок 5.4.4).

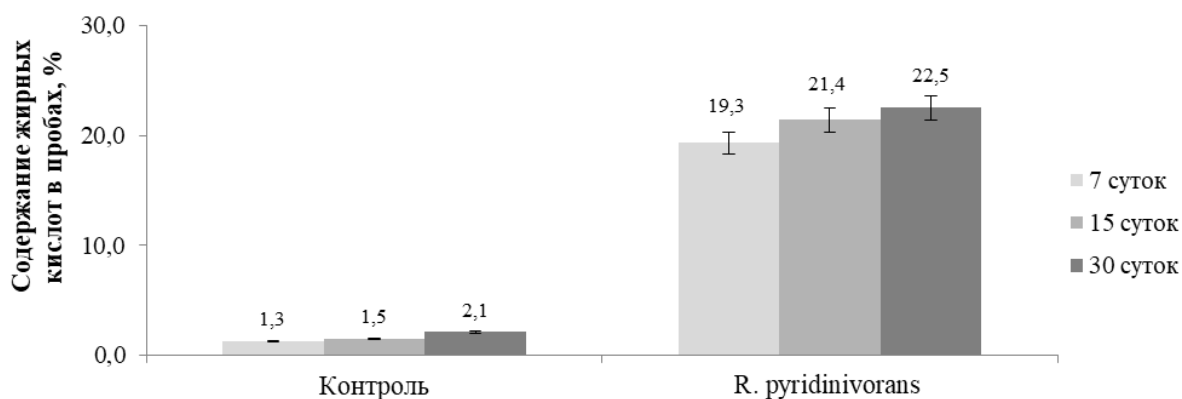


Рисунок 5.4.4 – Содержание жирных кислот в контрольной пробе и пробе, содержащей *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T

В пробах, содержащих *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T, уже на 7-е сутки содержание жиров превышало контрольные показатели более чем в 10 раз и продолжало увеличиваться до конца эксперимента. Такая динамика содержания жирных кислот в пробах с бактериальным штаммом наряду с общим сокращением алифатических углеводородов указывала на то, что бактериальный штамм не только разрушал широкий спектр нефтяных углеводородов, но и, вероятно, переводил часть из них в другое состояние (жиры, жирные кислоты), делая их более доступными для других групп микроорганизмов.

Деструкцию нефти бактериальным штаммом *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T изучали также методом газовой хроматографии. В контрольной пробе общая убыль углеводородов алканового ряда в течение 15 суток не превышала 17,87% (рисунок 5.4.5).

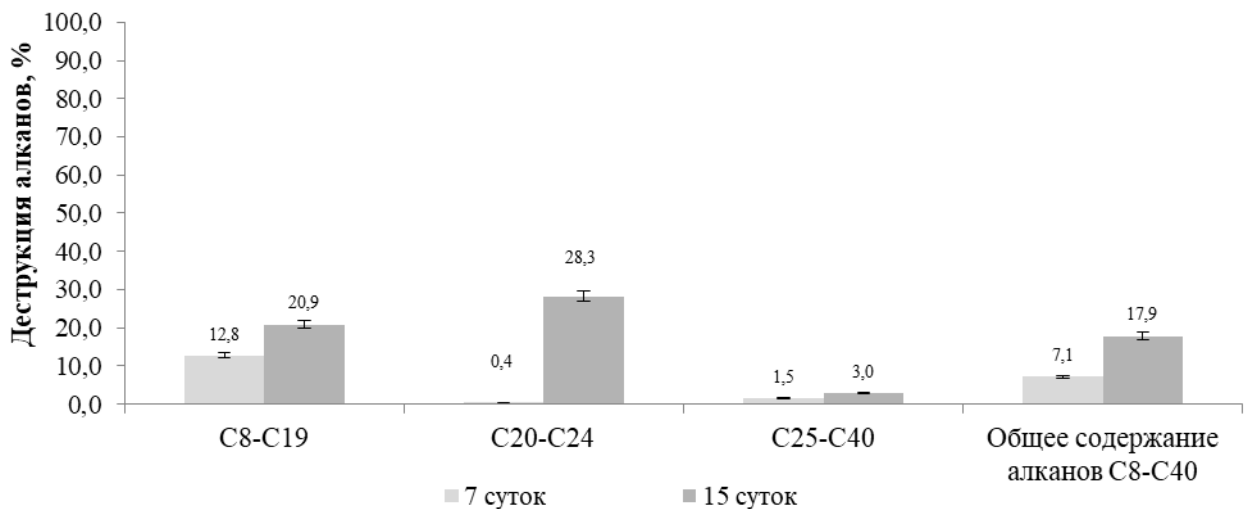


Рисунок 5.4.5 – Деструкция алканов в контрольной пробе

В контрольной пробе уменьшение количества алканов обусловлено улетучиванием ряда легких и средних фракций (C8-C24). Содержание углеводородов с длиной цепи C25-C40 изменялось незначительно.

В экспериментальных пробах, содержавших штамм *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T, основная дегградация алкановых углеводородов с длиной

цепи C8-C24 отмечена в период 7-15 сутки, тяжелые фракции вовлекались в метаболизм на первой неделе эксперимента (рисунок 5.4.6).

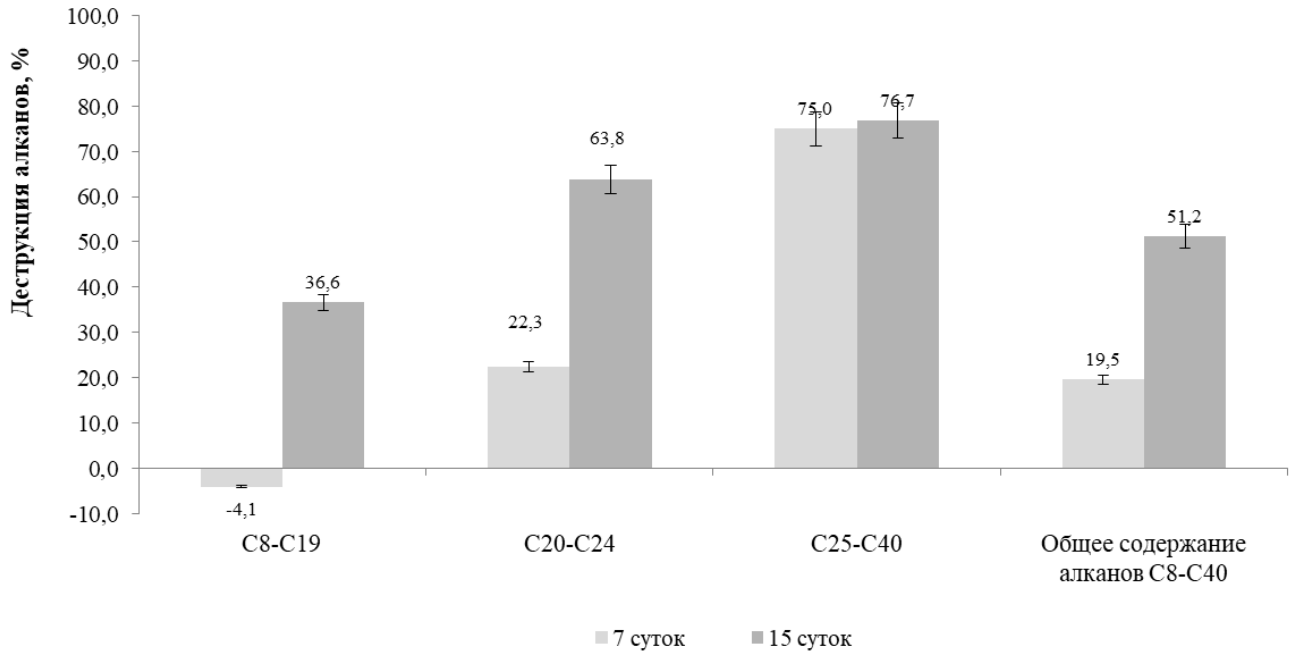


Рис 5.4.6 – Деструкция алканов в пробе, содержащей *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T

Общая деградация нефтяных углеводородов алканового ряда достигала 51,2% концу эксперимента. Максимальную убыль отмечали для алканов с длиной углеродной цепи C25-C40 (рисунок 5.4.7).



а



б



в

Рисунок 5.4.7 – Изменение содержания алканов с разной длиной углеродной цепи в пробах, содержащих *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T, до начала эксперимента (а), через 7 суток (б) и через 15 суток (в).

В целом, выделенный штамм актинобактерий *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T обладал способностью деструктировать практически весь спектр алкановых углеводородов.

Таким образом, из воды северной части Каспийского моря методом постановки жидких накопительных культур изолирован штамм актинобактерий, способный к росту на минеральных средах с добавлением нефти в качестве единственного источника энергии и углерода. Выделенный штамм не проявлял факторов патогенности в виде гемолитической, протеолитической, ДНК-зной и лецитиназной активностей, а также обладал чувствительностью к антибиотикам, что указывало на потенциальную безопасность его применения в биоремедиации нефтяного загрязнения. В качестве источника энергии бактериальный штамм

использовал не только нефть, но и фенол, а также обладал устойчивостью к воздействию высоких концентраций тяжелых металлов (кобальт, цинк, никель, свинец, олово, медь). Выделенный штамм *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T не синтезировал экзосурфактанты, однако обладал гидрофобной клеточной стенкой.

Исследование деструкции нефти показало, что выделенный штамм способен утилизировать нефть и отдельные ее фракции. Так, с помощью гравиметрического метода определено, что деградация нефти штаммом на минеральной среде (34–56%) превышала деструкцию в морской воде (21–41%), что указывало на необходимость добавления в культуральную жидкость источников биогенных элементов, в том числе азота. Бактериальный штамм утилизировал полиароматические углеводороды, алифатические углеводороды и алканы с различной длиной углеродной цепи. В целом, выделенный из воды Северного Каспия аборигенный штамм актинобактерий *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T являлся перспективным для использования его в качестве эффективного деструктора нефтяных загрязнений различной природы.

Результаты исследований, представленные в данной главе, опубликованы в [Дьякова, 2017; Дьякова, 2019; Дьякова, 2023].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в период проведения научных изысканий в 2013–2018 гг. на акватории в приглубой зоне западной части Северного Каспия определены количественные характеристики культивируемого бактериопланктона и бактериобентоса, определен их таксономический состав и биоразнообразие, исследованы патогенные свойства и антибиотикорезистентность выделенных бактерий, а также выделен новый штамм *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T, способный к активной деструкции нефти и отдельных ее компонентов.

На протяжении всего периода исследований ОЧБ обладала четкой цикличностью, ежегодно уменьшалась от весны к осени, изменяясь в пределах 1,0–2,1 млн кл./мл, в межгодовом аспекте оставалась достаточно стабильной. Ряд исследований, проведенных в 2000-2006 гг. [Результаты..., 2001; Результаты..., 2002; Результаты..., 2003; Результаты..., 2004; Результаты..., 2005; Результаты..., 2006], показали, что усредненные значения ОЧБ в аналогичном районе исследований соответствовали показателям 0,67–0,97 млн кл./мл. Сравнение данных демонстрировало сохраняющуюся тенденцию убывания ОЧБ по мере удаления от береговой линии и зоны непосредственного влияния речного стока, при этом в период 2013-2018 гг. отмечено увеличение общей численности бактериопланктона. Возрастание ОЧБ могло произойти как в результате изменения гидролого-гидрохимических факторов, определявших состояние микробиоты северной части Каспийского моря, так и быть следствием роста антропогенного воздействия на акваторию. Превалирующее влияние на общую численность бактериопланктона оказывал годовой сток, поскольку район исследований расположен в зоне непосредственной адвекции волжских вод. Значительная часть биогенных веществ также поступает на акваторию Северного Каспия с речным стоком и в процессе рециклинга.

Концентрация различных групп культивируемого гетеротрофного бактериопланктона различалась, при этом динамика численности сапротрофов,

УОБ и олиготрофов во временном аспекте была аналогичной. В Северном Каспии высокие значения численности сапротрофов и УОБ зарегистрированы в 2013 г. В период 2014-2018 гг. концентрация данных групп бактериопланктона значительно снизилась, рост численности сапротрофов и УОБ регистрировали в весенние периоды в многоводные 2016 и 2017 годы. Численность культивируемых гетеротрофных бактерий в приглубой зоне западной части Северного Каспия во многом определялась гидрохимическими и биотическими показателями морской среды, а также речным стоком. Так, 2013 и 2016 гг. определены как многоводные годы [Дьякова, 2018], что в большей степени обуславливало развитие различных групп культивируемых гетеротрофных бактерий в воде приглубой зоны западной части Северного Каспия. Уменьшение концентрации сапротрофов и УОБ в составе бактериальных сообществ воды на порядок в 2014 г. и стабилизация численности данных бактерий в районе 1–3 тыс. КОЕ/мл указывало на активные процессы самоочищения морской среды, в том числе от аллохтонных бактериальных компонентов, которые периодически вызывали резкое увеличение численности культивируемой гетеротрофной микробиоты.

Согласно исследованиям, проведенным в начале XXI в., средняя численность сапротрофных бактерий находилась на уровне 8,85 тыс. КОЕ/мл. В период 2013–2018 гг. количество сапротрофов находилось на уровне 10,83 тыс. КОЕ/мл, при этом огромное влияние на среднегодовое значение численности бактерий оказал отмеченный в 2013 г. максимум, который носил временный характер. Начиная с 2014 г. среднегодовое количество сапротрофного бактериопланктона находилось на уровне 2,81 тыс. КОЕ/мл, что три раза уступало аналогичному показателю в начале века. Уменьшение концентрации сапротрофов в воде наряду с одновременным ростом ОЧБ могло косвенно указывать на происходящие адаптационные процессы внутри водного микробного сообщества на фоне возрастающего антропогенного прессинга, в особенности за счет активного освоения нефтяных месторождений Северного Каспия. Такая динамика изменения концентрации сапротрофов и ОЧБ носила, скорее, положительный характер ввиду уменьшения доли сапротрофных микроорганизмов в

бактериопланктоне, поскольку входящие в состав сапротрофов условно-патогенные бактерий представляли потенциальную угрозу эпизоотическому состоянию экосистемы северной части Каспийского моря. Улучшение микробиологической ситуации в районе исследований подтверждалось также увеличением показателя коэффициента K с 132,20 по данными начала XXI в. до 1479,43 в период 2013–2018 гг., что могло указывать на снижение процесса эвтрофикации вод. Следует отметить, эвтрофирование вод западной части Северного Каспия имело место и в период исследований, поскольку на большей части обследованной акватории качество воды характеризовалось как мезосапробная, в основном за счет высоких значений ОЧБ в воде. Повышенная трофность подтверждалась также высоким соотношением сапротрофы/олиготрофы, что указывало на дисбаланс естественной гетеротрофной морской микробиоты.

В современный период регистрировали уменьшение численности УОБ (1,88 тыс. КОЕ/мл) по сравнению с данными, полученными в начале XXI в. (5,98 тыс. КОЕ/мл), что обусловлено общим снижением численности культивируемого гетеротрофного бактериопланктона. Соотношение УОБ/сапротрофы снизилось почти в 2 раза с 60% до 37%. Данные изменения соотношений в культивируемом гетеротрофном микробном сообществе воды носили неоднозначный характер. С одной стороны, высокая доля УОБ в гетеротрофном бактериопланктоне определяла вероятность высокого содержания углеводов в спектре питания микроорганизмов. С другой стороны, изменения соотношений в гетеротрофном бактериопланктоне в сторону уменьшения УОБ могли негативно отразиться на процессах самоочищения морской среды, в том числе за счет снижения показателей ассимиляционного потенциала воды по величине бактериальной деградации нефтепродуктов. При этом соотношение УОБ/сапротрофы по-прежнему регистрировали на достаточно высоком уровне для обеспечения активного процесса деструкции нефтяных поллютантов.

В донных отложениях приглубой зоны западной части Северного Каспия в 2013-2018 гг. регистрировали четкую сезонную цикличность концентрации

культивируемых сапротрофных бактерий, которую обуславливал ряд гидрологических и гидрохимических факторов, в частности, волжский сток определял развитие бактериального бентоса в весенние периоды. Уменьшение концентрации культивируемых гетеротрофных бактерий в летние периоды обусловлено процессом самоочищения акватории от аллохтонных микроорганизмов и органических веществ, а увеличение численности бактериобентоса к осени определялось высоким теплозапасом и концентрированием доступного органического вещества в донных осадках. Соотношение УОБ/сапротрофы в грунтах изменялось от 6 до 57%, что свидетельствовало об адаптивности бактериобентоса к нефтяным углеводородам и возможности использования данных соединений в качестве источника питания.

В период исследований 2013–2018 гг. среднегодовое содержание сапротрофов в донных отложениях приглубой зоны западной части Северного Каспия составляло 93,07 тыс. КОЕ/г, что было в 2–3 раза ниже по сравнению с данными, полученными исследователями в начале XXI в. [Умербаева, 2003; Результаты..., 2001; Результаты..., 2002; Результаты..., 2003; Результаты..., 2004; Результаты..., 2005; Результаты..., 2006]. При этом относительно УОБ, напротив отмечали рост численности данной группы бактериобентоса в 1,5 раза с 11,3–13,7 тыс. КОЕ/г [Умербаева, 2003; Результаты..., 2001; Результаты..., 2002; Результаты..., 2003; Результаты..., 2004; Результаты..., 2005; Результаты..., 2006] до 18,6 тыс. КОЕ/г (среднегодовое значение за период 2013–2018 гг.). Соотношение УОБ и сапротрофов в донных отложениях увеличивалось с 5% в начале XXI в. до 20% в современный период, что указывало на расширение метаболического потенциала бактериальных сообществ донных отложений за счет использования в качестве питательного субстрата нефтяных углеводородов, и положительно влияло на процесс самоочищения биотопа от нефтяного загрязнения.

Изучение таксономического состава культивируемой сапротрофной и углеводородокисляющей микробиоты воды и донных отложений показало практически полную идентичность биоразнообразия бактерий в элективных

условиях. В накопительных культурах воды преобладали представители сем. Pseudomonadaceae и Vibrionaceae, в донных отложениях чаще отмечали бактерии сем. Pseudomonadaceae и грамположительные формы. Сезонная динамика встречаемости видов практически отсутствовала. Чаще остальных в накопительных культурах отмечали бактерии р. *Pseudomonas*. Среди непостоянных членов выделяли условно-патогенные бактерии *Aeromonas sp.*, *Enterococcus sp.*, *Moraxella sp.*, а также бактерии сем. Enterobacteriaceae (*Citrobacter sp.*, *Edwardsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia sp.*, *Hafnia sp.*, *Klebsiella sp.*, *Proteus sp.*, *Providencia sp.*, *Salmonella sp.*, *Serratia sp.*, *Shigella sp.*), регистрация которых в пробах воды и грунта указывала на напряженное экологическое состояние морской акватории ввиду высокого антропогенного прессинга. Некоторые выделенные бактерии обладали одним или несколькими факторами патогенности и множественной антибиотикорезистентностью и представляли потенциальную опасность для гидробионтов и человека. Изучение биоразнообразия выделенных в селективных условиях бактерий показало, что видовое богатство сапротрофов и УОБ в накопительных культурах воды и грунта невелико, при этом в воде также отмечена тенденция к сокращению биоразнообразия как в период 2013–2018 гг, так и по сравнению с ранее опубликованными данными [Лисицкая, 2008, Ларцева, 2011]. В донных отложениях биоразнообразие сапротрофов отличалось большей стабильностью по сравнению с водой. В биоразнообразии УОБ обоих экотопов регистрировали преобладание доминантных таксонов, значения индекса Симпсона для УОБ был выше, чем для сапротрофов. Снижение биоразнообразия сапротрофов и УОБ, выделенных в селективных условиях, за счет увеличения встречаемости некоторых таксонов могло косвенно указывать на стрессирование бактериальных сообществ акватории.

В целом, комплексное изучение различных групп бактериопланктона и бактериобентоса показало тесную взаимосвязь как внутри физиологических групп, так и в общем двух экотопов. Максимумы и минимумы численности бактерий приходились на одни и те же временные промежутки, таксономический

состав бактерий, выделенных из воды и грунта, был практически идентичен. При этом в бактериопланктоне отмечали большую адаптивность к нефтяному загрязнению, чем в бактериобентосе, что, учитывая комплекс факторов, влияющих на деградацию нефти в море (аэрация, доступность биогенов, фракционный состав нефтяных углеводородов), указывало на значительно большую уязвимость донного экотопа к возможному нефтяному загрязнению. Если во временном аспекте в количественных характеристиках, определявших состояние бактериальных сообществ воды и донных отложений приглубой зоны западной части Северного Каспия, отмечена тенденция к улучшению микробиологического состояния за счет снижения трофности и увеличения соотношения УОБ и сапротрофов, то снижение биоразнообразия сапротрофного и углеводородокисляющего бактериопланктона и бактериобентоса, наряду частой регистрацией в накопительных культурах условно-патогенных бактерий, обладавших факторами патогенности и множественной антибиотикорезистентностью, косвенно указывало на стрессирование бактериальных сообществ исследованной акватории. В случае обострения нефтяного загрязнения на акватории Северного Каспия, в том числе в результате аварийного разлива, частая встречаемость в микробном сообществе представителей рода *Pseudomonas*, вероятно, не обеспечит полной биоремедиации морской среды, поскольку, как показали результаты проведенного скрининга наиболее эффективных УОБ, бактерии рода *Pseudomonas* неспособны к длительному выживанию в среде со значительным содержанием поллютанта, в то время как новый выделенный штамм *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T демонстрировал не только высокую степень утилизации нефтяных углеводородов, но и безопасность за счет отсутствия факторов патогенности и множественной антибиотикорезистентности, что делало его перспективным объектом для использования в биоремедиационных процессах.

ВЫВОДЫ

1. Средние значения общей численности бактерий в воде исследованной акватории в период 2013–2018 гг. ежегодно снижались от весны к осени. Сезонная динамика численности культивируемых сапротрофных, углеводородокисляющих и олиготрофных бактерий была разнонаправленной. В период исследований отмечен тренд на снижение численности сапротрофного, углеводородокисляющего и олиготрофного бактериопланктона. Соотношение УОБ и сапротрофов в воде изменялось от 10,08 до 85,86%, коэффициент трофности K_T – от 0,38 до 8,87.

2. В донных отложениях ежегодно максимум численности сапротрофов отмечен в весенний период, к лету концентрация бактерий сокращалась, а к осени возрастала. Динамика численности УОБ и олиготрофных бактерий не имела определенной сезонной направленности. Соотношение УОБ и сапротрофов в донных отложениях изменялось от 6,71 до 57,92%, коэффициент трофности K_T – от 0,67 до 20,41.

3. Наиболее значимыми гидролого-гидрохимическими параметрами морской среды для бактериальных сообществ исследуемой акватории являлись объем волжского стока в весенний период и концентрация минеральных форм азота и кремния летом и осенью.

4. Сезонные различия в таксономическом составе культивируемых сапротрофных и углеводородокисляющих бактерий не выявлены, доминантами являлись представители р. *Pseudomonas*. Наиболее распространенным фактором патогенности у бактерий являлась протеолитическая активность (до 51%), антибиотикорезистентность проявляли 84–100% культивируемых бактерий.

5. Выделенный и идентифицированный по гену 16S рРНК новый штамм *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9^T обладал гидрофобной активностью и активной деструкцией нефти до 56%, в том числе алканов, полиароматических и алифатических углеводородов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Абдуллин, И.М. Антибиотики в клинической практике / И.М. Абдуллин, Д.К. Баширова, А.А. Визель. – Казань: ГП ВЭО «Самалат», 1997. – 234 с.

Абдурахманов, Г.М. Влияние загрязнения на биологическое разнообразие Волжско-Каспийского бассейна / Г.М. Абдурахманов, Г.А. Ахмедова // Проблемы сохранения экосистемы Каспия в условиях освоения нефтегазовых месторождений: Материалы первой междунар. науч.-практ. конф. – Астрахань: Изд-во КаспНИРХ, 2005. – С. 11–13.

Абуталиева, И.Р. Нефтегазоносность и основные источники углеводородного загрязнения Северного Каспия / И.Р. Абуталиева // Вестник Астраханского государственного технического университета. – 2005. – № 6. – С. 158–162.

Агатова, А.И. Органическое вещество Каспийского моря / А.И. Агатова, К.Б. Кирпичев, Н.М. Лапина, О.Н. Лукьянова // Океанология. – 2005. – Т. 45. – № 6. – С. 841-850.

Акулова, А.Ю. Состояние гетеротрофного бактериопланктона прибрежья озер Святое и Белое природно-исторического парка «Косинский» (город Москва) в 2011 году / А.Ю. Акулова, В.В. Ильинский, И.В. Мошарова, М.И. Москвина, С.А. Мошаров, Т.И. Комарова // Известия Самарского научного центра РАН. – 2014. – Т.16. – №1. – С. 1185–1192.

Анганова, Е.В. Способность патогенных и условно-патогенных энтеробактерий к формированию биопленок / Е.В. Анганова, Е.Д. Савилов, О.А. Ушкарева // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2014. – № 5(99). – С. 34-37.

Андрианова, С.Б. Динамика уловов, численности и запасов большеглазого пузанка *Alosa saposchnikowii* (Grimm) в Северном Каспии / С.Б. Андрианова, В.В. Барабанов // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия Рыбное хозяйство. – 2012. – №2. – С.13–18.

Аполлов, Б. А. Каспийское море и его бассейн / Б.А. Аполлов. - М. : Изд-во АН СССР, 1956. – 120 с.

Балданова, К.О. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022621781 Российская Федерация. Нефтеокисляющие бактерии донных отложений северной части Японского моря : № 2022621633 : заявл. 05.07.2022 : опубл. 20.07.2022 / К.О. Балданова, Р.А. Григоров, А.И. Еськова ; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева Дальневосточного отделения Российской академии наук.

Безвербная, И.П. Металлоустойчивые гетеротрофные бактерии в прибрежных акваториях Приморья / И.П. Безвербная, Л.С. Бузолева, Н.К. Христофорова // Биология моря. – 2005. – Т. 31. – № 2. – С. 89–93.

Биологическая продуктивность Каспийского моря. – М.: Наука, 1974. – 248 с.

Бузолева, Л.С. Биологические свойства морских нефтеуглеводородоокисляющих бактерий из прибрежных акваторий дальневосточных морей с разным характером загрязнения / Л.С. Бузолева, М.А. Смирнова, И.П. Безвербная // Известия ТИНРО. – 2008. – Т. 155. – С. 210–218.

Бузолева, Л.С. Изучение нефтеокисляющей способности бактерий, выделенных из прибрежных вод юга о. Сахалин / Л.С. Бузолева, Е.А. Богатыренко, М.А. Репина, Н.Л. Белькова // Микробиология. – 2017. – Т. 86, № 3 – С. 317–325. 28.

Бузолева, Л.С. Микробиологическая оценка прибрежных вод. Учебно-полевая практика: учебное пособие / Л.С. Бузолева. – Владивосток: Изд-во ТИНРО-центр, 2012. – 72 с.

Бутаев, А.М. Влияние нефтяного загрязнения на геохимические процессы в природных водах бассейна Каспийского моря / А.М. Бутаев // Проблемы сохранения экосистемы Каспия в условиях освоения нефтегазовых месторождений: Материалы первой междунар. науч.-практ. конф. – Астрахань: Изд-во КаспНИРХ, 2005. – С 46–49.

Бутаев, А.М. О роли углеводородокисляющих микроорганизмов в процессе самоочищения прибрежных вод / А.М. Бутаев // Вестник Дагестанского научного центра РАН. – 2002. - № 11. – С. 44–51.

Буткевич, В.С. О бактериальном населении Каспийского и Азовского морей / В.С. Буткевич // Микробиология. – 1938. – Т. 7. – Вып. 9 10. – С. 1021 - 1055.

Бухарин, О.В. Механизмы выживания бактерий / О.В. Бухарин, А.Л. Гинцбург, Ю.М. Романова, Г.И. Эль-Регистан. – М.: Медицина, 2005. – 367 с.

Бухарин, О.В. Микробиология биоценозов природных водоемов / О.В. Бухарин, Н.В. Немцева. – Екатеринбург: УрО РАН, 2008. – 156 с.

Бухарицин, П.И. Современные гидрологические исследования и прогнозы в дельте Волги и Каспийском море / П.И. Бухарицин // Водные ресурсы Волги: настоящее и будущее, проблемы управления : сб. статей Всерос. науч.-практич. конф. – Астрахань, 2008. – С. 53–67.

Верхозина, Е.В. Выявление антибиотикоустойчивых микроорганизмов в экстремальных местообитаниях экосистемы озера Байкал / Е.В. Верхозина, В.А. Верхозина, Е.Д. Савилов, Е.В. Анганова // Экология и геохимическая деятельность микроорганизмов экстремальных местообитаний: Матер. междунар. конф. – Улан-Удэ -Улан-Батор. – 2011. – С. 46–48.

Винокуров, И.В. Стратегия биоремедиации нефтезагрязненных водных экосистем / В.А. Винокуров, И.В. Ботвинко, Е.А. Сребняк, М.А. Шпакова, Д. Чжан // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2012. – № 10. – С. 27-32.

Войнова, М.В. Методические подходы к определению районов повышенной экологической значимости на акватории Северного Каспия / М.В. Войнова, Д.В. Кашин, Е.В. Островская, Е.В. Колмыков // Астраханский вестник экологического образования. – 2018. – № 4(46). – С. 85-92.

Володина, В.В. Условно-патогенная микрофлора каспийского тюленя (*Phoca caspica*) и среды его обитания в условиях антропогенного прессинга / В.В. Володина, С.А. Дьякова // Труды ВНИРО. – 2016. – Т. 162. – С. 87-96.

Волченко, Н.Н. Влияние условий культивирования на поверхностно – активные свойства углеводородокисляющих бактерий : Автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.28 / Волченко Никита Николаевич; Ставропольский государственный университет. – Ставрополь, 2006. – 21 с.

Волченко, Н.Н. Скрининг у углеводородокисляющих бактерий - продуцентов поверхностно - активных веществ биологической природы и их применение в опыте по ремедиации нефтезагрязнённой почвы и нефтешлама / Н.Н. Волченко // Биотехнология. – 2006. – № 2. – С. 57-62.

Гаврилов, В.П. Экологические проблемы Каспийского моря / В.П. Гаврилов // Труды Российского государственного университета нефти и газа имени И.М. Губкина. – 2011. – № 4(265). – С. 37-45.

Гаджиев, М.М. О сохранении биоразнообразия / М.М. Гаджиев, З.А. Шахмарданов // Российский научный мир. – 2014. – № 1(3). – С. 87-93.

Гоголева, О.А. Каталазная активность углеводородокисляющих бактерий: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.03 / Гоголева Ольга Александровна; Оренбургская государственная медицинская академия. – Оренбург, 2012. – 19 с.

ГОСТ 17.1.2.04-77 Охрана природы. Гидросфера. Показатели состояния и правила таксации рыбохозяйственных водных объектов. – М.: ИПК Издательство стандартов, 2000. – 12 с.

ГОСТ 17.4.4.04–2017. Охрана природы (ССОП). Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа. – М.: Стандартиформ, 2018. – 21 с.

ГОСТ 31942–2012. Вода. Отбор проб для микробиологического анализа. – М.: Стандартиформ, 2013. – 40 с.

ГОСТ 31953-2012. Вода. Определение нефтепродуктов методом газовой хроматографии. – М.: «Московский печатник», 2019. – 19 с.

ГОСТ ISO 6222-2018 Качество воды. Подсчет культивируемых микроорганизмов. Подсчет колоний при посеве в питательную агаризованную среду. – М.: Стандартиформ, 2020. – 10 с.

Гриднева, В.В. Аборигенные углеводородокисляющие микроорганизмы в биоремедиации Северного Каспия от нефтяного загрязнения / В.В. Гриднева // Юг России: экология, развитие. – 2010. – №4. – С. 78-80.

Давыдова, С.Л. Нефть и нефтепродукты в окружающей среде : учеб. пособие / С.Л. Давыдова, В.И. Тагасов. – М.: Изд-во РУДН, 2004. – 163 с.

Дагурова, О.П. Микробиологические показатели вод пресных озер Бурятии / О.П. Дагурова, Б.В. Цыденова, С.П. Бурюхаев, С.В. Зайцева, В.Б. Дамбаев, Л.П. Козырева // Вестник Бурятского государственного университета. Биология, география. – 2019. – № 3. – С. 61-66.

Дегтярева, Л.В. Влияние органического углерода в донных отложениях Северного Каспия на состояние кормовой базы и уловы промысловых видов рыб : специальность 06.04.01 "Рыбное хозяйство и аквакультура" : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Дегтярева Лариса Вячеславовна. – Астрахань, 2017. – 137 с.

Дегтярева, Л.В. Влияние факторов среды на межгодовую динамику содержания органического углерода в донных отложениях Северного Каспия / Л.В. Дегтярева // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. – 2013. – № 2. – С. 35-41.

Дегтярева, Л.В. Зоны повышенного экологического риска в Северном Каспии / Л.В. Дегтярева // Биоразнообразие, рациональное использование биологических ресурсов и биотехнологии : Материалы Международной научно-практической онлайн-конференции, Астрахань, 08 декабря 2020 года. – Астрахань: Астраханский государственный университет, Издательский дом "Астраханский университет", 2021. – С. 127-129.

Демидов, Е.А. Применение малди времяпролетной масс-спектрометрии для идентификации микроорганизмов / Е.А. Демидов, К.В. Старостин, В.М. Попик, С.Е. Пельтек // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. – Т.17, №4-1. – С. 758-764.

Джусупова, Д.Б. Углеводородокисляющая микрофлора акватории Каспия, загрязненной нефтью и нефтепродуктами // Материалы международной

конференции «Проблемы биодеструкции техногенных загрязнителей окружающей среды». – Саратов, 2005. – С. 67-68.

Добровольский, А.Д. Моря СССР / А.Д. Добровольский, Б.С. Залогин – М.: Изд-во Московского ун-та, 1982. – 192 с.

Другов, Ю.С. Экологическая аналитическая химия: учеб. пособие / Ю.С. Другов. – СПб: Анатолия, 2000. – 432 с.

Дьякова, С.А. Бактериальные гетеротрофные изоляты Каспийского моря, трансформирующие нефть и нефтепродукты / С.А. Дьякова, Н.В. Карыгина, О.Б. Сопрунова // Известия Уфимского научного центра РАН. – 2017. – № 3-1. – С. 63-66.

Дьякова, С.А. Современное состояние микрэкосистемы Северного Каспия / С.А. Дьякова, Е.Р. Галяутдинова, Е.Г. Лардыгина // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. – 2018. – № 4. – С. 30-38.

Дьякова, С.А. Изучение деструкции и трансформации нефти и нефтепродуктов бактериальными изолятами / С.А. Дьякова, Н.В. Карыгина, О.Б. Сопрунова // Экобиотех. – 2019. – Т. 2. – № 3. – С. 253-256.

Дьякова, С.А. Состояние бактериопланктона Северного Каспия в современных условиях / С.А. Дьякова, О.Б. Сопрунова, Е.Р. Галяутдинова [и др.] // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. – 2021. – № 4. – С. 31-38.

Дьякова, С.А. Микробиоценоз донных отложений Северного Каспия / С.А. Дьякова, О.Б. Сопрунова, Е.Р. Галяутдинова, А.В. Менькова // Изучение водных и наземных экосистем: история и современность : Тезисы докладов II Международной научно-практической конференции, Севастополь, 05–09 сентября 2022 года. – Севастополь: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр "Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН", 2022. – С. 158-159.

Дьякова, С.А. Штамм *Rhodococcus pyridinivorans* PDB9T как перспективный агент для биоремедиации нефтезагрязненных морских вод / С.А.

Дьякова, О.Б. Сопрунова // Новейшие технологии освоения месторождений углеводородного сырья и обеспечение безопасности экосистем Каспийского шельфа : Материалы XIII Международной научно-практической конференции, Астрахань, 12–13 октября 2022 года. – Астрахань: Астраханский государственный технический университет, 2022. – С. 228-231.

Дьякова, С.А. Применение микробиологических методов для оценки состояния морской акватории в районах освоения углеводородного сырья / С.А. Дьякова, А.В. Менькова, О.Б. Сопрунова // Новейшие технологии освоения месторождений углеводородного сырья и обеспечение безопасности экосистем Каспийского шельфа : Материалы XIV Международной научно-практической конференции, Астрахань, 11–12 октября 2023 года. – Астрахань: Астраханский государственный технический университет, 2023. – С. 327-330.

Дьякова, С.А. Исследование патогенной активности и антибиотикорезистентности культивируемых гетеротрофных бактерий, выделенных из воды и донных отложений приглубой зоны западной части Северного Каспия / С.А. Дьякова, А.В. Менькова, Е.Р. Кирюхина, О.Б. Сопрунова // Рыбоводство и рыбное хозяйство. – 2024. – Т.18, №1(216). – С. 34-44.

Егоров, Н.С. Основы учения об антибиотиках: Учеб. пособие. 6-е изд. / Н.С. Егоров. – М.: МГУ, Наука, 2004. – 258 с.

Егоров, Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии: учеб. пособие / Под ред. Егорова Н.С. – М.: Изд-во МГУ, 1995. – 224 с.

Елисеев, С.А. Поверхностно-активные вещества и биотехнология : учеб. пособие / С.А. Елисеев. – Киев: Наукова думка, 2001. – 60 с.

Емцев, В.Т., Микробиология: учебник для вузов / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 445 с.

Еськова, А.И. Биотические факторы среды, влияющие на выживаемость листерий в морских экосистемах / А.И. Еськова, Л.С. Бузолева, А.В. Ким, Е.А. Богатыренко, Ю.С. Голозубова // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 5. – С. 294–304.

Жуков, Д.В. Закономерности функционирования углеводородокисляющих микроорганизмов при биоремедиации нефтяных загрязнений : Автореф. дис. ... канд. хим. наук: 03.00.23 / Жуков Дмитрий Вячеславович; Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова. – М., 2007. – 25 с.

Жукова, А.И. Биомасса микроорганизмов донных осадков Северного Каспия // Микробиология. – 1955. – Т. 24. – вып. 3. – С. 321-324.

Журавлёв, П.В. Антибиотикорезистентность бактерий, выделенных из воды открытых водоемов / П.В. Журавлев, О.П. Панасовец, В.В. Алешня, И.П. Казачок, Т.Н. Черногорова, Е.И. Деревякина // Здоровье населения и среда обитания - ЗНиСО. – 2015. – № 5(266). – С. 24-26.

Иванов, В.П. Биологические ресурсы Каспийского моря / В.П. Иванов. – Астрахань : Изд-во КаспНИРХ, 2000. – 100 с.

Иванов, В.П. Нефть и биологические ресурсы Каспийского моря: кн. «Прогноз и контроль геодинамической и экологической обстановок в регионе Каспийского моря в связи с развитием нефтегазового комплекса» / под ред. Д.Л. Федорова, Л.Н. Солодилова, С.В. Клубова. – М.: Научный мир, 2000. – 200 с.

Иванов, Д.В. Распространение и механизмы резистентности микроорганизмов штаммов бактерий / Д.В. Иванов, А.М. Егоров // Фарматека. – 2007. – № 8/9. – С. 159–168.

Израэль, Ю.А. Антропогенная экология океана / Ю.А. Израэль, А.В. Цыбань. – Л.: Гидрометеиздат, 1989. – 528 с.

Ильина, Е.Г. Разработка технологии биоочистки нефтяных и буровых отходов : Автореф. дис. ... канд. техн. наук: 03.00.23 / Ильина Елена Геннадьевна; Уфимский государственный нефтяной технический университет. – Уфа, 2002. – 22 с.

Ильинский, В.В. Гетеротрофный бактериопланктон: экология и роль в процессах естественного очищения среды от нефтяных загрязнений : Авто-реф. дис. ... докт. биол. наук: 03.00.18 / Ильинский Владимир Васильевич; Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова. - М., 2000. - 53 с.

Ильинский, В.В. Экологический мониторинг водных экосистем на основе нового микробиологического метода / В.В. Ильинский, И.В. Мошарова, М.Н. Корсак // Безопасность в техносфере. – 2016. – Т.5, №4. – С. 23-29.

Исакова, В.В. Антропогенные загрязнения природных геосистем Северного Каспия / В.В. Исакова // Вестник Астраханского государственного технического университета. – 2009. – № 1(48). – С. 82-84.

Каменщиков, Ф.А. Нефтяные сорбенты: учеб. пособие / Ф.А. Каменщиков, Е.И. Богомольный – М. – Ижевск: Изд-во НИЦ РХД, 2005. – 268 с.

Каспийское море. Гидрология и гидрохимия. – М. : Наука, 1986. - 262 с.

Катунин, Д.Н. Гидроэкологические основы формирования экосистемных процессов в Каспийском море и дельте реки Волги : монография / Д.Н. Катунин. – Астрахань : ФГУП "КаспНИРХ, 2014. – 478 с.

Катунин, Д.Н. Современное углеводородное загрязнение Каспийского моря и возможные последствия для экосистемы при широкомасштабном разворачивании нефтедобычи на шельфе / Д.Н. Катунин, П.П. Гераскин, Т.Ф. Курочкина и др. // Вестник МАНЭБ. – 1999. – № 9 (21). – С. 33-39.

Ким, А.В. Влияние антропогенного загрязнения на таксономическое разнообразие и биологические свойства культивируемых бактерий акваторий Приморского края : Дис. ... канд. биол. наук: 1.5.15 / Ким Александра Вячеславовна; ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН. – Владивосток., 2022. – 134 с.

Книпович, Н.М. Труды Каспийской экспедиции 1914–1915 гг. Гидрологические исследования в Каспийском море в 1914–1915 гг. Т.1. / Н.М. Книпович. – Петроград: Гос. изд-во. – 1921. – 943 с.

Колотова, О.В. Бактериальные сообщества пелагиали и донных отложений Северного Каспия в 2015-2016 гг. / О.В. Колотова, И.В. Соколова, И.В. Владимцева, Е.О. Шмелева, Н.Бю Водовский // Юг России: экология, развитие. – 2017. – Т.12. – №4. – С. 120-137.

Коронелли, Т.В. Видовая структура углеводородокисляющих бактериоценозов водных экосистем разных климатических зон / Т.В. Коронелли,

С.Г. Дермичева, В.В. Ильинский, Т.И. Комарова, О.В. Поршнева // Микробиология. – 1994. – Т. 63. – № 5. – С. 917-923.

Коронелли, Т.В. Микробиологическая деградация углеводов и ее экологические последствия / Т.В. Коронелли // Биологические науки. – 1982. - № 3. – С. 5–13.

Коронелли, Т.В. Нефтяное загрязнение и стабильность морских экосистем / Т.В. Коронелли, В.В. Ильинский, М.М. Семенов // Экология. – 1993. – № 4. – С. 78–91.

Коронелли, Т.В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводов в окружающей среде / Т.В. Коронелли // Прикладная биохимия и микробиология. – 1996. – Т. 32. – № 6. – С. 579–585.

Косарев, А.Н. Гидрология Каспийского и Аральского морей. / А.Н. Косарев. – М.: Изд-во МГУ, 1975. – 272 с.

Косолапов, Д.Б. Определение содержания активных клеток в бактериопланктоне Рыбинского водохранилища с помощью 5-циано-2,3-дитолилтетразолия: сравнение с другими методами / Д.Б. Косолапов, А.И. Копылов // Микробиология. – 2001. – Т. 70. – № 5. – С. 687–693.

Крисс, А.Е. Микробиология Каспийского моря / А.Е. Крисс // Успехи современной биологии. – 1956. – Т. 42, № 2 – 175-201 с.

Куликова И.Ю. Микроорганизмы в процессе самоочищения шельфовых вод Северного Каспия от нефтяного загрязнения: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.18: М., 2004. – 174 с.

Куликова, И.Ю. Видовое разнообразие углеводородокисляющих микроорганизмов / И.Ю. Куликова // Микроорганизмы в процессах деструкции и биоремедиации (проблемные лекции). – 2009. – С. 134–173.

Куликова, И.Ю. Микробиологическая оценка вод Северного Каспия в условиях освоения месторождений углеводородного сырья / И.Ю. Куликова // Исследовано в России. – 2005. – С. 1190–1198.

Куликова, И.Ю. Микробиологические способы ликвидации последствий аварийных разливов нефти в море / И.Ю. Куликова // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2008. – № 5. – С. 24–29.

Куликова, И.Ю. Углеродоокисляющая активность штамма *Pyllobacterium myrsinacearum* / И.Ю. Куликова // Исследовано в России. – 2006. – С. 1673–1681.

Курапов, А.А. Охрана природной среды при освоении нефтегазовых месторождений Северного Каспия : специальность 03.00.16 : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук / Курапов Алексей Александрович. – Махачкала, 2006. – 40 с.

Куюкина, М.С. Биосурфактанты актинобактерий рода *Rhodococcus*: индуцированный биосинтез, свойства и применение : Автореф. дис. ... док. биол. наук : 03.00.07 / Куюкина Мария Станиславовна; Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН. – М., 2006. – 48 с.

Лабинская, А.С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований. – СПб : Изд-во "Лань", 2021. – 588 с.

Ларцева, Л.В. Геоэкологические особенности антибиотикорезистентности микрофлоры внутренних водотоков / Л.В. Ларцева, А.А. Истелюева // Геология, география и глобальная энергия. – 2011. – № 3(42). – С. 180-186.

Ларцева, Л.В. Микробиоценоз воды и осетровых естественных популяций Волго-Каспийского бассейна / Л.В. Ларцева, И.А. Лисицкая, О.В. Обухова. – Астрахань : Астраханский государственный технический университет, 2020. – 320 с.

Ларцева, Л.В. Экологическая и биологическая опасность резистентности условно-патогенной микрофлоры к антибиотикам (обзор) / Л.В. Ларцева, О.В. Обухова, А.Н. Бармин // Российский журнал прикладной экологии. – 2015. – № 4(4). – С. 47-52.

Лисицкая, И.А. Бактериальные сообщества некоторых компонентов экосистемы дельты Волги и Северного Каспия : Автореф. дис. ... канд. биол. Наук

: 03.02.10 / Лисицкая Ирина Анатольевна, Астраханский государственный технический университет – Астрахань, 2008. – 152 с.

Литвинова, М.Ю. Количественная оценка гетеротрофного бактериопланктона в воде Северного и среднего колен Кольского залива / М.Ю. Литвинова, В.В. Ильинский, И.В. Перетрухина // *Фундаментальные исследования*. – 2011. – № 7. – С. 203-206.

Лобковский, Л.И. Геоэкологический «портрет» экосистемы Каспийского моря / Л.И. Лобковский, Д.Г. Левченко, А.В. Леонов, А.К. Амбросимов // *Геоэкологический мониторинг морских нефтегазоносных акваторий*. М. : Наука, 2005. С. 263–298.

Магеррамов, А.М. Удаление тонких нефтяных пленок с водной поверхности / А.М. Магеррамов // *Молодой ученый*. – 2011. – Т. 1. – № 7. – С. 65–68.

Максимова, М.П. Сравнительная гидрохимия морей. Влияние гидродинамических процессов на потоки взвешенного вещества в океане / М.П. Максимова // *Новые идеи в океанологии. Физика. Химия. Биология*. – М. : Наука, 2004. – Т.1. – С. 168-189.

Мамонтова, Л.М. Антибиотикорезистентные микроорганизмы в водных экосистемах / Л.М. Мамонтова, В.А. Астафьев, А.П. Протодьяконов // *Материалы VIII съезда Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов*, Т.4. – М., 2002. – С. 97.

Маргаритова, Л.Ю. Биозмульгаторы природного происхождения / Л.Ю. Маргаритова // *Сборник материалов конференции молодых ученых памяти Н.В. Тимофеева–Ресовского «Биосфера и человечество»*. – Екатеринбург: Изд-во «Екатеринбург», 2000.

Методические указания по санитарно-бактериологической оценке рыбохозяйственных водоемов № 13-4-2/1742 от 27.09.1999 г. – М.: Минсельхоз России, 1999. – 11 с.

Мирзоян, А.В. Современное состояние промысловых запасов и резервы промысла морских рыб Каспийского моря / А.В. Мирзоян, В.А. Калмыков, С.В. Канатъев, Р.П. Ходоревская // *Труды ВНИРО*. – 2018. – Т. 171. – С. 141-156.

Миронов, О.Г. Взаимодействие морских организмов с нефтяными углеводородами / О.Г. Миронов. – Л.: Гидрометеиздат, 1985. – 128 с.

Миронов, О.Г. Биологические проблемы нефтяного загрязнения морей / О.Г. Миронов // Гидробиологический журнал – 2000. – № 1. – С. 82–96.

Миронов, О.Г. Бактериальная трансформация нефтяных углеводородов в прибрежной зоне моря / О.Г. Миронов // Морской экологический журнал. – 2002. – № 1, Т.1. – С. 56–66.

Михайлов, И.С. Альго-бактериальные сообщества эпилимниона озера Байкал : Автореф. дис. ... канд. биол. Наук : 03.02.08 / Михайлов Иван Сергеевич, Иркутский государственный университет. – Иркутск, 2015. – 153 с.

Мишустина, И.Е. Морская микробиология / И.Е. Мишустина, И.К. Щеголова, И.Н. Мицкевич. – Владивосток: Изд. ДВУ, 1985. – 183 с.

Моисеенко, Н.Н. Характеристика санитарно-бактериологического состояния прибрежной морской воды с изучением распространения резистентных к антибиотикам штаммов клебсиелл и псевдомонас аэрогиноза / Н.Н. Моисеенко // Материалы X Всесоюзной конференции «Гигиенические аспекты изучения биологического загрязнения объектов окружающей среды», 1988. – С. 98—99.

Монахова, Г.А. Экологические особенности районов Каспийского моря с различным правовым и хозяйственным режимом / Г.А. Монахова, Г.М. Абдурахманов, Л.З. Мурзаканова // Юг России: экология, развитие. – 2009. – 4(3). – С. 102-109.

Мошарова, И.В. Особенности распространения бактериопланктона с активным метаболизмом в водной толще желоба Святой Анны в Карском море в осенний период 2011 г. / И.В. Мошарова, С.А. Мошаров, В.В. Ильинский // Океанология. – 2017. – Т.57. – №1. – С. 1–9.

МУК 4.2.1884-04. Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов. – М.: Бюллетень нормативных и методических документов Госсанэпиднадзора, 2005. – 41 с.

МУК 4.2.1890-04 Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. – М.: Роспотребнадзор, 2004. – 92 с.

МУК 4.2.3695-21. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы микробиологического контроля почвы. – М.: Бюллетень нормативных и методических документов Госсанэпиднадзора, 2021. – 28 с.

Мязин, В.А. Сорбционно-биологическая очистка нефтезагрязненных прибрежных территорий в Евро-Арктическом регионе / В.А. Мязин, А.А. Чапоргина // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2022. – № 1(304). – С. 29-35.

Назина, Т.Н. Образование нефтевытесняющих соединений микроорганизмами из нефтяного месторождения Дацин (КНР) / Т.Н. Назина // Микробиология. – 2003. – Т.72. – №2. – С. 206–211.

Нетрусов, А.И. Практикум по микробиологии : учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук. – М.: Академия, 2005. – 608 с.

Нетрусов, А.И. Экология микроорганизмов / А.И. Нетрусов. – 2-е изд. – М.: Изд-во Юрайт, 2015. – 267 с.

Новожилова, М.И. Распространение дрожеподобных организмов в водоемах и их роль в питании водных беспозвоночных животных (Обзор) / М.И. Новожилова // Труды Ин-та микробиологии и вирусологии АН КазССР. – 1958. – Т. 2. – С. 247-257.

Обухова, О.В. Особенности антибиотикорезистентности энтеробактерий в дельте Р. Волги / О.В. Обухова, Л.В. Ларцева // Гигиена и санитария. – 2014. – Т. 93. – № 3. – С. 21-23.

Обухова, О.В. Экологическая обусловленность факторов патогенности условно-патогенной микрофлоры / О. В. Обухова, В. Ф. Зайцев // Астраханский вестник экологического образования. – 2015. – № 1(31). – С. 181-183.

Обухова, О.В. Экологические особенности устойчивости к антибиотикам условно-патогенной микрофлоры, персистирующей в гидроэкосистемах / О.В. Обухова, Л.В. Ларцева // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. – 2018. – № 4. – С. 53-57.

Осипова, В.П. Пути попадания нефти в акватории Каспийского моря. Токсичность и механизмы самоочищения / В.П. Осипова, Н.Т. Берберова, Ю.Т. Пименов // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2015. – № 2. – С. 15-21.

Осницкая, Л.К. Бактериальное население Северного Каспия и его зависимость от речных стоков / Л.К. Осницкая, В.А. Ламбина // Труды 4-го совещания по проблемам биологии внутренних вод. – 1959. – С. 231-239.

Осницкая, Л.К. Численность и биомасса бактерий в водной толще северной части Каспийского моря / Л.К. Осницкая // Микробиология. – 1954. Т.23, №5. – С. 572-579.

Панин, Г.Н. Современное состояние Каспийского моря. / Г.Н. Панин. – М.: Наука. – 2005. – 356 с.

Патин, С.А. Нефть и экология континентального шельфа: в 2-х т. 2-е изд. переработанное и дополненное – Т. 1: Морской нефтегазовый комплекс: состояние, перспективы, факторы воздействия / С.А. Патин. – М.: изд-во ВНИРО, 2017. – 326 с.

Патин, С.А. Нефть и экология континентального шельфа: В 2-х т. 2-е изд. переработанное и дополненное – Т. 2: Экологические последствия, мониторинг и регулирование при освоении углеводородных ресурсов шельфа / С.А. Патин. – М.: Изд-во ВНИРО, 2017. – 284 с.

Пахомова, А.С. Биогенные элементы в водах глубоководной части Каспийского моря / А.С. Пахомова // Химические ресурсы морей и океанов. – М.: Наука, 1970. – С. 118-126.

Петрикевич, С.Б. Оценка углеводородокисляющей активности микроорганизмов / С.Б. Петрикевич // Прикладная биохимия и микробиология. – 2003. – Т.39. – №1. – С. 25–30.

Пирог, Т.П. Образование поверхностно-активных веществ при росте штамма *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 на гидрофильных и гидрофобных субстратах / Т.П. Пирог // Прикладная биохимия и микробиология. – 2004. – Т.40. – №3 – С. 544-550.

ПНД Ф 14.1:2:4.128-98 Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений массовой концентрации нефтепродуктов в пробах природных, питьевых, сточных вод флуориметрическим методом на анализаторе жидкости «Флюорат-02». Москва, 2012. – 35 с.

ПНД Ф 14.1:2:4.273-2012 (ФР.1.31.2006.02410) «Методика измерений массовой концентрации нефтепродуктов и жиров (при их совместном присутствии) в питьевых, природных и очищенных сточных водах методом ИК-спектрофотометрии с применением концентратометров серии КН», Москва, 2012. – 35 с.

Поздеев, О.К. Медицинская микробиология: учебное пособие / О.К. Поздеев. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2010. – 768 с.

Потайчук, М.С. Температура воды / М.С. Потайчук // Гидрометеорология и гидрохимия морей. СПб.: Гидрометеиздат, 1992. – С. 59-78

Пуговкин, Д.В. Эпифитные бактерии бурых водорослей *Fucus vesiculosus* / Д.В. Пуговкин, Г.М. Воскобойников // Морской биологический журнал. – 2018. – Т. 3. – № 4. – С. 76-83.

Равин, Н.В. Метагеномика как инструмент изучения "некультивируемых" микроорганизмов / Н.В. Равин, А.В. Марданов, К.Г. Скрыбин // Генетика. – 2015. – Т. 51, № 5. – С. 519-528.

Рахимова, Э.Р. Очистка почвы от нефтяного загрязнения с использованием денитрифицирующих углеводородокисляющих микроорганизмов / Э.Р. Рахимова // Прикладная биохимия и микробиология. – 2004. – Т.40. – №3. – С. 649–653.

Репина, М.А. Нефтеуглеводородокисляющие микроорганизмы прибрежных вод юга острова Сахалин : Автореф. дис. ... канд. биол. Наук : 03.00.16 / Репина Мария Андреевна; Дальневосточный государственный университет МОН РФ. – Владивосток, 2009. – 23 с.

Рубцова, С.И. Оценка бактериального самоочищения вод от нефтяных углеводородов в прибойной зоне акватории Севастополя (Черное море) / С.И. Рубцова // Экология моря. – 2003. – Т. 64. – С. 95-98.

Рыбохозяйственные исследования на Каспии: результаты НИР за 2000. – Астрахань: КаспНИРХ, 2001. – 512 с.

Рыбохозяйственные исследования на Каспии: результаты НИР за 2001. – Астрахань: КаспНИРХ, 2002. – 630 с.

Рыбохозяйственные исследования на Каспии: результаты НИР за 2002. – Астрахань: КаспНИРХ, 2003. – 540 с.

Рыбохозяйственные исследования на Каспии: результаты НИР за 2003. – Астрахань: КаспНИРХ, 2004. – 570 с.

Рыбохозяйственные исследования на Каспии: результаты НИР за 2004. – Астрахань: КаспНИРХ, 2005. – 616 с.

Рыбохозяйственные исследования на Каспии: результаты НИР за 2005. – Астрахань: КаспНИРХ, 2006. – 436 с.

Салманов, М.А. Экология и биологическая продуктивность Каспийского моря : учеб. пособие / М.А. Салманов. – Баку : Изд-во Измаил, 1999. – 400 с.

Серебренникова, Е.А. Комплексная океанографическая съемка Северного и среднего Каспия на научном судне "Исследователь Каспия" в июне 2016 г. / Е.А. Серебренникова, С.А. Дьякова // Океанология. – 2018. – Т. 58. – № 3. – С. 532-533.

Серебрякова, Е.В. Оценка гидрофобных свойств бактериальных клеток по адсорбции на поверхности капель хлороформа / Е.В. Серебрякова // Микробиология. - 2002. – Т.71. – №2. – С. 237-239.

Сидоренко, О.Д. Антибиотикочувствительность отдельных штаммов лактобактерий и дрожжей кисломолочных продуктов различных географических зон / О.Д. Сидоренко // Известия ТСХА. - 2014. – Вып.2. – С. 148-153.

Современный и перспективный водный и солевой баланс южных морей СССР. – Труды ГОИН. – 1972. – Вып. 108. – 236 с.

Соколова, В.В. Оценка ассимиляционного потенциала и ассимиляционной емкости Северного Каспия по отношению к нефтяному загрязнению / В.В.

Соколова, Д.Р. Светашева, И.С. Дзержинская, А.А. Курапов, С.К. Монахов // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2011. – № 10. – С. 40–44.

Соколова, В.В. Угледородоокисляющие бактерии и ассимиляционный потенциал морской воды Северного Каспия : Автореф. дис. ... канд. биол. Наук : 03.02.08 / Соколова Вера Владимировна, Астраханский государственный технический университет. – Астрахань, 2012. – 22 с.

Сокольский, А.Ф. Роль бактериопланктона в продуктивности Северного Каспия и метод ее оценки / А.Ф. Сокольский, Ю.М. Брумштейн, Г.М. Кокоулина // Теоретическая экология. – 1987. – С. 116-121.

Стрельникова, Н.И. Диатомовые водоросли и их использование в стратиграфических и палеогеографических исследованиях / Н.И. Стрельникова, А.Ю. Гладенков // Вопросы современной альгологии. – 2019. – № 2(20). – С. 1-38.

Струпуль, Н.Э. Исследование нефтеокисляющей способности морских микроорганизмов *Pseudoalteromonas citrea*, *Pseudoalteromonas elyakovii* и *Oceanisphaera litoralis* / Н.Э. Струпуль // Электронный научный журнал «Нефтегазовое дело». – 2009. – №2. – С. 666-670.

Суслова, М.Ю. Распространение и разнообразие спорообразующих бактерий рода *Bacillus* в водных экосистемах : дис... канд. биол. наук: 03.00.16, 03.00.07 / Суслова Мария Юрьевна, Бурятский государственный университет. – Улан–Удэ, 2007. – 163 с.

Теканова, Е.В. Оценка состояния воды притоков Онежского озера в условиях антропогенного воздействия по микробиологическим и токсикологическим показателям / Е.В. Теканова, Е.М. Макарова, Н.М. Калинкина // Труды Карельского научного центра Российской академии наук. – 2015. – № 9. – С. 44-52.

Теппер, Е.З. Практикум по микробиологии : учеб. пособие для вузов / Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева. – Изд. 2-е, перераб. и доп. - М.: Дрофа, 2004. – 256 с.

Умербаева, Р.И. Современное состояние биопродуктивности Северного Каспия и оценка воздействия разведочного бурения на микрофлору моря : Дис. ... канд. биол. Наук : 03.00.16 / Умербаева Роза Ивановна. – Астрахань, 2003. – 124 с.

Федосов, М.В. Химическая основа кормности южных морей и их водный режим / М.В. Федосов // Информационный сборник ВНИРО. – 1957. – № 1. – С. 14-19.

Химия океана. Химия вод океана. – М. : Наука, 1979. – Т. 1. – 518 с.

Хлесткин, Р.Н. Ликвидация разливов нефти при помощи синтетических органических сорбентов / Р.Н. Хлесткин // Нефтяное хозяйство. – 1999. – №2. – С. 46-49.

Хрусталеv, Ю.П. Закономерности современного осадконакопления в Северном Каспии / Ю.П. Хрусталеv. – Ростов-на-Дону: Изд-во Ростовского ун-та, 1978. – 207 с.

Цыбань, А.В. Морская пена как экологическая ниша для бактерий / А.В. Цыбань // Гидробиологический журнал. – 1971. – № 3. – С. 14-17.

Цыбань, А.В. Окисление углеводов нефти морскими бактериями / А.В. Цыбань, А.М. Зубакина, С.П. Баринаова, И.М. Михалева // Гидробиологический журнал. – 1977. – №2. – С. 39-44.

Цыбань, А.В. Процессы микробного окисления нефти в море среды / А.В. Цыбань // Человек и биосфера. – 1979. – С. 143 – 159.

Шестаков, С.В. Вклад метагеномики в развитие биотехнологии / С.В. Шестаков // Биотехнология. – 2011. – № 6. – С. 8-22.

Широбоков, В.П. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / В.П. Широбоков. – Винница: Изд-во Новая Книга, 2015. – 856 с.

Шитиков, В.К. Количественная гидроэкология: методы системной идентификации / В.К. Шитиков, Г.С. Розенберг, Т.Д. Зинченко– Тольятти: ИЭВБ РАН, 2003. – 463 с.

Шкидченко, А.Н. Изучение нефтеструктивной активности микрофлоры прибрежной зоны Каспийского моря / А.Н. Шкидченко // Прикладная биохимия и микробиология. – 2002. – Т.38. – №5. – С. 509-512.

Шлегель, Г. Общая микробиология : учеб. пособие / Г. Шлегель – М.: Мир, 1987. – 567 с.

Щука, Т.А. Исследование процессов микробного разрушения нефтяного загрязнения и опыт мониторинга распространения нефтеокисляющих микроорганизмов в юго-восточных частях Балтийского и Карского морей / Т.А. Щука, Ю.Л. Володкович // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. – 2015. – Т. 26. – № 1. – С. 180-204.

Эфендиева, И.М. Микроорганизмы Бакинской бухты и их роль в разрушении нефти и нефтепродуктов : Автореф. дис. ... канд. биол. Наук: 03.00.16 / Эфендиева Ильсияр Маликовна. - Алма-Ата, 1979. - 25 с.

Юницына, О.А. Влияние солености водной среды на развитие нефтеокисляющих микроорганизмов / О.А. Юницына, Е.А. Веселкина, К.С. Болотова // Современные тенденции развития науки и технологий. – 2016. – №1–4. – С. 68-70.

Яковлев, С.В. Устойчивость *Pseudomonas aeruginosa* к карбапенемам: уроки исследования MYSTIC / С.В. Яковлев // Фарматека. – 2007. – Т.8. – №9. – Р. 56–62.

Яскович, Г.А. Характеристика гидрофобности поверхности клеток микроорганизмов / Г.А. Яскович, Г.Э. Елькин // Микробиология. – 1995. – Т. 64 - № 1. – С. 137-139.

Яскович, Г.Д. Изучение гидрофобности поверхности штаммов клеток бактерий / Г.А. Яскович // Микробиология. – 1996. – Т.65. – №4. – С. 569-571.

Abdel-Mawgoud, A.M. Characterization of rhamnolipid produced by *pseudomonas aeruginosa* isolate Bs20 / A.M. Abdel-Mawgoud, M.M. Aboulwafa, N.A.H. Hassouna // Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology. – 2009. – Vol.157. – №2. – Р. 329-345.

Alonso, A. Environmental selection of antibiotic resistance genes / A. Alonso, P. Sanchez, J.L. Martinez // Environmental microbiology. – 2001. – Vol. 3. – № 1. – Р. 1–9.

Anderson, B. Impacts of pesticides in a Central California estuary / B. Anderson, B. Phillips, J. Hunt, K. Siegler, J. Voorhees, K. Smalling, K. Kuivila, M. Hamilton, J.A. Ranasinghe, R. Tjeerdema // *Environmental Monitoring and Assessment* – 2014. – Vol. 186 (3). – P. 1801–1814.

Anhalt, J.P. Identification of bacteria using mass spectrometry / J.P. Anhalt, C. Fenselau // *Journal of Analytical Chemistry*. – 1975. – Vol. 500. – №2. – P. 219-225.

Anyanwu, C.U. Lipopeptide biosurfactant production by *Serratia marcescens* NSK-1 strain isolated from Petroleum-contaminated soil / C.U. Anyanwu // *Jornal of applied sciences research*. – 2011. – Vol.7. – №1. – P. 79–87.

Baar, B.L. Characterisation of bacteria by matrix-assisted laser desorption/ionization and electrospray mass spectrometry / B.L. van Baar. // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2000. – Vol. 24. – №2. – P. 193-219.

Banat, I.M. Biosurfactants production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation: a review / I.M. Banat // *Bioresource Technology*. – 1995. – Vol.51. – P. 1-12.

Benerjee, S. Biosurfactant for desludging crude/fuel oil storage tank / S. Benerjee // *Chememistry*. – 1998. – Vol.4. – P. 75-78.

Berman, T. Metabolically active bacteria in lake Kinneret / T.Berman, B. Kaplan, S. Chava, Y. Viner, B.F. Sherr, E.B. Sherr // *Aquatic Microbial Ecology*. – 2001. – Vol. 23. – P. 213–224.

Bezza, F.A. Pyrene biodegradation enhancement potential of lipopeptide biosurfactant produced by *Paenibacillus dendritiformis* CN5 strain / F.A. Bezza, E.M. N. Chirwa // *Journal of Hazardous Materials*. – 2017. – Vol. 321. – P. 218-227.

Bolter, M. Enumeration and biovolume determination of microbial cells—a methodological review and recommendations for applications in ecological research / M. Bolter, J. Bloem, K. Meiners, R. Moller // *Biology and Fertility of Soils*. – 2002. – Vol. 36. – №4. – P. 249–259.

Bonadonna, L. Innovative analytical methods for monitoring microbiological and virological water quality / L. Bonadonna, R. Briancesco, G.L. Rosa // *Microchemical Journal*. – Vol.150. – P. 104-160.

Bratbak, G. Microscope methods for measuring bacterial biovolume: epifluorescence microscopy, scanning electron microscopy, and transmission electron microscopy // Handbook of methods in aquatic microbial ecology / Eds. Kemp P.F. et al. Boca Raton, Fla.: Lewis Publishers. – 1993. – P. 309–317.

Bruns, K. Distribution and activity of petroleum hydrocarbon degrading bacteria in the North Sea and Baltic Sea / K. Bruns // Ocean Dynamics. – 1993. – Vol.45. – № 6. – P. 359-369.

Campbella, B.J. Activity of abundant and rare bacteria in a coastal ocean / B.J. Campbella, L. Yua, J.F. Heidelbergb, D.L. Kirchman // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2011. – Vol.108. – №31. – P. 12776–12781.

Cassani, F. Organic geochemistry of Venezuelan extra-heavy crude oils 2. Molecular assessment of biodegradation / F. Cassani, G. Eglinton // Chemical Geology. – 1991. – № 91. – P. 315-333.

Christofi, N. Microbial surfactants and their use in field studies of soil remediation / N. Christofi // Journal of Applied Microbiology. – 2002. – Vol.93. – P. 915-929.

Church, M.J. Resource control of bacterial dynamics in the sea / M.J. Church // Microbial Ecology of the Oceans. – 2008. – P. 335 – 382.

Cooper, D. Surface-active agents from two *Bacillus* species / D. Cooper // Applied and environmental microbiology. – 1987. – Vol.53. – №2. – P. 224-229.

Dash, H.R. Marine bacteria: Potential candidates for enhanced bioremediation / H.R. Dash, N. Mangwani, J. Chakraborty // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2013. – Vol. 97. – №2. – P. 561-571.

Desai, J.D. Microbial production of surfactants and their commercial potencial / J.D. Desai // Microbiology, Molecular Biology. – 1997. – Vol.61. – P.47-64.

Dyakova, S. Current State of Heterotrophic Bacterioplankton and Bacteriobenthos in the Northern and Middle Parts of the Caspian Sea / S. Dyakova, V. Volodina, E. Galyautdinova, A. Menkova, O. Soprunova // KnE Life Sciences

«International Applied Research Conference «Biological Resources Development and Environmental Management». – 2020. – P. 262–273.

Elmir, S.M. Quantitative evaluation of bacteria released by bathers in a marine water / S.M. Elmir, M.E. Wright, A. Abdelzaher, H.M. Solo-Gabriele // *Water Research*. – 2008. – Vol.41. – Issue 1. – P. 3-10.

Fenselau, C. Proteomic strategies for rapid characterization of microorganisms / C. Fenselau, S. Russell, S. Swatkoski, N. Edwards // *European Journal of Mass Spectrometry*. – 2007. – Vol.13. – №1. – P. 35-39.

Giorgio, P.A. Increase in the proportion of metabolically active bacteria along gradients of enrichment in freshwater and marine plankton: implication for estimates of bacterial growth and production rates / P.A. Giorgio, G. Scarborough // *Journal of Plankton Research*. – 1995. – Vol.17. – №10. – P. 1905–1924.

Hagstrom, A. Use of 16S ribosomal DNA for delineation of marine bacterioplankton species / A. Hagstrom, T. Pommier, F. Rohwer, K. Simu, W. Stolte, D. Svensson, U.L. Zweifel // *Applied and environmental microbiology*. – 2002. – Vol.68. – №7. – P. 3628–3633.

Handelsman, J. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms / J. Handelsman // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. – 2004. – Vol.68. – P. 669-685.

Hassanshahian, M. Isolation and characterization of crude-oil-degrading bacteria from the Persian Gulf and the Caspian Sea / M. Hassanshahian, G. Emtiazi, S. Cappello // *Marine Pollution Bulletin*. – 2012. – Vol.64 (1). – P.7-12.

Hauer, F.R. *Methods in Stream Ecology* / F.R. Hauer, G.A. Lamberti. – Elsevier. – 2006. – 876 p.

Herbert, S. Pathogenicity Islands in Bacterial Pathogenesis / S. Herbert, H. Michael // *Clin Microbiol Rev*. – 2004. – Vol.17(1). – P.14–56.

Ijah, U.J.J. Removal of Nigerian light crude oil in soil over a 12-month period / U.J.J. Ijah, S.P. Antai // *International Biodeterioration & Biodegradation*. – 2003. – № 51. – P.93–99.

Jung, D. Accessing previously uncultured marine microbial resources by a combination of alternative cultivation methods / D. Jung, B. Liu, X. He, J.S. Owen, L. Liu, Y. Yuan, W. Zhang, S. He // *Microbial Biotechnology*. – 2021. – Vol.14 (3). – P. 1148–1158.

Klekner, V. Biosurfactants for cosmetics. In: *Biosurfactants production, properties, applications spils* / V. Klekner // Marcel Dekker, 1993. – P. 329-372.

Korshenko, A. Pollution of the Caspian Sea / A. Korshenko, A.G. Gul // *Hdb Env Chem*. – 2005. – Vol.5, Part P. – P.109–142.

Leonov, A.V. Mathematical Modeling of Marine Environment Pollution Processes by Petroleum Hydrocarbons and Their Degradation in Caspian Sea Ecosystem / A.V. Leonov, O.V. Chicherina, L.V. Semenyak // *Water Resources*. – 2011. – Vol. 38. – № 6. – P.774–798.

Leonov, A.V. The role of microorganisms in the transformation of biogenic substances in the Caspian Sea ecosystem: An assessment based on mathematical modeling / A.V. Leonov, O.V. Chicherina // *Water Resources*. – 2004. – Vol. 31. – No 4. – P. 398-412.

Lewis, W.H. Innovations to culturing the uncultured microbial majority / W.H. Lewis, G. Tahon, P. Geesink, D.Z. Sousa, T.J.G. Ettema // *Nature reviews Microbiology*. – 2021. – Vol. 19(4). – P. 225–240.

Loy, A. Oligonucleotide microarray for 16S rRNA gene-based detection of all recognized lineages of sulfate-reducing prokaryotes in the environment / A. Loy, A. Lehner, N. Lee et al // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2002. – Vol.68. – P. 5064-5081.

Makhdoumi, A. Bacterial diversity in south coast of the Caspian Sea: Culture-dependent and culture-independent survey / A. Makhdoumi // *Caspian Journal of Environmental Sciences*. – 2018. – Vol.16. – №3. – P. 259-269.

Maki, H. Photo-oxidation of biodegraded crude oil and toxicity of the photo-oxidized products / H. Maki, T. Sasaki, S. Harayama // *Chemosphere*. – 2001. – № 44. – P. 1145-1151.

Makkar, R.S. An update on the use of unconventional substrates for biosurfactant production and their new applications / R.S. Makkar // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2002. – Vol.58. – P. 428-434.

Miller, J.I. Oil Hydrocarbon Degradation by CaspianSea Microbial Communities / J.I. Miller, S. Techtmann, J. Fortney, N. Mahmoudi, D. Joyner, J. Liu, S. Olesen, E. Alm, A. Fernandez, P. Gardinal, N. GaraJayeva, F.S. Askerov, T.C. Hazen // Frontiers in Microbiology. – 2019. – Vol.10. – Article 995.

Miller, R.M. Biosurfactant – facilitated remediation of metal contaminated spills / R.M. Miller // Environment Health Perspective. – 1995. – Vol.103. – P.59-62.

Misra, G. Data processing handbook for complex biological data sources. / G. Misra. – London: Academic Press. – 2019. – 169 p.

Mnif, I. Microbial derived surface active compounds: properties and screening concept / I. Mnif, D. Ghribi, //World J Microbiol Biotechnol. – 2015. – Vol.31. – P.1001-1020.

Murzin, Sh.M. Petroleum Systems and the History of Their Formation in the Northern Caspian Sea Basin / Sh.M. Murzin // Moscow University Geology Bulletin. – 2010. – Vol.65. – № 6. – P.355–366.

Paul, J.H. Methods in microbiology. Marine Microbiology / Paul J.H. – New York: Academic Press. – 2001. – 657 p.

Peeters, F. Analysis of deep-water change in the Caspian sea based on environmental tracers / F. Peeters, R. Kipfer, D. Achermann, M. Hofer // Deep-sea research. – 2000. – Vol.47(4). – P. 621-654.

Rappe, M.S. The uncultured microbial majority / M.S. Rappe, S.J. Giovannoni // Annual Review of Microbiology. – 2003. – Vol.57. – P. 369–394.

Riesenfeld, C.S. Metagenomics: genomic analysis of microbial communities / C.S. Riesenfeld, P.D. Schloss, J. Handelsman // Annual Review of Genetics. – 2004. – Vol.38. – P. 525-552.

Rismani, E. Biosurfactant production in batch culture a *Bacillus lincheniformis* isolated from The Persian Gulf / E. Rismani // Pakistan journal of biological sciences. – 2006. – Vol. 9 – № 13. – P.2498–2502.

Rodrigues, C.J.C. Cultivating marine bacteria under laboratory conditions: Overcoming the “unculturable” dogma / C.J.C. Rodrigues, C.C.C.R. de Carvalho // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. – 2022. – Vol.10 – P. 01-14.

Ron, E.Z. Natural roles of biosurfactants / E.Z. Ron // *Environment Microbiology*. - 2001. – Vol.3. – P.229-236.

Rosenberg, E. Hydrocarbon-oxidizing bacteria. In *The prokaryotes – Prokaryotic physiology and biochemistry* / E. Rosenberg. – New York: Springer, 2013. – P.201–214.

Safary, A. Isolation and characterization of biosurfactant producing bacteria from Caspian sea / A. Safary, M.R. Ardakani, H. Motamedi // *Biotechnology*. – 2010. – Vol. 9. – No 3. – P.378-382.

Salmanov, M. Antropogenic eutrofication of Caspian sea Shelf / M. Salma-nov // *Ecological problems of Caspian sea and Ecological Education in Caspian Countries*. – Baku, 1998. – P. 23.

Sanz-Sáez, I. Diversity and distribution of marine heterotrophic bacteria from a large culture collection / I. Sanz-Sáez, G. Salazar, P. Sánchez, E. Lara1, M. Royo-Llonch, E.L. Sa, T. Lucena, M.J. Pujalte, D. Vaqué, C.M. Duarte, J.M. Gasol, C. Pedrós-Alió, O. Sánchez, S.G. Acinas. // *BMC Microbiology*. –2020. – Vol.20. – Issue 1. – P. 1-16.

Schleper, C. *Archaea: evolution, physiology, and molecular biology* / C. Schleper. – Copenhagen: Blackwell Publ. Ltd., 2007. – 416 p.

Scholz, M.B. Next generation sequencing and bioinformatic bottlenecks: the current state of metagenomic data analysis / M.B. Scholz, C.C. Lo, P.S. Chain // *Current Opinion in Biotechnology*. – 2012. – Vol.23. – P. 9-15.

Secades, P. Purification and characterization of a psychrophilic, calcium-induced, growthphase-dependent metalloprotease from the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum* / P. Secades, B. Alvarez, J. A. Guijarro // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2001. – Vol.67 – №6. – P.2436–2444.

Sherr, B. Enumeration of total and highly active bacteria / B. Sherr, E. Sherr, P. del Giorgio // *Methods in Microbiology*. – 2001. – Vol.30. – P. 129–160.

Sherr, B.F. Estimating abundance and single-cell characteristics of respiring bacteria via the redox dye CTC / B.F. Sherr, P.A. del Giorgio, E.B. Sherr // *Aquatic Microbial Ecology*. – 1999. – Vol.18. – P. 117–131.

Shibata, T. Monitoring marine recreational water quality using multiple microbial indicators in an urban tropical environment / T. Shibata, H.M. Solo-Gabriele, L.E. Fleming, S. Elmir // *Water Research*. – 2004. – Vol.38. – Issue 13. – P. 3119-3131.

Sifour, M. Production of biosurfactant from to *Bacillus species* / M. Sifour // *Egyptian journal of aquatic research*. – 2005. – Vol.31. – P.142-148.

Sogin, M.L. Microbial diversity in the deep sea and the underexplored “rare biosphere” / M.L. Sogin, H.G. Morrison, J.A. Huber, D.M. Welch, S.M. Huse, P.R. Neal, J.M. Arrieta, G.J. Herndl // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2006. – Vol.103. – №32. – P. 12115–12120.

Sorensen, K.B. Stratified communities of active Archaea in deep marine subsurface sediments / K.B. Sorensen, A. Teske // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2006. – Vol.72. – P. 4596-4603.

Tenover, F.C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria / F.C. Tenover // *The American journal of medicine*. – 2006. – Vol. 119. – № 6. – P.3-10.

Teske, A. Uncultured archaea in deep marine subsurface sediments: have we caught them all? / A. Teske, K.B. Sorensen // *The ISME Journal*. – 2008. – Vol.2(1). – P. 3-18.

Van Dyke, M.I. Evaluation of microbial surfactants for recovery of hydrophobic pollutants from soil / M.I. Van Dyke // *Microbiology*. – 1993. – Vol.11. – P.163-170.

Wu, J. Prevalence and distribution of antibiotic resistance in marine fish farming areas in Hainan, China / J.Wu, Y. Su, Y. Deng, Z. Guo, C. Mao, G. Liu, Liwen Xu, C. Cheng, L. Bei, J. Feng // *Science of The Total Environment*. – 2019. – Vol.653. – P. 605-611.

Zhou, H. Biosurfactant production and characterization of *Bacillus* sp. ZG0427 isolated from oil-contaminated soil / H. Zhou, J. Chen, Z. Yang // *Ann Microbiology*. – 2015. – Vol.65. – P.2255–2264.

Zo Bell, C.E. Microbial degradation of oil: present status, problems and perspectives / C.E. Zo Bell // Microbial Degradation of Oil Pollutants. Center for Wetland Resources. Louisiana State University. – 1973. – №. 3 – P. 153–162.

Zonn, I.S. Environmental Issues of the Caspian / I.S Zonn // Hdb Env Chem. – 2005. – Vol.5 – Part P. – P. 223–242.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А. 1 – Численность различных групп бактериопланктона в поверхностном горизонте воды приглубой зоны западной части Северного Каспия

| Год | Сезон | ОЧБ, млн кл./мл | Численность культивируемых гетеротрофных бактерий, тыс. КОЕ/мл | | |
|------|-------|-----------------|--|------------|-----------------------|
| | | | Сапротрофные бактерии | УОБ | Олиготрофные бактерии |
| 2013 | лето | 1,13-1,94 | 1,53-210,00 | 0,05-30,00 | н/д |
| | | 1,51±0,13 | 44,15±33,89 | 7,63±5,08 | н/д |
| | осень | 1,02-1,92 | 4,23-115,00 | 1,21-32,00 | н/д |
| | | 1,41±0,12 | 57,72±16,92 | 8,93±4,73 | н/д |
| | год | 1,02-1,94 | 1,53-210,00 | 0,05-32,00 | н/д |
| | | 1,46±0,09 | 50,94±18,17 | 8,28±3,32 | н/д |
| 2014 | весна | 1,64-2,22 | 2,47-4,27 | 1,21-3,12 | н/д |
| | | 1,87±0,08 | 3,20±0,29 | 2,35±0,29 | н/д |
| | лето | 1,12-1,75 | 0,31-1,51 | 0,12-0,29 | н/д |
| | | 1,49±0,09 | 0,94±0,20 | 0,19±0,03 | н/д |
| | осень | 0,85-1,68 | 0,69-5,30 | 0,03-0,64 | н/д |
| | | 1,18±0,12 | 2,37±0,67 | 0,23±0,09 | н/д |
| | год | 0,85-2,22 | 0,31-5,30 | 0,03-3,12 | н/д |
| | | 1,51±0,09 | 2,17±0,33 | 0,93±0,26 | н/д |
| 2015 | весна | 1,54-1,99 | 0,13-0,38 | 0,04-0,31 | н/д |
| | | 1,72±0,06 | 0,30±0,04 | 0,12±0,04 | н/д |
| | лето | 1,04-1,68 | 0,20-1,30 | 0,10-0,90 | н/д |
| | | 1,32±0,12 | 0,62±0,18 | 0,38±0,15 | н/д |
| | осень | 0,69-1,36 | 1,30-4,80 | 0,10-1,40 | н/д |
| | | 1,06±0,13 | 2,70±0,48 | 0,88±0,18 | н/д |
| | год | 0,69-1,99 | 0,13-4,80 | 0,04-1,40 | н/д |
| | | 1,37±0,09 | 1,21±0,30 | 0,46±0,11 | н/д |
| 2016 | весна | 1,52-2,27 | 10,23-34,89 | 7,82-15,11 | 4,38-7,25 |
| | | 1,94±0,10 | 25,6±4,08 | 12,39±1,18 | 5,80±0,41 |
| | лето | 1,23-1,94 | 1,70-57,60 | 0,10-4,30 | 0,50-4,60 |
| | | 1,55±0,12 | 12,22±9,08 | 1,44±0,62 | 2,58±0,64 |
| | осень | 0,95-1,52 | 0,40-7,30 | 0,10-3,71 | 2,10-6,60 |
| | | 1,21±0,10 | 2,66±1,05 | 1,11±0,54 | 4,00±0,71 |
| | год | 0,95-2,27 | 0,40-57,60 | 0,10-15,11 | 0,50-7,25 |
| | | 1,56±0,09 | 13,49±3,88 | 4,98±1,35 | 4,13±0,46 |
| 2017 | весна | 1,63-2,25 | 10,55-24,09 | 4,92-10,45 | 8,87-17,04 |
| | | 1,89±0,09 | 19,20±2,04 | 7,42±0,75 | 11,76±1,43 |
| | лето | 1,24-1,84 | 0,11-6,77 | 0,03-1,84 | 0,49-2,70 |
| | | 1,52±0,11 | 2,05±1,01 | 0,60±0,28 | 1,62±0,36 |
| | осень | 0,76-1,61 | 0,64-6,53 | 0,13-0,75 | 0,27-3,71 |
| | | 1,16±0,15 | 1,97±0,92 | 0,46±0,09 | 1,23±0,55 |
| | год | 0,76-2,25 | 0,11-24,09 | 0,03-10,45 | 0,27-17,04 |
| | | 1,53±0,10 | 7,74±2,11 | 2,83±0,83 | 4,87±1,28 |

продолжение таблицы А. 1

| | | | | | |
|------|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 2018 | весна | 1,85-2,28 | 0,36-8,38 | 0,12-1,25 | 0,72-5,46 |
| | | 2,06±0,07 | 2,01±1,28 | 0,66±0,16 | 2,78±0,90 |
| | лето | 1,29-1,98 | 0,24-1,79 | 0,07-0,69 | 0,79-3,35 |
| | | 1,62±0,12 | 0,86±0,27 | 0,30±0,09 | 2,19±0,39 |
| | осень | 0,59-1,71 | 0,30-3,20 | 0,20-0,90 | 0,12-1,30 |
| | | 1,14±0,19 | 1,71±0,49 | 0,43±0,11 | 0,78±0,22 |
| | год | 0,59-2,28 | 0,24-8,38 | 0,07-1,25 | 0,12-5,46 |
| | | 1,61±0,12 | 1,53±0,45 | 0,46±0,08 | 1,92±0,37 |

Таблица А. 2 – Численность различных групп бактериопланктона в придонном горизонте воды приглубой зоны западной части Северного Каспия

| Год | Сезон | ОЧБ, млн кл./мл | Численность культивируемых гетеротрофных бактерий, тыс. КОЕ/мл | | |
|------|-------|-----------------|--|------------|-----------------------|
| | | | Сапротрофные бактерии | УОБ | Олиготрофные бактерии |
| 2013 | лето | 1,05-2,46 | 2,51-270,90 | 0,10-59,10 | н/д |
| | | 1,60±0,22 | 60,00±43,68 | 13,05±9,63 | н/д |
| | осень | 0,94-2,13 | 4,99-235,75 | 2,37-34,88 | н/д |
| | | 1,54±0,22 | 84,12±33,31 | 11,83±4,91 | н/д |
| | год | 0,94-2,46 | 2,51-270,90 | 0,10-59,10 | н/д |
| | | 1,57±0,15 | 72,06±26,44 | 12,44±5,16 | н/д |
| 2014 | весна | 1,42-1,95 | 1,03-2,31 | 1,00-1,30 | н/д |
| | | 1,82±0,09 | 1,70±0,20 | 1,12±0,04 | н/д |
| | лето | 0,95-1,82 | 0,90-1,76 | 0,80-1,49 | н/д |
| | | 1,53±0,13 | 1,37±0,15 | 1,16±0,11 | н/д |
| | осень | 0,88-1,92 | 0,75-1,49 | 0,31-1,35 | н/д |
| | | 1,22±0,15 | 1,10±0,13 | 0,90±0,16 | н/д |
| | год | 0,88-1,95 | 0,75-2,31 | 0,31-1,49 | н/д |
| | | 1,52±0,09 | 1,39±0,11 | 1,31±0,07 | н/д |
| 2015 | весна | 1,37-1,75 | 0,13-0,37 | 0,02-0,24 | н/д |
| | | 1,59±0,06 | 0,30±0,04 | 0,11±0,04 | н/д |
| | лето | 0,9-1,76 | 0,22-1,85 | 0,13-1,00 | н/д |
| | | 1,37±0,15 | 0,71±0,27 | 0,41±0,15 | н/д |
| | осень | 0,75-1,49 | 0,95-3,74 | 0,07-1,62 | н/д |
| | | 1,10±0,13 | 2,54±0,40 | 1,02±0,22 | н/д |
| | год | 0,75-1,76 | 0,13-3,74 | 0,02-1,62 | н/д |
| | | 1,35±0,08 | 1,18±0,28 | 0,51±0,12 | н/д |
| 2016 | весна | 1,65-2,13 | 11,10-28,10 | 8,82-12,71 | 7,47-13,54 |
| | | 1,86±0,07 | 22,30±2,45 | 10,44±0,71 | 11,00±0,94 |
| | лето | 1,11-1,94 | 2,13-55,87 | 0,09-3,01 | 0,42-5,75 |
| | | 1,55±0,14 | 12,21±8,74 | 1,18±0,43 | 2,94±0,89 |
| | осень | 0,90-1,69 | 0,36-9,05 | 0,10-3,23 | 1,66-7,26 |
| | | 1,25±0,12 | 3,33±1,27 | 1,07±0,46 | 4,20±0,88 |
| | год | 0,90-2,13 | 0,36-55,87 | 0,09-12,71 | 0,42-13,54 |
| | | 1,55±0,09 | 12,61±3,43 | 4,23±1,11 | 6,05±0,99 |
| 2017 | весна | 1,51-2,00 | 2,37-3,47 | 0,97-1,22 | 2,26-4,05 |
| | | 1,72±0,08 | 3,00±0,16 | 1,13±0,04 | 3,03±0,25 |
| | лето | 1,20-1,84 | 0,10-8,80 | 0,04-2,45 | 0,42-2,38 |
| | | 1,47±0,10 | 2,51±1,34 | 0,75±0,36 | 1,44±0,27 |
| | осень | 0,66-1,39 | 0,46-7,57 | 0,10-0,95 | 0,25-2,71 |
| | | 1,09±0,13 | 2,25±1,09 | 0,49±0,13 | 1,14±0,47 |
| | год | 0,66-2,00 | 0,10-8,80 | 0,04-2,45 | 0,25-4,05 |
| | | 1,43±0,08 | 2,59±0,55 | 0,79±0,14 | 1,87±0,27 |

продолжение таблицы А. 2

| | | | | | |
|------|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 2018 | весна | 1,82-2,50 | 0,21-1,13 | 0,12-0,57 | 0,17-5,80 |
| | | 2,11±0,10 | 0,58±0,17 | 0,29±0,07 | 2,07±0,79 |
| | лето | 1,12-2,00 | 0,19-0,84 | 0,07-0,31 | 0,12-0,87 |
| | | 1,64±0,15 | 0,40±0,11 | 0,18±0,04 | 0,30±0,12 |
| | осень | 0,64-1,66 | 0,10-0,60 | 0,10-0,32 | 0,12-1,10 |
| | | 1,17±0,20 | 0,31±0,08 | 0,17±0,03 | 0,30±0,16 |
| | год | 0,64-2,50 | 0,10-1,13 | 0,07-0,57 | 0,12-5,80 |
| | | 1,64±0,13 | 0,43±0,07 | 0,32±0,04 | 0,89±0,33 |

Таблица А. 3 – Соотношение различных групп бактериопланктона в поверхностном и придонном горизонтах воды приглубой зоны западной части Северного Каспия

| Год | Сезон | Поверхностный горизонт | | | Придонный горизонт | | |
|------|-----------------|------------------------|-------------|-----------------|--------------------|-------------|------------|
| | | К (Разумова), ед. | Ку,% | Кт, ед. | К (Разумова), ед. | Ку,% | Кт, ед. |
| 2013 | лето | 9,24-1137,25 | 1,95-33,33 | н/д | 9,08-575,22 | 2,22-24,13 | н/д |
| | | 451,00±170,37 | 14,11±4,58 | н/д | 282,90±102,03 | 14,98±3,59 | н/д |
| | осень | 12,78-293,14 | 4,78-52,46 | н/д | 8,14-188,38 | 2,43-47,49 | н/д |
| | | 70,29±44,84 | 18,83±7,56 | н/д | 51,90±28,02 | 22,39±6,47 | н/д |
| | год | 9,24-1137,25 | 1,95-52,46 | н/д | 8,14-575,22 | 2,22-47,49 | н/д |
| | | 260,64±101,72 | 16,47±4,27 | н/д | 167,40±61,29 | 18,69±3,70 | н/д |
| 2014 | весна | 453,05-741,90 | 38,26-88,11 | н/д | 835,40-1431,34 | 49,19-97,38 | н/д |
| | | 601,03±43,72 | 74,13±7,49 | н/д | 1135,97±115,55 | 71,01±8,78 | н/д |
| | лето | 1044,44-5225,81 | 11,88-38,71 | н/д | 913,46-1566,67 | 70,45-94,90 | н/д |
| | | 2404,87±816,55 | 24,38±4,31 | н/д | 1149,61±98,21 | 85,86±3,59 | н/д |
| | осень | 192,45-1521,74 | 1,11-12,31 | н/д | 865,77-1480,00 | 41,33-90,60 | н/д |
| | | 756,23±210,89 | 10,08±1,80 | н/д | 1127,80±91,27 | 78,34±7,76 | н/д |
| год | 192,45-5225,81 | 1,11-88,11 | н/д | 835,40-1566,67 | 41,33-97,38 | н/д | |
| | 1254,04±330,31 | 36,20±7,21 | н/д | 1137,79±55,46 | 100,52±6,05 | н/д | |
| 2015 | весна | 4039,58-12565,24 | 14,84-84,08 | н/д | 4085,39-13654,07 | 4,85-65,99 | н/д |
| | | 6610,93±1317,88 | 40,61±10,62 | н/д | 6191,84±1504,56 | 32,78±10,15 | н/д |
| | лето | 1155,56-5600,00 | 33,33-88,89 | н/д | 945,45-7000,00 | 38,92-90,91 | н/д |
| | | 3285,75±885,51 | 52,94±9,01 | н/д | 3704,04±1151,93 | 59,92±7,21 | н/д |
| | осень | 147,92-647,62 | 7,69-39,29 | н/д | 213,90-789,47 | 7,37-81,41 | н/д |
| | | 446,84±74,07 | 31,14±4,97 | н/д | 492,81±81,01 | 39,74±10,63 | н/д |
| год | 147,92-12565,24 | 7,69-88,89 | н/д | 213,90-13654,07 | 4,85-90,91 | н/д | |
| | 3447,84±788,02 | 41,57±5,11 | н/д | 3462,89±820,24 | 44,15±5,84 | н/д | |
| 2016 | весна | 48,60-221,81 | 40,58-97,78 | 2,34-6,24 | 58,76-166,51 | 34,77-91,85 | 0,82-3,39 |
| | | 95,90±27,06 | 54,04±8,83 | 4,31±0,58 | 91,79±15,66 | 51,43±9,03 | 2,15±0,33 |
| | лето | 21,53-723,53 | 5,88-48,00 | 0,74-44,31 | 22,02-781,51 | 4,23-50,94 | 0,85-35,59 |
| | | 462,97±106,31 | 24,00±7,95 | 8,87±7,12 | 431,37±108,05 | 21,39±8,17 | 7,57±5,66 |
| | осень | 208,22-2425 | 9,59-343,52 | 0,08-1,46 | 186,74-2888,89 | 8,95-200,62 | 0,09-1,55 |
| | | 910,06±331,54 | 80,95±52,95 | 0,66±0,20 | 850,72±415,33 | 53,30±29,96 | 0,81±0,23 |
| год | 21,53-2425,00 | 5,88-343,52 | 0,08-44,31 | 22,02-2888,89 | 4,23-200,62 | 0,09-35,59 | |
| | 489,64±135,92 | 52,99±17,90 | 4,61±2,38 | 457,96±154,1 | 42,04±10,73 | 3,51±1,91 | |
| 2017 | весна | 67,75-171,98 | 20,43-62,50 | 1,19-2,40 | 435,75-685,05 | 29,94-48,99 | 0,59-1,22 |
| | | 106,06±14,90 | 41,78±6,52 | 1,68±0,17 | 580,99±36,28 | 38,43±3,02 | 1,03±0,10 |
| | лето | 252,58-16181,82 | 4,69-96,77 | 0,22-7,96 | 177,27-16400,00 | 5,45-104,55 | 0,24-7,59 |
| | | 3723,38±2520,08 | 49,85±16,69 | 1,91±1,25 | 3686,34±2571,5 | 51,66±16,80 | 2,02±1,18 |
| | осень | 142,42-1761,90 | 11,49-67,86 | 0,40-15,19 | 109,64-2065,22 | 12,55-62,60 | 0,49-17,6 |
| | | 1046,65±243,87 | 33,39±8,12 | 3,96±2,31 | 1027,47±293,71 | 30,72±7,32 | 4,41±2,70 |
| год | 67,75-16181,82 | 4,69-96,77 | 0,22-15,19 | 109,64-16400,00 | 5,45-104,55 | 0,24-17,6 | |
| | 1625,36±875,57 | 41,67±6,37 | 2,51±0,86 | 1764,93±876,02 | 40,27±6,18 | 2,49±0,98 | |

продолжение таблицы А. 3

| | | | | | | | |
|------|-------|----------------|-------------|-----------|------------------|--------------|-----------|
| 2018 | весна | 235,84-5683,78 | 9,76-96,72 | 0,10-1,53 | 1638,66-10288,34 | 14,41-93,10 | 0,04-1,71 |
| | | 2988,40±860,19 | 67,00±14,86 | 0,81±0,27 | 5718,98±1507,58 | 62,46±11,69 | 0,60±0,24 |
| | лето | 966,48-5750,00 | 20,61-91,67 | 0,09-0,66 | 1809,52-10526,32 | 26,19-91,30 | 0,97-2,30 |
| | | 3219,11±862,44 | 42,75±10,48 | 0,38±0,09 | 5532,83±1359,27 | 51,24±9,51 | 1,60±0,22 |
| | осень | 509,68-2600,00 | 9,68-66,67 | 0,75-7,69 | 1480,77-16600,00 | 37,04-100,00 | 0,25-4,29 |
| | | 976,02±329,05 | 35,41±9,86 | 3,19±1,01 | 5821,97±2337,32 | 65,47±10,71 | 2,05±0,70 |
| | год | 235,84-5750,00 | 9,68-96,72 | 0,09-7,69 | 1480,77-16600,00 | 14,41-100,00 | 0,04-4,29 |
| | | 2394,51±464,52 | 48,39±7,26 | 1,46±0,44 | 5691,26±969,74 | 107,52±19,96 | 1,41±0,28 |

Таблица А. 4 – Численность и соотношение различных групп бактериобентоса в донных отложениях приглубой зоны западной части Северного Каспия

| Год | Сезон | Численность культивируемых гетеротрофных бактерий, тыс. КОЕ/мл | | | Соотношение различных групп микроорганизмов | |
|------|-------|--|--------------|-----------------------|---|------------|
| | | Сапротрофные бактерии | УОБ | Олиготрофные бактерии | Ку, % | Кт, ед. |
| 2013 | лето | 2,80-610,00 | 0,17-36,00 | н/д | 1,93-44,12 | н/д |
| | | 149,13±101,00 | 8,98±5,68 | н/д | 17,61±6,07 | н/д |
| | осень | 2,73-580,00 | 0,80-102,00 | н/д | 1,59-91,89 | н/д |
| | | 220,49±95,16 | 29,95±16,22 | н/д | 28,63±13,62 | н/д |
| | год | 2,73-610,00 | 0,17-102,00 | н/д | 1,59-91,89 | н/д |
| | | 184,81±67,02 | 19,47±8,78 | н/д | 23,12±7,30 | н/д |
| 2014 | весна | 62,21-99,00 | 33,33-57,4 | н/д | 33,67-92,27 | н/д |
| | | 81,00±6,12 | 44,30±3,96 | н/д | 57,92±9,37 | н/д |
| | лето | 0,67-56,00 | 0,17-7,90 | н/д | 6,61-29,17 | н/д |
| | | 28,23±9,35 | 3,36±1,18 | н/д | 17,40±3,66 | н/д |
| | осень | 3,10-280,00 | 0,31-25,20 | н/д | 0,58-19,03 | н/д |
| | | 63,48±44,46 | 4,85±4,08 | н/д | 9,90±2,49 | н/д |
| | год | 0,67-280,00 | 0,17-57,4 | н/д | 0,58-92,27 | н/д |
| | | 57,57±15,31 | 17,50±4,94 | н/д | 28,41±6,06 | н/д |
| 2015 | весна | 2,81-8,61 | 2,05-2,79 | н/д | 28,78-99,44 | н/д |
| | | 6,10±0,82 | 2,45±0,12 | н/д | 46,65±10,85 | н/д |
| | лето | 14,00-25,20 | 1,10-8,50 | н/д | 4,80-60,71 | н/д |
| | | 19,13±2,15 | 3,00±1,22 | н/д | 18,12±8,87 | н/д |
| | осень | 28,50-217,00 | 2,00-79,00 | н/д | 1,42-56,43 | н/д |
| | | 114,25±29,67 | 28,13±12,76 | н/д | 23,52±8,16 | н/д |
| | год | 2,81-217,00 | 1,10-79,00 | н/д | 1,42-99,44 | н/д |
| | | 46,49±14,95 | 11,19±4,96 | н/д | 29,43±5,90 | н/д |
| 2016 | весна | 273,49-400,35 | 43,45-114,89 | 97,36-186,89 | 15,89-30,67 | 2,00-3,16 |
| | | 336,00±23,27 | 73,11±9,86 | 130,00±12,66 | 21,73±2,49 | 2,65±0,19 |
| | лето | 13,00-190 | 7,00-27,60 | 4,00-38,00 | 14,53-92,31 | 0,55-36,54 |
| | | 59,50±26,78 | 17,27±3,02 | 16,32±5,13 | 44,96±10,66 | 9,10±5,68 |
| | осень | 29,50-632,00 | 3,60-78,50 | 2,00-420,00 | 7,81-47,97 | 1,50-23,00 |
| | | 158,08±95,98 | 22,21±11,83 | 78,53±68,31 | 17,97±6,28 | 7,63±3,30 |
| | год | 13,00-632,00 | 3,60-114,89 | 2,00-420,00 | 7,81-92,31 | 0,55-36,54 |
| | | 184,53±42,39 | 37,53±7,85 | 74,95±24,55 | 28,22±4,90 | 6,46±2,16 |
| 2017 | весна | 63,92-109,11 | 12,60-18,91 | 29,52-76,73 | 11,55-28,40 | 1,00-2,62 |
| | | 82,40±6,94 | 15,49±1,06 | 52,70±6,94 | 19,86±2,67 | 1,71±0,26 |
| | лето | 2,00-23,45 | 1,00-6,55 | 12,10-63,00 | 10,00-50,00 | 0,05-1,48 |
| | | 14,94±3,27 | 3,53±1,02 | 35,33±8,58 | 25,92±5,84 | 0,67±0,24 |
| | осень | 6,00-98,30 | 2,00-39,50 | 10,50-30,70 | 5,19-83,33 | 0,28-3,92 |
| | | 51,13±15,3 | 16,92±6,12 | 21,49±3,10 | 42,10±13,74 | 2,40±0,55 |
| | год | 2,00-109,11 | 1,00-39,50 | 10,50-76,73 | 5,19-83,33 | 0,05-3,92 |
| | | 49,49±8,57 | 11,98±2,45 | 36,51±4,74 | 29,29±5,27 | 1,59±0,27 |

продолжение таблицы А. 4

| | | | | | | |
|------|-------|--------------|-------------|--------------|-------------|-------------|
| 2018 | весна | 17,90-438,00 | 12,40-59,86 | 16,70-176,00 | 13,67-84,58 | 0,34-2,49 |
| | | 106,19±66,81 | 24,64±7,43 | 94,75±27,23 | 45,75±10,60 | 1,02±0,32 |
| | лето | 5,40-140,00 | 0,20-20,00 | 3,50-52,00 | 3,70-48,33 | 0,40-17,14 |
| | | 43,83±20,72 | 9,28±2,84 | 19,72±7,26 | 26,25±7,51 | 4,55±2,70 |
| | осень | 6,00-120,00 | 0,20-3,00 | 1,25-29,50 | 0,42-28,33 | 1,33-96,00 |
| | | 48,33±17,24 | 1,25±0,43 | 8,03±4,38 | 6,71±4,37 | 20,41±15,21 |
| | год | 5,40-438,00 | 0,20-59,86 | 1,25-176,00 | 0,42-84,58 | 0,34-96,00 |
| | | 66,12±23,58 | 11,72±3,43 | 40,83±12,91 | 26,24±5,78 | 8,66±5,25 |

продолжение таблицы Б. 1

| | | | | | | | |
|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Salinococcus sp. | лето | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 2,86 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 2,70 | 0,00 | 0,00 |
| Salmonella sp. | лето | 1,49 | 13,95 | 1,64 | 2,86 | 0,00 | 1,92 |
| | осень | 4,08 | 1,79 | 0,00 | 5,41 | 2,04 | 3,03 |
| Serratia sp. | лето | 2,99 | 0,00 | 1,64 | 0,00 | 4,35 | 9,62 |
| | осень | 0,00 | 1,79 | 5,36 | 0,00 | 6,12 | 3,03 |
| Shigella sp. | лето | 2,99 | 2,33 | 1,64 | 2,86 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 1,79 | 0,00 | 2,70 | 0,00 | 0,00 |
| Staphylococcus sp. | лето | 10,45 | 20,93 | 11,48 | 11,43 | 6,52 | 9,62 |
| | осень | 6,12 | 3,57 | 12,50 | 8,11 | 10,20 | 6,06 |
| Vibrio sp. | лето | 2,99 | 0,00 | 19,67 | 14,29 | 17,39 | 13,46 |
| | осень | 12,24 | 12,50 | 5,36 | 5,41 | 14,29 | 15,15 |

Таблица Б. 2 – Видовой состав культивируемого сапротрофного бактериобентоса

| Вид бактерий | Сезон | Год исследований | | | | | |
|---------------------|-------|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 |
| Acinetobacter sp. | лето | 5,41 | 2,94 | 11,11 | 0,00 | 7,69 | 4,17 |
| | осень | 4,76 | 4,00 | 0,00 | 0,00 | 2,94 | 3,57 |
| Aeromonas sp. | лето | 8,11 | 0,00 | 5,56 | 7,14 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 9,52 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 2,94 | 0,00 |
| Alcaligenes sp. | лето | 8,11 | 5,88 | 11,11 | 0,00 | 3,85 | 0,00 |
| | осень | 19,05 | 4,00 | 7,14 | 0,00 | 2,94 | 0,00 |
| Arthrobacter sp. | лето | 0,00 | 0,00 | 5,56 | 7,14 | 26,92 | 4,17 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 5,26 | 8,82 | 7,14 |
| Bacillus sp. | лето | 10,81 | 14,71 | 5,56 | 14,29 | 11,54 | 20,83 |
| | осень | 19,05 | 36,00 | 14,29 | 15,79 | 14,71 | 14,29 |
| Citrobacter sp. | лето | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 7,14 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 4,76 | 8,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Corynebacterium sp. | лето | 0,00 | 2,94 | 22,22 | 7,14 | 3,85 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 4,00 | 7,14 | 5,26 | 2,94 | 0,00 |
| Edwardsiella sp. | лето | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 5,88 | 7,14 |
| Enterobacter sp. | лето | 2,70 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 4,76 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Enterococcus sp. | лето | 5,41 | 5,88 | 0,00 | 7,14 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 10,53 | 0,00 | 0,00 |
| Flavobacterium sp. | лето | 2,70 | 2,94 | 0,00 | 21,43 | 3,85 | 29,17 |
| | осень | 4,76 | 8,00 | 0,00 | 15,79 | 2,94 | 21,43 |
| Hafnia sp. | лето | 0,00 | 2,94 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Klebsiella sp. | лето | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 14,29 | 0,00 | 5,88 | 0,00 |
| Marinococcus sp. | лето | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 7,14 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 5,26 | 0,00 | 0,00 |
| Moraxella sp. | лето | 2,70 | 0,00 | 11,11 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 14,29 | 0,00 | 5,88 | 0,00 |
| Nocardia sp. | лето | 0,00 | 2,94 | 0,00 | 0,00 | 3,85 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 4,00 | 0,00 | 5,26 | 5,88 | 7,14 |
| Plesiomonas sp. | лето | 0,00 | 2,94 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Proteus sp. | лето | 0,00 | 5,88 | 5,56 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 7,14 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Pseudomonas sp. | лето | 24,32 | 14,71 | 5,56 | 7,14 | 7,69 | 16,67 |
| | осень | 23,81 | 8,00 | 14,29 | 5,26 | 11,76 | 10,71 |
| Salmonella sp. | лето | 5,41 | 2,94 | 0,00 | 0,00 | 7,69 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 4,00 | 0,00 | 10,53 | 2,94 | 0,00 |
| Serratia sp. | лето | 0,00 | 5,88 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 3,57 |
| Shigella sp. | лето | 2,70 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 8,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Staphylococcus sp. | лето | 8,11 | 5,88 | 0,00 | 7,14 | 7,69 | 4,17 |
| | осень | 0,00 | 4,00 | 0,00 | 15,79 | 2,94 | 0,00 |
| Vibrio sp. | лето | 13,51 | 20,59 | 16,67 | 7,14 | 15,38 | 20,83 |
| | осень | 9,52 | 8,00 | 21,43 | 5,26 | 20,59 | 25,00 |

Таблица Б. 3 – Видовой состав культивируемого углеводородокисляющего бактериопланктона

| Вид бактерий | Сезон | Год исследований | | | | | |
|---------------------|-------|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 |
| Acinetobacter sp. | лето | 3,45 | 12,90 | 7,41 | 0,00 | 3,57 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 7,41 | 6,67 | 0,00 | 7,41 | 0,00 |
| Alcaligenes sp. | лето | 3,45 | 3,23 | 3,70 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 7,41 | 3,33 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Arthrobacter sp. | лето | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 3,70 | 0,00 |
| Bacillus sp. | лето | 13,79 | 3,23 | 7,41 | 24,00 | 17,86 | 12,50 |
| | осень | 25,00 | 11,11 | 16,67 | 23,81 | 14,81 | 16,00 |
| Citrobacter sp. | лето | 0,00 | 3,23 | 3,70 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 3,70 | 6,67 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Corynebacterium sp. | лето | 3,45 | 0,00 | 7,41 | 4,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 7,14 | 3,70 | 6,67 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Edwardsiella sp. | лето | 0,00 | 6,45 | 0,00 | 4,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 3,70 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Enterobacter sp. | лето | 0,00 | 0,00 | 7,41 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 6,67 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Enterococcus sp. | лето | 3,45 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 3,57 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Flavobacterium sp. | лето | 3,45 | 3,23 | 3,70 | 8,00 | 0,00 | 12,50 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 3,33 | 9,52 | 3,70 | 8,00 |
| Klebsiella sp. | лето | 0,00 | 0,00 | 3,70 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 6,67 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Nocardia sp. | лето | 0,00 | 3,23 | 0,00 | 8,00 | 3,57 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 7,41 | 0,00 | 9,52 | 7,41 | 8,00 |
| Proteus sp. | лето | 6,90 | 3,23 | 3,70 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 3,57 | 3,70 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Pseudomonas sp. | лето | 31,03 | 38,71 | 22,22 | 44,00 | 39,29 | 50,00 |
| | осень | 46,43 | 37,04 | 20,00 | 33,33 | 44,44 | 24,00 |
| Rhodococcus sp. | лето | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 3,57 | 6,25 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 3,70 | 8,00 |
| Salinococcus sp. | лето | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 9,52 | 3,70 | 8,00 |
| Serratia sp. | лето | 10,34 | 6,45 | 0,00 | 0,00 | 3,57 | 0,00 |
| | осень | 3,57 | 3,70 | 0,00 | 0,00 | 3,70 | 8,00 |
| Staphylococcus sp. | лето | 0,00 | 3,23 | 3,70 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 6,67 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Vibrio sp. | лето | 20,69 | 12,90 | 25,93 | 8,00 | 25,00 | 18,75 |
| | осень | 14,29 | 11,11 | 16,67 | 14,29 | 7,41 | 20,00 |

Таблица Б. 4 – Видовой состав культивируемого углеводородокисляющего бактериобентоса

| Вид бактерий | Сезон | Год исследований | | | | | |
|---------------------|-------|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 |
| Acinetobacter sp. | лето | 8,33 | 0,00 | 12,50 | 8,33 | 9,09 | 0,00 |
| | осень | 5,56 | 5,00 | 9,09 | 8,33 | 12,50 | 9,09 |
| Alcaligenes sp. | лето | 4,17 | 15,38 | 0,00 | 0,00 | 9,09 | 0,00 |
| | осень | 5,56 | 10,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Bacillus sp. | лето | 16,67 | 15,38 | 12,50 | 8,33 | 13,64 | 13,33 |
| | осень | 22,22 | 15,00 | 9,09 | 25,00 | 6,25 | 9,09 |
| Citrobacter sp. | лето | 8,33 | 0,00 | 12,50 | 16,67 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Corynebacterium sp. | лето | 8,33 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 11,11 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Enterobacter sp. | лето | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 9,09 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Enterococcus sp. | лето | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 6,25 | 0,00 |
| Flavobacterium sp. | лето | 8,33 | 7,69 | 0,00 | 16,67 | 4,55 | 6,67 |
| | осень | 5,56 | 5,00 | 0,00 | 0,00 | 12,50 | 0,00 |
| Nocardia sp. | лето | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 16,67 | 4,55 | 13,33 |
| | осень | 0,00 | 5,00 | 0,00 | 0,00 | 6,25 | 0,00 |
| Pseudomonas sp. | лето | 29,17 | 46,15 | 43,75 | 33,33 | 31,82 | 33,33 |
| | осень | 27,78 | 35,00 | 63,64 | 58,33 | 25,00 | 36,36 |
| Rhodococcus sp. | лето | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 9,09 | 0,00 |
| | осень | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 12,50 | 0,00 |
| Serratia sp. | лето | 8,33 | 15,38 | 0,00 | 0,00 | 9,09 | 13,33 |
| | осень | 11,11 | 5,00 | 0,00 | 0,00 | 6,25 | 18,18 |
| Staphylococcus sp. | лето | 8,33 | 0,00 | 12,50 | 0,00 | 0,00 | 6,67 |
| | осень | 5,56 | 10,00 | 9,09 | 0,00 | 6,25 | 18,18 |
| Vibrio sp. | лето | 0,00 | 0,00 | 6,25 | 0,00 | 9,09 | 13,33 |
| | осень | 5,56 | 10,00 | 0,00 | 8,33 | 6,25 | 9,09 |