

БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ,
БИОТЕХНОЛОГИЯ И АКВАКУЛЬТУРА

УДК 579.6.017.85(268.45)

DOI: [10.21072/eco.2023.28.03](https://doi.org/10.21072/eco.2023.28.03)

**ОЦЕНКА БИОТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ПОТЕНЦИАЛА ШТАММОВ
МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ БАРЕНЦЕВА МОРЯ ***

Кожухова Е. В., Макаревич Е. В., Литвинова М. Ю., Балачина Е. С.

ФГАОУ ВО «Мурманский арктический университет», г. Мурманск, Российская Федерация,

e-mail: kozkhovaev@mstu.edu.ru

Аннотация: Применение в биоремедиации акваторий Баренцева моря активных микроорганизмов-трансформаторов, изолированных непосредственно из природных гидроэкосистем Крайнего Севера, наиболее целесообразно, поскольку изоляты обладают специфичными ферментативными комплексами, адаптированы к факторам окружающей среды, не являются генетически модифицированными и не оказывают токсического действия на других гидробионтов экосистемы. В работе приведена оценка потенциала гетеротрофных микроорганизмов, выделенных из различных районов Баренцева моря, к трансформации фосфор- и углеводородсодержащих соединений на основании комплекса физико-химических показателей (фосфатаккумулирующая и углеводородокисляющая способности, флокулирующая активность биодеструкторов, уровень гидрофобности поверхности бактериальных клеток и индекс эмульгирующей активности нефтепродуктов). Исследуемые культуры в условиях, имитирующих состав опреснённых морских экосистем, проявляли способность к утилизации поллютантов в пределах 25–44 %. Однако в модельных экспериментах из семи тестируемых штаммов всего лишь три культуры (*B. cereus*, *S. proteamaculans* и *Sh. baltica*) показали средний уровень биотрансформирующей активности, достигнув отметки в 43 %.

Ключевые слова: гетеротрофные бактерии, Баренцево море, фосфор, углеводороды, микробная трансформация, биофлокуляция.

Введение

Водные экосистемы Арктического региона характеризуются повышенной уязвимостью и высокой антропогенной нагрузкой. Различные абиотические факторы среды (в первую очередь низкие уровни температуры и инсоляции) приводят к замедлению биологических процессов трансформации различных веществ и отдельных элементов в акватории Баренцева моря [Голубовская, 1978; Очистка производственных ... , 1985]. Несмотря на огромную связь фосфора с развитием жизни в водоёмах, стремительно возрастающие объёмы фосфорсодержащих веществ и низкая интенсивность поглощения органических и минеральных форм фосфора фитопланктоном в климатических условиях Арктики обуславливают неизбежное накопление данного элемента. Переизбыток в водоёмах важнейшего из биогенов приводит к нарушению биологических процессов в водных экосистемах [Бабинова, Герасимова, Орлова, 2003; Экологический мониторинг ... , 2003; Денисов, Павлинова, Климова, 2006; Миндубаев и др., 2011; Кисленко, Колычев, Госманов, 2012; Богданова, 2014; Материалы международной ... , 2019]. Различные участки Баренцева моря также подвержены хроническому влиянию загрязняющих

*Исследование выполнено в рамках инициативной НИОКР № 124041100063-4 «Изучение структуры и функциональной характеристики микробных сообществ Арктического региона для комплексной оценки их экологической роли и биотехнологического потенциала».

веществ углеводородного происхождения [Ильинский, Коронелли, Семененко, 1990; Ильинский, Измайлов, 1992; Ежегодные доклады ... , 2018–2022]. Ввиду малой растворимости большинства нефтепродуктов в воде, при их попадании в водную среду образуется двухфазная система, что приводит к замедлению процессов биотрансформации токсичных для гидробионтов углеводородов [Ильинский, 2000].

Спецификой круговорота фосфора в природе является незамкнутость цикла, поскольку наблюдается однонаправленный поток данного элемента из горных пород суши в океанические глубины [Benitez-Nelson, 2000; Paytan, McLaughlin, 2007]. В связи с этим фосфорный обмен в водоёмах обеспечивается в значительной мере за счёт трансформации различных форм фосфора бактериями [Павлова, 2009; Дзюба, Маркевич, Сигиневич, 2011; Доняров и др., 2020]. Под биотрансформацией фосфора в основном подразумевается минерализация органических соединений фосфора в неорганические фосфаты и перевод нерастворимых форм фосфора в более доступные для организмов растворимые. Определённые группы бактерий, являющиеся неотъемлемыми компонентами водного микробиоценоза, также способны целенаправленно мобилизовать в своих клетках растворённые формы фосфора в виде полифосфатных гранул. И, несмотря на то что накопление полифосфатов является универсальной способностью многих микроорганизмов, данная возможность позволила некоторым фосфатаккумулирующим бактериям (представителям родов *Acinetobacter*, *Aerobacter*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Zoogloea* и т. д.) участвовать в усовершенствовании процесса биологического удаления фосфора из сточных вод [Павлова, 2009; Дзюба, Маркевич, Сигиневич, 2011]. Кроме этого, микробная мобилизация фосфора, по всей видимости, играет важную экологическую роль в извлечении фосфора из донных отложений крупных малоподвижных водных объектов [Carman, Edlund, Damberg, 2000; Hupfer, Ruübe, Schmieder, 2004; Hupfer, Gloess, Grossart, 2007], поскольку скорость биохимических процессов трансформации загрязняющих веществ определяется в том числе гидродинамической характеристикой водного пространства. Таким образом, универсальная, на первый взгляд, способность бактерий к ферментативному дефосфатированию водной среды даёт им конкурентное преимущество по отношению к другим микроорганизмам, не способным накапливать внутриклеточные резервы.

Помимо способности связывать фосфор, некоторые бактерии, функционируя в водной среде, также способны проявлять флокулирующую активность. Синтезируя в окружающую среду внеклеточные полимеры (биофлокулянты), бактерии формируют некие флокулы (устойчивые хлопья, состоящие из микроорганизмов и синтезируемых ими же веществ), которые адсорбируют на себе трудноокисляемые или недоокисленные химические соединения и нерастворимые в водной среде взвешенные частицы. Процесс хлопьеобразования в конечном итоге направлен на обеспечение относительно быстрой седиментации специфических конгломератов в водной среде и тем самым способствует очищению водной фазы от вышеупомянутых веществ [Денисов и др., 1996; Сироткин, Шагинурова, Ипполитов, 2007]. По мнению некоторых исследователей, в процессе внутриклеточной деградации накопленных соединений фосфора разрыв полифосфатных связей с целью использования энергии не приводит к выбросу больших концентраций фосфатов обратно в окружающую среду [Шеломков, Захватаева, 2008; Дзюба, Маркевич, Сигиневич, 2011]. Однако присущие природным гидроэкосистемам нестабильные условия существования так или иначе способствуют периодическому нарушению баланса между лизированными и активно развивающимися бактериальными клетками. В таком случае гибель фосфатаккумулирующих бактерий закономерно сопровождается отдачей фосфора обратно во внешнюю среду [Васильев и др., 2001]. Для дальнейшего снижения в толще воды концентрации фосфора перспективным является вовлечение его во флокулы и осаждение с последующими процессами биотрансформации в донных слоях водоёмов.

Возможность усваивать углеводороды в качестве единственного источника углерода и энергии также присуща самым разнообразным представителям микромира. Микробная деградация нефти и продуктов её переработки возможна благодаря высокой окислительной активности клеток прокариот и многоэтапному процессу превращения исходных углеводородов и промежуточных продуктов их распада. Наличие у бактерий, окисляющих углеводороды, специфических экзо- и эндоферментов позволяет данной группе микроорганизмов не только расщеплять трудноусвояемые органические соединения, но и снижать их концентрацию до нетоксичного для других деструкторов уровня. Это особенно важно в работе целого бактериального консорциума, задачей которого является комплексная утилизация поллютантов из водной среды. Используя продукты нефтепереработки в своём метаболизме, углеводородоокисляющие бактерии вносят колоссальный вклад в процессы биохимического разрушения нефтепродуктов [Коронелли и др., 1994; Литвинова, 2013; Пуговкин, 2016]. В настоящее время известны по крайней мере около восьмидесяти родов бактерий, способных утилизировать углеводороды без вреда для собственного онтогенеза [Head, Jones, Roling, 2006]. При этом способность потреблять нефтепродукты довольно часто встречается у бактериальных культур, отнесённых к родам *Aeromonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Shewanella*, *Vibrio* и др., широко распространённых в водах северных морей [Белоусова, Шкидченко, 2004; Шигаева и др., 2010; Lo Giudice et al., 2010]. Однако в условиях низких температур скорость естественного очищения водоёмов, во многом определяющаяся активностью представителей гетеротрофного бактериоценоза, неизбежно снижается [Ильинский, 2000; Перетрухина, Ильинский, Литвинова, 2006]. Данный факт диктует необходимость всесторонне изучать биотрансформирующий потенциал аборигенных микроорганизмов гидроэкосистем Арктики. Полученные в результате подобных экспериментов данные будут важны как для понимания «судьбы» поллютантов в низкотемпературной среде, так и для контроля их содержания в различных водоёмах. К тому же, несмотря на пристальное внимание биологов к экосистемам Арктического региона, данных об экологии микробной трансформации различных поллютантов в полярных широтах мало.

Очевидно, что высокоширотные представители бактериопланктона обладают уникальным комплексом метаболических особенностей и высокой способностью к снижению концентраций фосфора и углеводородных соединений в водной среде с низкими плюсовыми температурами. Изучение способностей, благодаря которым в естественных условиях «работы» северных штаммов микроорганизмов осуществляется не только деструкция веществ, но и другие немаловажные процессы (изъятие из водного компонента органического и минерального фосфора, взвешенных веществ, трудноокисляемых и недоокисленных соединений), представляется весьма актуальным вопросом и имеет практический интерес. Систематические исследования аборигенных психрофильных и психротрофных представителей водных бактериоценозов приведут к выделению высокоэффективных биодеструкторов и дальнейшему использованию их в качестве основы биопрепаратов для эффективной очистки акваторий региона от различных загрязняющих веществ. Кроме того, такого рода биопроспектинг поможет в дальнейшем использовать ценные штаммы микроорганизмов и в других областях народного хозяйства. Таким образом, цель данной работы заключалась в сравнительной оценке потенциала гетеротрофных микроорганизмов, выделенных из различных районов Баренцева моря, к трансформации фосфор- и углеводородсодержащих соединений на основании комплекса показателей. Биотрансформирующий потенциал исследуемых штаммов оценивался по способности культур в той или иной мере мобилизовать фосфорсодержащие соединения (показатель N2) и окислять нефтепродукты (показатель N1), а также по степени флокулирующей активности биодеструкторов (показатель N3), уровню гидрофобности поверхности бактериальных клеток (показатель N4) и индексу эмульгирующей активности нефтепродуктов (показатель N5).

Материалы и методы

В качестве объектов исследования в данной работе использовали ранее выделенные в лабораторных условиях и идентифицированные на основе изучения морфокультуральных и физиолого-биохимических свойств [Bergey's Manual ... , 2005] чистые культуры микроорганизмов, обитающих в акватории Баренцева моря. Культуры выделяли из проб воды, отобранных в июне 2022 г. на четырёх удалённых друг от друга станциях акватории Баренцева моря (рис. 1), две из которых расположены в южном колене Кольского залива — кутовой части залива (ст. № 1) и прибрежной зоне микрорайона Абрам-Мыс (ст. № 2), остальные две — в губе Ура: прибрежная (ст. № 3) и морская зоны (ст. № 4). Технически отбор проб осуществляли, ориентируясь на актуальные рекомендации нормативно-технической документации и практической научной литературы [ГОСТ 17.1.5.04–81; ГОСТ 31861–2012; ГОСТ 31942–2012; Практическая гидробиология ... , 2006].

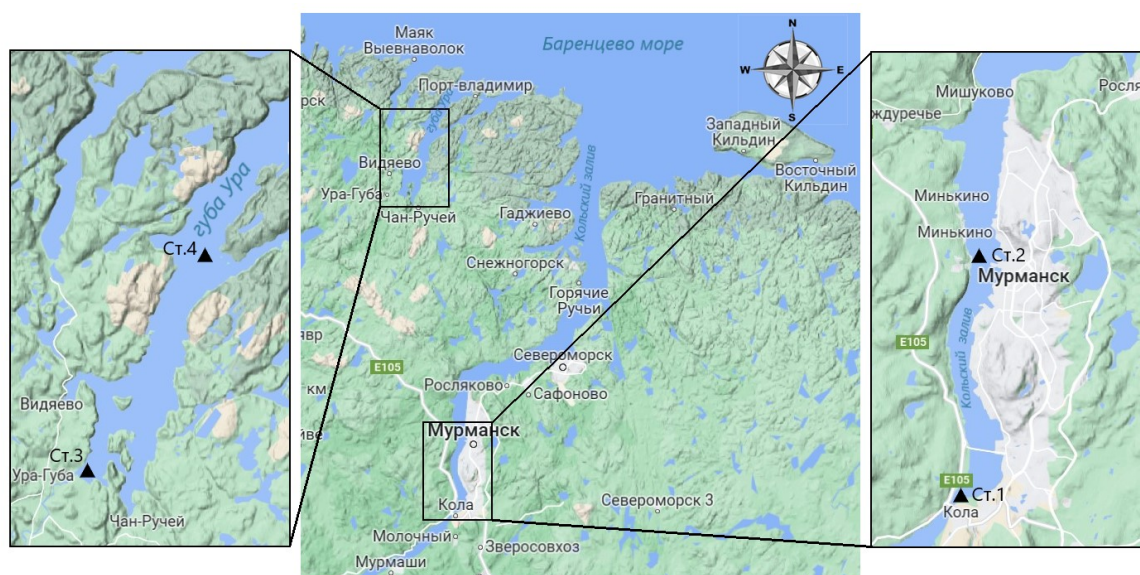


Рис. 1. Карта-схема Мурманского берега Баренцева моря с расположением станций отбора проб №№ 1–4

До вида культуры идентифицировали с помощью физико-химического метода анализа на масс-спектрометре Microflex (Bruker Daltonics, Германия). Результатом тщательного отбора стали семь бактериальных штаммов, относящихся к пяти различным родам, — *Aeromonas*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia* и *Shewanella*. Бактериальные штаммы, выделенные из воды на станции 1, относились к видам *Pseudomonas taetrolens* и *Shewanella baltica*, на станции 2 — *Aeromonas bestiarum*, *Bacillus cereus* (шт. № 1) и *Serratia proteamaculans*, на станции 3 — *Pseudomonas protegens*, а на станции 4 — *Bacillus cereus* (шт. № 2). Из выращенных на скошенной среде суточных культур целевых штаммов готовили суспензии с определённой концентрацией клеток путём смыва изотоническим раствором в стерильные пробирки. Стандартизацию бактериальных взвесей проводили методом визуального сравнения мутности полученных растворов по отношению к стандартному образцу мутности бактерийных взвесей СОП 1-98-15 «Ормет» (Россия) согласно инструкции. В качестве стандартного образца мутности был выбран вариант БАК-5, эквивалентный пяти международным единицам (5 МЕ) бактериальной мутности и соответствующий концентрации клеток в диапазоне $0,02–0,6 \times 10^9$ кл./мл. Полученная суспензия являлась инокулятом для последующего культивирования в модельных питательных средах (МПС) различного состава (табл. 1).

Таблица 1

Состав модельных питательных сред для оценки биотрансформирующего потенциала культивируемых штаммов

Компоненты питательной среды, г/л	Обозначение питательной среды			
	ММС 3 ‰ + PO ₄ ³⁻	ММС 32 ‰ + PO ₄ ³⁻	ММС 3 ‰ + ДТ	ММС 32 ‰ + ДТ
MgSO ₄ × 7H ₂ O	1,0	1,0	1,0	1,0
KCl	0,7	0,7	0,7	0,7
NH ₄ NO ₃	1,0	1,0	1,0	1,0
C ₆ H ₁₂ O ₆	5,0	5,0	–	–
NaCl	3,0	32,0	3,0	32,0
KH ₂ PO ₄	0,5	0,5	–	–
Na ₂ HPO ₄	1,0	1,0	–	–
ДТ-Л-К5, мл/л	–	–	10,0	10,0

В качестве основы питательных сред использовали модифицированную морскую минеральную среду ММС [Mills, Breuil, Colwell, 1978], описанную в Практической гидробиологии под редакцией В. Д. Фёдорова [Практическая гидробиология ... , 2006], с внесением небольших правок. Базовый субстрат приближённо имитировал минеральный состав природных морских водоёмов, а в качестве единственного источника углерода содержал глюкозу в одном случае и дизельное топливо (ДТ) марки «летнее» экологического класса К5 (ДТ-Л-К5) по [ГОСТ 32511–2013] — в другом. Помимо различий в содержании углеродного компонента, МПС отличались и концентрацией хлорида натрия, соответствовавшей солёности воды в точках отбора микробиологических проб (табл. 1). Отношение бактериального инокулята к МПС при инокуляции составляло 1 : 10, а во всех проводимых экспериментах устанавливались определённые условия культивирования, включая аэробность среды, температуру (8 ± 2) °С и экспозицию от 7 до 30 суток (в зависимости от трофических возможностей штаммов). Вместе с посевами в аналогичных условиях культивировали стерильные МПС для чистоты эксперимента и с учётом нестабильности нефтепродуктов при хранении в негерметичных ёмкостях. Даже в стерильном виде углеводородам свойственно испаряться, окисляться кислородом воздуха, полимеризоваться и уплотняться [Аксенов, 1970; Зеркалов, 1990]. Все манипуляции с культурами микроорганизмов в лабораторных экспериментах также осуществляли при соблюдении низких плюсовых температур.

Для исследования способности целевых штаммов к эффективной мобилизации из МПС минерального фосфора и окислению углеводов в ММС с ДТ все культуральные жидкости подвергали определению массовых концентраций общего фосфора и нефтепродуктов соответственно. На первые, вторые и седьмые сутки культивирования штаммов в ММС с минеральным фосфором проводили отделение бактериальных клеток от питательных сред путём центрифугирования на установке Hettich Micro 120 Hettichlab (Германия). Выполнение предварительного центрифугирования диктовалось необходимостью исключения из дальнейшего эксперимента мобилизованного клетками фосфора. Режим разделения составил 6 мин при относительном центробежном ускорении (RCF) 8000 g. При определении концентрации общего фосфора использовали надосадочную жидкость, а контролем эффективности центрифугирования служило выборочное микроскопирование супернатанта на отсутствие бактериальных клеток.

Массовую концентрацию фосфорсодержащих соединений (в пересчёте на общий фосфор) определяли фотометрическим методом с молибдатом аммония и предварительной минерализацией в пробе всех фосфорсодержащих веществ надсерноокислым аммонием в среде серной кислоты. Измерение оптической плотности проводили с помощью откалиброванного фотометра фотоэлектрического КФК-3-01 (ЗОМЗ, Россия) согласно инструкции производителя. На тридцатые сутки экспозиции штаммов в ММС с ДТ проводили определение остаточных концентраций нефтепродуктов путём экстрагирования нефтепродуктов гексаном в исследуемых пробах и измерения сигналов флуоресценции в растворах флуориметрическим методом на анализаторе жидкости Флюорат-02-5М («Люмэкс», Россия).

Определение способности исследуемых штаммов к синтезу биофлокулянтов, образованию флокул и осаждению мелкодисперсной фазы нерастворимого вещества проводили модифицированным методом Курана [Kurane, Takeda, Suzuki, 1986; Gao et al., 2006], основанного на смешении культуральной жидкости с каолиновой глиной, отстаивании бактериально-каолиновой смеси и измерении коэффициента поглощения света верхней фазой раствора с помощью фотометра фотоэлектрического КФК-3-01-ЗОМЗ. Метаболические свойства исследуемых штаммов микроорганизмов, влияющих на углеводородокисляющую способность, изучали путём определения показателя гидрофобности и эмульгирующей активности. Известно, что углеводородокисляющие микроорганизмы, взаимодействуя с нефтепродуктом, способны к непосредственному контакту с углеводородом за счёт гидрофобной клеточной поверхности, обусловленной наличием в ней липидных компонентов [Zhang, Miller, 1995; Яскович, 1998]. Поэтому определение показателя гидрофобности является одной из ключевых характеристик клеточной поверхности, определяющей адсорбционную иммобилизацию микроорганизмов. Для анализа показателя гидрофобности использовали метод Розенберга в модификации Серебряковой [Серебрякова и др., 2002], где в качестве углеводородной фазы использовали хлороформ, а измерение оптической плотности контрольных (без хлороформа) и обработанных хлороформом проб проводили на фотометре фотоэлектрическом КФК-3-01-ЗОМЗ. Немаловажным показателем эффективности процессов биодеструкции нефтепродуктов является индекс эмульгирования, который позволяет оценить способность продуцируемых микроорганизмами соединений эмульгировать несмешивающиеся жидкости в системе масло — вода [Льонг, Нечаева, Понаморева, 2019]. Эмульгирующую активность целевых штаммов определяли визуально с применением методики, разработанной Купером и Голденбергом [Cooper, Goldenberg, 1987].

В воде, отобранной в местах обитания выделенных культур, измеряли температуру (T , °C), биологическое потребление кислорода (БПК₅, мгО₂/л) и содержание солей (солёность S , ‰). Известно [Перетрухина, Ильинский, Литвинова, 2006], что изменение солёности водной среды, так же как и концентрация нестойкого органического вещества, способны оказывать влияние на скорость биодegradации нефтяных углеводородов морскими бактериями. При определении указанных гидролого-гидрохимических показателей руководствовались нормативно-технической документацией [РД 52.10.243-92; РД 52.24.420-2019; РД 52.24.496-2018].

Выделение штаммов микроорганизмов осуществлялось однократно из проб на каждой станции акватории Баренцева моря. Абиотические параметры воды в точках отбора проб анализировались трёхкратно (в течение одного месяца) с усреднением полученных данных. Все модельные эксперименты проводились в трёх повторностях ввиду возможного влияния на ход исследования различных внешних и внутренних факторов. Достоверность данных обеспечена использованием современных методик и статистической обработкой результатов с помощью пакетов компьютерных программ Microsoft Excel 7.0.

Результаты и обсуждение

Динамичность и изменчивость водных экологических систем является важной основой функций самоподдержания и саморегуляции, в том числе и самоочищения. Для комплексной оценки биотрансформирующего потенциала исследуемых штаммов целесообразно в первую очередь проанализировать основные абиотические параметры их сред обитания. Уровень биохимической активности микроорганизмов в известной мере зависит от многих факторов, наиболее важным из которых является температура окружающей среды. На момент анализа гидролого-гидрохимических показателей станций, расположенных в Кольском заливе и губе Ура, температура воды в местах отбора проб не превышала $(10 \pm 2) ^\circ\text{C}$, при этом наблюдалась сходная для двух фьордов тенденция снижения температуры на $(2,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$ в отдалённых от береговой линии точках отбора (рис. 1). Предположительно, незначительное повышение температуры воды на станциях 1 и 3 можно объяснить более эффективным прогревом небольших глубин вдоль береговой линии водоёмов, а также подогревом водных масс городскими стоками близкорасположенных населённых пунктов. По результатам гидрохимических измерений, показатели солёности на третьей и четвёртой станциях ($(32,0 \pm 1,5) ‰$) значительно превышали значения, полученные в ходе анализа воды Кольского залива ($(3,0 \pm 0,8) ‰$ в среднем по двум точкам). Данный факт свидетельствует о большей степени опреснения водных масс в районе станций 1 и 2 за счёт речных стоков крупных рек — Кола и Тулома. О загрязнении органическими веществами воды станций 1 и 2 можно судить по достаточно высоким показателям БПК₅ ($(4,32 \pm 0,70)$ и $(3,91 \pm 0,50)$ мгО₂/л соответственно). Данные точки характеризуются высоким уровнем загрязнения ввиду близости к населённым пунктам и активно развивающемуся морскому порту. Полученные нами результаты по показателям температуры, солёности и БПК₅ в пробах воды легли в основу методологии проведения дальнейших модельных экспериментов.

Целью данной работы являлся не только анализ предметных способностей выделенных штаммов микроорганизмов, но и проведение комплексной оценки биотрансформирующего потенциала каждого из изолятов. Таким образом, неотъемлемой частью исследований служила разработка критериев комплексной оценки. В дальнейшем подобного рода анализ можно использовать как средство для отбора наиболее эффективных с точки зрения биоэкологии штаммов микроорганизмов. Биотрансформирующий потенциал исследуемых штаммов оценивался по способности культур в той или иной мере мобилизовать фосфорсодержащие соединения (показатель N1) и окислять нефтепродукты (показатель N2) как наиболее широко распространённые поллютанты северных морей. Поскольку немаловажной характеристикой уровня снижения концентрации минерального фосфора в среде является флокулирующая активность биодеструктора, в качестве равноценного критерия биотрансформирующего потенциала изучалась степень флокулирующей активности (показатель N3) целевых штаммов. Помимо этого, эффективность биодеструкции ДТ зависит от уровня гидрофобности поверхности бактериальных клеток (показатель N4) и индекса эмульгирующей активности нефтепродуктов (показатель N5), что также учитывались при комплексной оценке биотрансформирующего потенциала штаммов. Участвующим в оценке показателям устанавливались уровни активности (баллы) в соответствии с представленными в таблице 2 критериями. Для комплексной оценки каждому показателю также определялся коэффициент весомости.

Расчёт комплексного коэффициента (K) биотрансформирующего потенциала штамма производился с использованием формулы:

$$K = (v_{N1} \times k_{N1} + v_{N2} \times k_{N2}) + v_{N3} \times k_{N3}(v_{N4} \times k_{N4} + v_{N5} \times k_{N5})$$

Таблица 2

Критерии комплексной оценки биотрансформирующего потенциала				
Показатель биотрансформирующего потенциала	Критерий оценивания	Шкала активности	Уровень активности в баллах, <i>k</i>	Коэффициент весомости, <i>v</i>
(N1) Уровень фосфатаккумуляции	<20 %	низкий уровень	0	1,0
	20–50 %	средний уровень	1	
	>50 %	высокий уровень	2	
(N2) Уровень биодеструкции ДТ	<30 %	низкий уровень	0	1,0
	30–60 %	средний уровень	1	
	>60 %	высокий уровень	2	
(N3) Степень флокулирующей активности	<30 %	низкий уровень	0	1,0
	30–50 %	средний уровень	1	
	>50 %	высокий уровень	2	
(N4) Уровень гидрофобности	<30 %	низкий уровень	0	0,5
	30–60 %	средний уровень	1	
	>60 %	высокий уровень	2	
(N5) Индекс эмульгирования	<30 %	низкий уровень	0	0,5
	30–60 %	средний уровень	1	
	>60 %	высокий уровень	2	

Первичные продуценты как основные трансформаторы фосфорсодержащих веществ, в условиях более высоких температур, за счёт ассимиляции и последующего вовлечения в процессы седиментации, извлекают из водной среды в среднем до 45 % растворённого фосфора [Environmental phosphorus handbook, 1973; Janssen, Meinema, van der Roest, 2002]. В качестве приемлемого уровня снижения концентрации фосфора в среде бактериями холодных экосистем нами принималось значение не ниже 20 %. Снижение концентрации фосфора более чем на 50 % расценивалось как высокий уровень мобилизации фосфорсодержащих веществ. В исследованиях, проведённых в отношении микроорганизмов активных илов, выделенных и функционирующих при температурных режимах в пределах 20–30 °С, флокулирующая активность на уровне 50 % характеризуется как минимально достаточная для использования штаммов в качестве биофлокулянт-продуцирующих микроорганизмов [Денисов и др., 1996; Багаева, Зинурова, 2008]. Однако, с учётом низких плюсовых температур водных экосистем Арктики, в качестве потенциально перспективных дефосфотаторов нами рассматривались те штаммы, чья степень флокулирующей активности находилась в диапазоне от 30 до 100 %, при этом минимальный уровень составлял 30 %, средний — 30–50 %, а высокий — более 50 %. Согласно опубликованным данным, стандартным показателем достаточной для эффективной деструкции нефтепродуктов углеводородокисляющей способности является значение не ниже 40 %. Для индекса эмульгирования порог составляет 50 %, а для показателя гидрофобности — 20–30 % [Коронелли, Комарова, Игнатченко, 1983; Дермичева, 1985; Ильинский, Коронелли, Семененко, 1990; Серебрякова и др., 2002]. В рамках данного эксперимента критерии для показателей N1, N4 и N5 снижены в процентном соотношении ввиду ведущей роли низкотемпературного фактора.

Значения коэффициентов весомости показателей определялись их приоритетностью. Показатели N1–N3, характеризующие степень прямого и косвенного извлечения поллютантов из МПС, имели равноценные коэффициенты значимости (1,0), поскольку основной решаемой проблемой в ходе эксперимента являлось удаление из водной толщи загрязняющих компонентов. Кроме того, коэффициент показателя биодеструкции ДТ выносился за скобки, тем самым определялась необходимость и возможность проведения последующих действий в отношении показателей уровня

гидрофобности и индекса эмульгирования штамма. Коэффициенты весомости данных показателей имели равную весомость (по 0,5) и в сумме составляли единицу. При условии одновременного проявления культурой максимальных уровней по пяти измеряемым показателям, значение комплексного коэффициента биотрансформирующего показателя, таким образом, составит 8.

Исследуемые культуры оценивали на предмет их фосфатмобилизующего потенциала, основываясь на способности штаммов к мобилизации минерального фосфора — компонента МПС. Динамика изменения массовой концентрации фосфора в среде с различной солёностью представлена на рисунке 2.

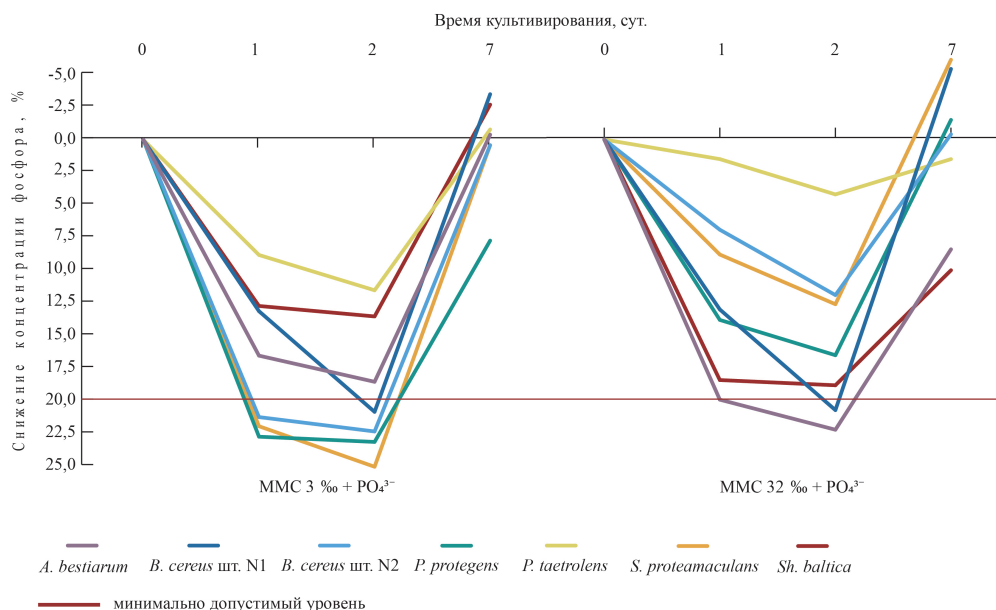


Рис. 2. Динамика изменения массовой концентрации фосфора у исследуемых штаммов при культивировании в среде с различной солёностью

В ходе модельного эксперимента скорость снижения концентрации фосфора в МПС для большинства штаммов была максимальной в первые сутки инкубирования и значительно снижалась ко вторым суткам. Исключение составила культура *Bacillus cereus* штамм № 1, выделенный из проб воды на станции 2, расположенной в Кольском заливе. Данный штамм демонстрировал относительно стабильную скорость дефосфатирования (0,27 мгР/сут в среднем) МПС в течение первых 48 ч культивирования. Значения фосфатаккумулирующей способности для двухсуточных культур варьировали в пределах от 12 до 25 %. Максимальную активность в отношении процесса мобилизации неорганического фосфора проявляла двухсуточная культура *Serratia proteamaculans* (выделенная из проб воды со станции 2) при культивировании в среде с уровнем солёности 3 ‰. Важно отметить, что на седьмые сутки культивирования в культуральных жидкостях наблюдался процесс высвобождения фосфора в среду, вероятно, из-за начавшегося процесса лизиса клеток при продолжительном культивировании в несменяемых средах. Оценка способности целевых штаммов изменять концентрацию фосфора в среде проводилась на субстратах с различными уровнями солёности, как соответствующих условиям среды обитания бактерий, так и на субстратах с низким и высоким порогами солёностями относительно данной характеристики проб воды, из которых были выделены штаммы. Однако в ходе исследований закономерной связи между солёностью субстрата культивирования данных штаммов и степенью снижения ими минерального фосфора в среде отмечено не было.

Помимо способности извлекать из МПС фосфорсодержащие вещества при их высокой концентрации, штаммы тестировались на предмет флокулирующей активности в условиях повышенного содержания солей ортофосфорной кислоты и различной концентрации хлорида натрия. При этом чем выше процент флокулирующей активности, тем, очевидно, эффективнее происходит процесс флокулообразования в жидких средах и осаждения не усвоенного из среды и вышедшего обратно фосфора. Результаты данного этапа экспериментов в изучении биотрансформирующего потенциала целевых штаммов представлены на рисунке 3.

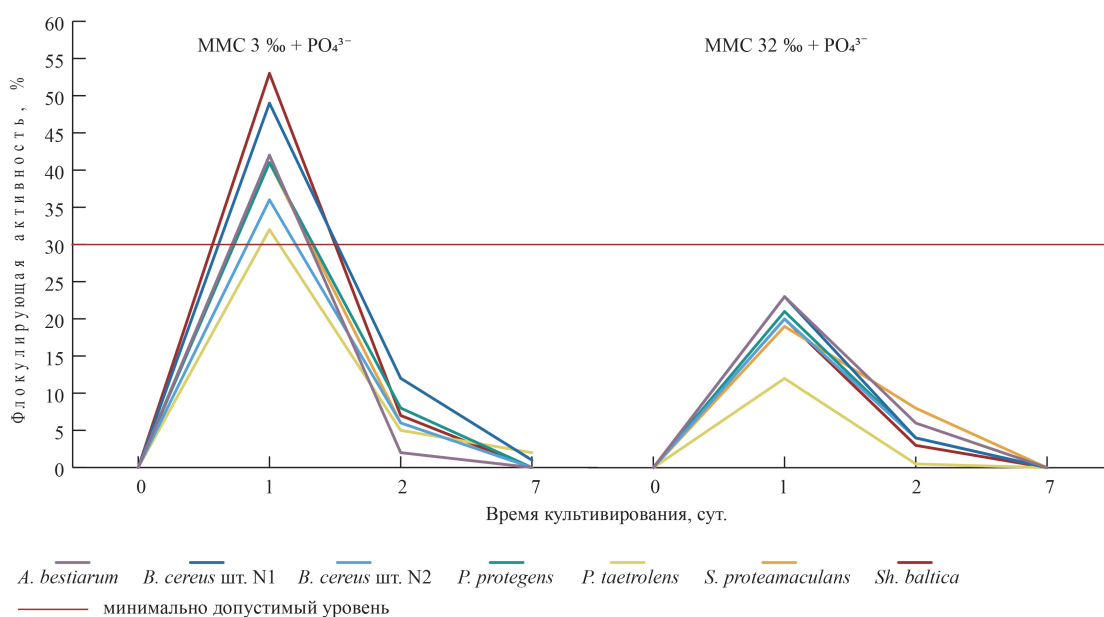


Рис. 3. Динамика изменения флокулирующей активности исследуемых штаммов при культивировании в среде с неорганическим фосфором

В результате серии исследований было установлено, что все анализируемые штаммы демонстрировали в той или иной мере способность осаждать каолин в форме односуточных культуральных агентов. Наиболее эффективные флокулообразователи, чьи культуральные жидкости флокулировали каолиновую глину с активностью около 50 %, были выделены из проб воды Кольского залива (*Sh. baltica* и *B. cereus*). Все изоляты, выделенные из проб воды на различных станциях, в ходе эксперимента проявляли свою максимальную флокулирующую активность при росте на средах с солёностью 3 ‰. При повышении солёности сред до 32 ‰ данная активность снижалась в среднем в 2 раза. Соли морских экосистем не только обеспечивают микроскопических гидробионтов необходимым уровнем солей для поддержания осмотического давления, но и являются источником микроэлементов, необходимых как для роста и развития бактерий, так и для эффективного синтеза внеклеточных полимеров. Согласно опубликованным данным, при культивировании «морских» биофлокулянт-продуцирующих микроорганизмов в питательных средах с целью получения наибольшего выхода биофлокулянта оптимальное значение концентрации соли составляет диапазон от 30 до 40 г/л [Chen et al., 2017]. В случае с тестируемыми штаммами концентрация соли 32 г/л привела к значительному снижению флокулирующей активности, что может быть связано подавлением активности микроорганизмов условиями повышенной засоленности. Таким образом, можно предположить, что в рамках данного эксперимента все исследуемые нами штаммы не способны проявлять высокую флокулирующую активность в условиях, имитирующих морские экосистемы.

Перспективность бактерий в качестве углеводородокисляющих агентов определяется набором его физиолого-биохимических свойств. И прежде всего это способность интенсивно утилизировать углеводороды, широкая сырьевая база, высокая гидрофобность, а также некоторые другие свойства. Оценка способности исследуемых культур окислять нефтепродукты в питательных субстратах с различными уровнями солёности показала, что все целевые штаммы способны к биодеструкции дизельного топлива и могут быть использованы для дальнейшего анализа их метаболической активности. Как видно из рисунка 4, окислительная способность микроорганизмов, выделенных из проб воды Кольского залива и губы Ура, колебалась в пределах от 15 до 41 %.

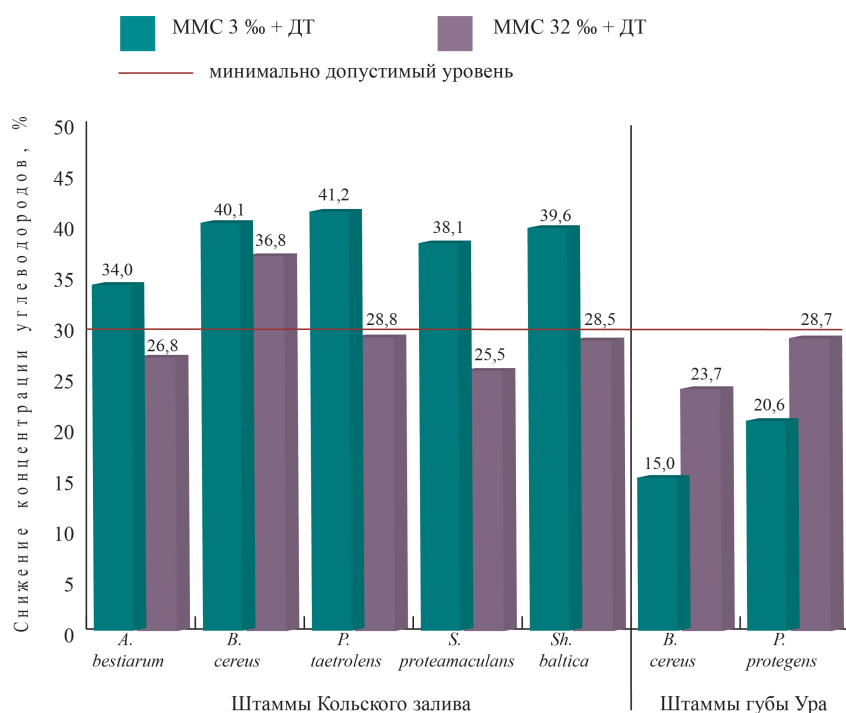


Рис. 4. Уровень биодеструкции ДТ штаммами микроорганизмов при различных показателях солёности среды

Если рассматривать культуры с учётом их происхождения, можно увидеть, что выделенные из вод Кольского залива штаммы в модельном эксперименте с ДТ в целом характеризовались более высокой углеводородокисляющей способностью. При этом данная способность была максимальной при внесении бактерий в МПС с концентрацией хлорида натрия, соответствующей опреснённой морской воде, из которой они, собственно, и были изолированы. Для штаммов губы Ура наблюдалась обратная закономерность. В целом отмечено повышение процента углеводородокисляющей способности (в среднем на 10 %) штаммов при культивировании на субстратах с уровнями солёности, соответствующими условиям среды обитания тестируемых бактерий.

В процессе отбора компонентов для углеводородокисляющих биопрепаратов также немало внимания уделяется способности кандидатов активно синтезировать различного типа биосурфактанты. При значении показателя гидрофобности более 20 % культуры бактерий отбирают как продуцентов биосурфактантов [Серебрякова и др., 2002]. Данные, представленные на рисунке 5, показывают, что все исследуемые штаммы демонстрировали высокую способность удерживаться на поверхности гидрофобной фракции субстрата. Показатель гидрофобности для всех без исключения культур составил не менее 80 %, что характеризует достаточно высокий уровень активности в отношении используемого в МПС дизельного топлива.

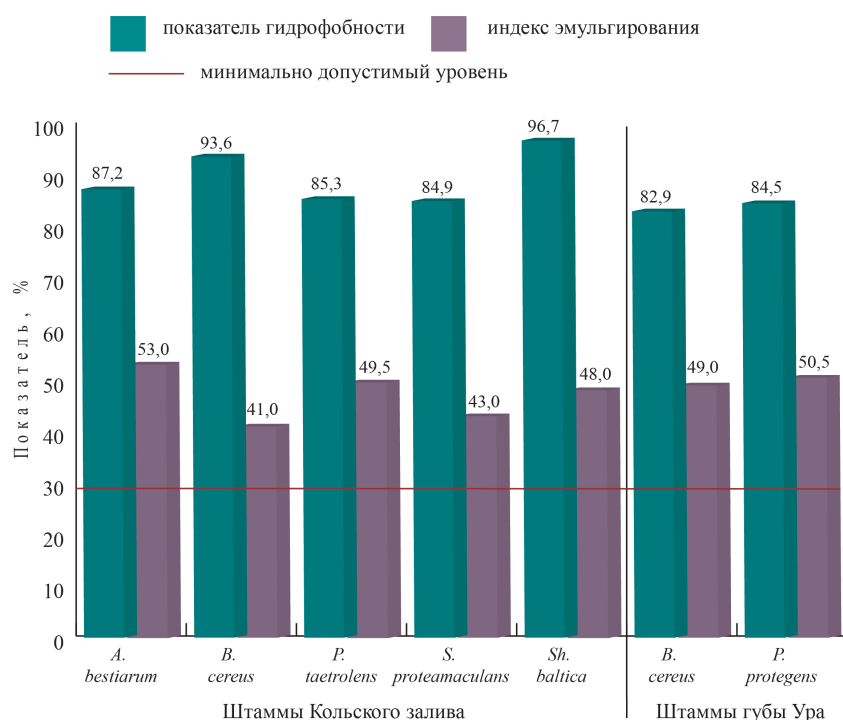


Рис. 5. Уровень метаболической активности штаммов по отношению к углеводородным компонентам среды

Помимо важности определения гидрофобно-гидрофильной природы поверхности бактериальных клеток, деструкционная по отношению к нефтепродуктам активность микроорганизмов также связана с их способностью к синтезу поверхностно-активных веществ (ПАВ), увеличивающих доступность углеводов для клеток бактерий. Способность микроорганизмов к продукции ПАВ оценивается по индексу эмульгирования, который основывается на свойстве ПАВ образовывать эмульсию при встряхивании культуральной жидкости микроорганизмов с углеводородом. Согласно опубликованным данным перспективными продуцентами ПАВ являются штаммы бактерий, индекс эмульгирования которых составляет свыше 50 % [Коронелли, Комарова, Игнатченко, 1983]. В ходе анализа эмульгирующей активности штаммов обнаружено, что по показателю индекса эмульгирования нефтепродуктов все исследуемые изоляты относились к культурам со средним уровнем активности, поскольку данный показатель составлял от 40 до 50 % (рис. 5). Средний уровень эмульгирования означает достаточную доступность нефтепродуктов как источника питательных веществ для бактериальных клеток.

При расчёте комплексной оценки биотрансформирующего потенциала культур целесообразно использовать по каждому из показателей максимальные значения, полученные в рамках данного эксперимента, для каждого штамма. Результаты комплексной оценки биотрансформирующего потенциала северных штаммов микроорганизмов по пяти показателям представлены в таблице 3.

В модельном эксперименте, проведённом в условиях, соответствующих как пресным, так и морским водоёмам, в результате исследования способностей семи культур микроорганизмов определено, что 3 изолята характеризовались как штаммы со средним биотрансформирующим потенциалом (на границе 45 % от максимально возможного) при условии их функционирования в опреснённых морских водоёмах. К ним относились культуры *B. cereus* шт. № 1, *S. proteamaculans* и *Sh. baltica*, выделенные из проб воды Кольского залива. Также установлено, что в условиях, соответствующих водной среде морских экосистем, биотрансформирующий потенциал у большинства культур отсутствовал. Исключение составили два штамма, выделенные на станции 2,

расположенной в прибрежной зоне Кольского залива. При этом для штамма *A. bestiarum* отметка в 1 балл, вероятнее всего, расценивается как значение в пределах погрешности. Что касается культуры *B. cereus* шт. № 1, значение комплексного коэффициента в ММС с концентрацией хлорида натрия 32 г/л характеризовало средний уровень активности штамма (31 %) в отношении экспериментальных манипуляций. Таким образом, можно предположить, что в не нагруженных высокими концентрациями морских солей средах тестируемые штаммы вне зависимости от биотопа проявляют в той или степени способность к трансформации фосфорсодержащих и углеводородных соединений. Представитель микробиоценоза морских экосистем (*B. cereus* шт. № 1) показал относительную адаптационную возможность к трансформации поллютантов в различных условиях культивирования, что характерно для спорообразующих представителей рода *Bacillus*.

Таблица 3

Комплексная оценка биоэкологического потенциала штаммов

Штаммы микроорганизмов	Местообитание штаммов	Значение комплексного коэффициента (К) из 8 максимально возможных, баллы	
		ММС 3 ‰	ММС 32 ‰
<i>Aeromonas bestiarum</i>	Кольский залив	2,5	1
<i>Bacillus cereus</i> шт. № 1		3,5	2,5
<i>Pseudomonas taetrolens</i>		2,5	0
<i>Serratia proteamaculans</i>		3,5	0
<i>Shewanella baltica</i>		3,5	0
<i>Bacillus cereus</i> шт. № 2	губа Ура	2,0	0
<i>Pseudomonas protegens</i>		2,0	0

Выводы

В результате проведённых исследований по изучению биотрансформирующего потенциала выделенных из Баренцева моря штаммов микроорганизмов, в рамках данных экспериментов, установлено следующее:

1. Микроорганизмы, выделенные из проб воды на различных станциях Баренцева моря, проявляли способность снижать посредством мобилизации концентрацию минерального фосфора в МПС в пределах 12–25 %. Связь между солёностью субстрата культивирования и степенью снижения фосфора в среде не отмечалась.

2. Исследуемые культуры проявляли максимальную флокулирующую активность (в среднем на уровне 40 %) при росте на средах с солёностью 3 ‰. При повышении солёности до 32 ‰ флокулирующая активность культур снижалась в среднем в 2 раза, что свидетельствовало о низкой способности данных штаммов к агрегированной седиментации в условиях, имитирующих морские экосистемы.

3. Тестируемые штаммы характеризовались более высокой углеводородокисляющей способностью при внесении изолятов в субстраты, соответствующие естественной среде их обитания. Все исследуемые культуры характеризовались высоким показателем гидрофобности клеток и средним уровнем индекса эмульгирования дизельного топлива.

4. Из семи протестированных культур микроорганизмов 3 штамма показали биотрансформирующий потенциал среднего уровня (43 % от максимально возможного) в условиях функционирования в модельных средах, имитирующих морские экосистемы с пониженной концентрацией морских солей (3 г/л). Данными бактериями стали штаммы *Bacillus cereus* шт. № 1, *Serratia proteamaculans* и *Shewanella baltica*, выделенные из проб воды Кольского залива.

Список литературы

1. Аксенов А. Ф. Авиационные топлива, смазочные материалы и специальные жидкости. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : Транспорт, 1970. – 255 с.
2. Бабикова Н. Д., Герасимова Л. В., Орлова О. П. Экологическая химия / Арханг. гос. техн. ун-т. – Архангельск : Изд-во АГТУ, 2003. – 87 с.
3. Багаева Т. В., Зинцова Е. Е. Поиск новых перспективных форм биофлокулянтов // Учёные записки Казанского государственного университета. Сер.: Естественные науки. – 2008. – Т. 150, № 2. – С. 8–21.
4. Белоусова Н. И., Шкидченко А. Н. Деструкция нефтепродуктов различной степени конденсации микроорганизмами при пониженных температурах // Прикладная биохимия и микробиология. – 2004. – Т. 40, № 3. – С. 312–316.
5. Богданова О. Ю. Общая микробиология / Мурман. гос. техн. ун-т. – Мурманск : Изд-во МГТУ, 2014. – 294 с.
6. Васильев Б. В., Мишуков Б. Г., Иваненко И. И., Соловьева Е. А. Технологии биологического удаления азота и фосфора на станциях аэрации // Водоснабжение и санитарная техника. – 2001. – № 5. – С. 22–25.
7. Голубовская Э. К. Биологические основы очистки воды. – Москва : Высш. шк., 1978. – 271 с.
8. ГОСТ 17.1.5.04–81. Охрана природы. Гидросфера. Приборы и устройства для отбора, первичной обработки и хранения проб природных вод. Общие технические условия / разработ. и внесен Гос. ком. СССР по гидрометеорологии и контролю природ. среды. – Москва : Из-во стандартов, 2003. – 6 с.
9. ГОСТ 31861–2012. Вода. Общие требования к отбору проб / подгот. ООО «Протектор» совместно с ЗАО «Центр исследования и контроля воды». – Москва : Стандартиформ, 2013. – 32 с.
10. ГОСТ 31942–2012. Вода. Отбор проб для микробиологического анализа / подгот. ООО «Протектор» совместно с ФГБУ «НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А. Н. Сысина» и ЗАО «Роса». – Москва : Стандартиформ, 2013. – 24 с.
11. ГОСТ 32511–2013. Топливо дизельное евро. Технические условия / разработ. ОАО «Всерос. науч.-исслед. ин-т по переработке нефти». – Москва : Стандартиформ, 2013. – 15 с.
12. Денисов А. А., Дамиров И. И., Евдокимова Н. Г., Семижон А. В. Процессы флокулирования микроорганизмов при биологической очистке сточных вод // Научные основы технологии промышленного производства ветеринарных биологических препаратов : тез. докл. V Всерос. конф., 14–17 мая 1996 г. / Всерос. науч.-исслед. и технол. ин-т биол. пром-сти. – Щёлково : ВНИТИБП, 1996. – С. 256–257.
13. Денисов А. А., Павлинова И. И., Климова Е. В. Удаление фосфорсодержащих загрязнений из сточных вод агропромышленных предприятий // Достижения науки и техники АПК. – 2006. – № 11. – С. 48–49.
14. Дермичева С. Г. Анализ нефтеокисляющей и гетеротрофной микрофлоры прибрежных вод Восточного Мурмана // Биология моря. – 1985. – № 3. – С. 32.
15. Дзюба И. П., Маркевич Р. М., Сигиневич Т. М. Исследование процесса накопления фосфора фосфатаккумулялирующими бактериями // Труды Белорусского государственного технологического университета. – 2011. – № 4. – С. 182–184.

16. Донияров Н. А., Тагаев И. А., Асроров А. А., Хуррамов Н. И., Каршиева М. С., Эргашева Ю. О. Основные механизмы микробиологического превращения природных соединений фосфора // Вестник науки и образования. – 2020. – № 9, ч. 3. – С. 9–14.
17. Ежегодные доклады о состоянии и об охране окружающей среды Мурманской области // Министерство природных ресурсов, экологии и рыбного хозяйства Мурманской области : [офиц. сайт]. – 2018–2022. – URL: https://mpr.gov-murman.ru/activities/napravleniya/okhrana-okruzhayushchey-sredy/00.condition/index.php?sphrase_id=6309438 (дата обращения: 15.02.2022). – из содерж.: Доклад о ... 2017 г.; Доклад о ... 2018 г.; Доклад о ... 2019 г.; Доклад о ... 2020 г.; Доклад о ... 2021 г.
18. Зеркалов Д. В. Экономия нефтепродуктов. – Москва : Недра, 1990. – 190 с.
19. Ильинский В. В. Гетеротрофный бактериопланктон: экология и роль в процессах естественного очищения среды от нефтяных загрязнений : дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.18. – Москва, 2000. – 603 с.
20. Ильинский В. В., Измайлов В. В. Процессы естественного очищения арктических вод и льдов от нефтяных углеводородов и роль в них микроорганизмов: годовой цикл натурных наблюдений // Труды Государственного океанографического института. – 1992. – Вып. 203. – С. 91–101.
21. Ильинский В. В., Коронелли Т. В., Семенов М. Н. Микроорганизмы и нефтяное загрязнение арктических вод // Океанографические аспекты охраны морей и океанов от химических загрязнений : Материалы всесоюз. науч. симп., Одесса, 3–6 окт. 1988 г. / под ред. А. И. Симонова. – Москва : Гидрометеиздат, 1990. – С. 208–212.
22. Кисленко В. Н., Кольчев Н. М., Госманов Р. Г. Ветеринарная микробиология и иммунология / под ред. В. Н. Кисленко. – 4-е изд., перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 746 с.
23. Коронелли Т. В., Дермичева С. Г., Ильинский В. В., Комарова Т. И., Поршнев О. В. Видовая структура углеводородокисляющих бактериоценозов водных экосистем разных климатических зон // Микробиология. – 1994. – Т. 63, № 5. – С. 917–923.
24. Коронелли Т. В., Комарова Т. И., Игнатченко А. В. Роль эмульгирования в процессе поглощения углеводородов клетками *Pseudomonas aeruginosa* // Микробиология. – 1983. – Т. 52, № 1. – С. 94–97.
25. Литвинова М. Ю. Гетеротрофный бактериопланктон среднего и северного колен Кольского залива и его участие в процессах их естественного очищения от нефтяных углеводородов : дис. ... канд. биол. наук : 03.02.10. – Москва, 2013. – 173 с.
26. Льюнг Т. М., Нечаева И. А., Понаморева О. Н. Методы скрининга биосурфактант-продуцирующих бактерий (миниобзор) // Известия Тульского государственного университета. Сер.: Естественные науки. – 2019. – Вып. 4. – С. 98–111.
27. Материалы Международной научной конференции XXII Докучаевские молодежные чтения, посвящ. ... Д. И. Менделеева «Почва как система функциональных связей в природе», 25 февр. – 2 марта 2019 г., Санкт-Петербург / Санкт-Петерб. гос. ун-т [и др.]. – Санкт-Петербург : [б. и.], 2019. – 376 с.
28. Миндубаев А. З., Акосах Й. А., Алимова Ф. К., Афордоаны Д. М., Болормаа Ч., Кагиров Р. М., Минзанова С. Т., Миронова Л. Г., Яхваров Д. Г. О разложении белого фосфора осадком сточных вод // Ученые записки Казанского университета. Сер.: Естественные науки. – 2011. – Т. 153, кн. 2. – С. 110–119.

29. Очистка производственных сточных вод / С. В. Яковлев, Я. А. Карелин, Ю. М. Ласков, Ю. В. Воронов ; под ред. С. В. Яковлева. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : Стройиздат, 1985. – 335 с.
30. Павлова А. Г. Взаимодействие микроорганизмов с фосфором // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа. – 2009. – № 20. – С. 334–345.
31. Перетрухина И. В., Ильинский В. В., Литвинова М. Ю. Определение скоростей биodeградации нефтяных углеводородов в воде литорали Кольского залива // Вестник Магнитогорского государственного технического университета им. Г. И. Носова. – 2006. – Т. 9, № 5. – С. 828–832.
32. Практическая гидробиология. Пресноводные экосистемы / В. Д. Федоров, В. В. Ильинский, Е. Ф. Исакова [и др.] ; под ред. В. Д. Федорова, В. И. Капкова. – Москва : ПИМ, 2006. – 367 с.
33. Пуговкин Д. В. Эпифитные бактериоценозы *Fucus vesiculosus* L. Баренцева моря и их роль в деградации нефтяных загрязнений : дис. ... канд. биол. наук : 25.00.28. – Мурманск, 2016. – 146 с.
34. РД 52.10.243-92. Руководство по химическому анализу морских вод / Федер. служба России по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды ; разработ.: С. Г. Орадовский [и др.]. – Санкт-Петербург : Гидрометеоздат, 1993. – 264 с.
35. РД 52.24.420-2019. Биохимическое потребление кислорода в водах. Методика измерений титриметрическим и амперометрическим методами / разработ. ФГБУ «Гидрохим. ин-т». – Ростов-на-Дону, 2020. – 31 с.
36. РД 52.24.496-2018. Методика измерений температуры, прозрачности и определение запаха воды / разработ. ФГБУ «Гидрохим. ин-т». – Ростов-на-Дону, 2018. – 14 с.
37. Серебрякова Е. В., Дармов И. В., Медведев Н. П., Алексеев С. А., Рыбак С. И. Оценка гидрофобных свойств бактериальных клеток по адсорбции на поверхности капель хлороформа // Микробиология. – 2002. – Т. 71, № 2. – С. 237–239.
38. Сироткин А. С., Шагинурова Г. И., Ипполитов К. Г. Агрегация микроорганизмов: флоккулы, биоплёнки, микробные гранулы. – Казань : Фэн, 2007. – 157 с.
39. Шеломков А. С., Захватаева Н. В. Очистка сточных вод от фосфатов // Вода. – 2008. – № 10. – С. 5–7.
40. Шигаева М. Х., Мукашева Т. Д., Бержанова Р. Ж., Сыдыкбекова Р. К. Разнообразие микроорганизмов – продуцентов поверхностно-активных веществ // Materialy VI Mezinárodní vědecko-praktická conference «Vědecký pokrok na rozmezí tisíciletí – 2010», 27.05.2010–05.06.2010 / šéfred. Z. Černák. – Praha : Education and science, 2010. – URL: https://www.rusnauka.com/14_NPRT_2010/Biologia/67157.doc.htm (дата обращения: 15.02.2022).
41. Экологический мониторинг: шаг за шагом / Веницианов Е. В., Виниченко В. Н., Гусева Т. В. [и др.] ; ред. Заика Е. А. – Москва : РХТУ им. Д. И. Менделеева, 2003. – 252 с.
42. Яскович Г. А. Роль гидрофобности клеточной поверхности в адсорбционной иммобилизации штаммов бактерий // Прикладная биохимия и микробиология. – 1998. – Т. 34, № 4. – С. 410–413.
43. Benitez-Nelson C. R. The biogeochemical cycling of phosphorus in marine systems // Earth-Science Reviews. – 2000. – Vol. 51, iss. 1/4. – P. 109–135. – [https://doi.org/10.1016/S0012-8252\(00\)00018-0](https://doi.org/10.1016/S0012-8252(00)00018-0)

44. Bergey's manual of systematic bacteriology. In 5 vol. Vol. 2, pt B. The Gammaproteobacteria / D. J. Brenner, N. R. Krieg, J. T. Staley (eds). – 2nd ed. – New-York : Springer, 2005. – 1106 p.
45. *Carman R., Edlund G., Damberg C.* Distribution of organic and inorganic phosphorus compounds in marine and lacustrine sediments: a ³¹P NMR study // *Chemical Geology*. – 2000. – Vol. 163, iss. 1/4. – P. 101–114. – [https://doi.org/10.1016/S0009-2541\(99\)00098-4](https://doi.org/10.1016/S0009-2541(99)00098-4)
46. *Chen Z., Li Z., Liu P., Liu Yu, Wang Ya., Li Q., He N.* Characterization of a novel bioflocculant from a marine bacterium and its application in dye wastewater treatment // *BMC Biotechnology*. – 2017. – Vol. 17. – Art. nr 84. – <https://doi.org/10.1186/s12896-017-0404-z>
47. *Cooper D. G., Goldenberg B. G.* Surface-active agents from two *Bacillus* species // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1987. – Vol. 53, № 2. – P. 224–229. – <https://doi.org/10.1128/aem.53.2.224-229.1987>
48. *Environmental phosphorus handbook* / ed. by E. J. Griffith [et al.]. – New York [et al.] : John Wiley & Sons, 1973. – 767 p.
49. *Gao J., Bao H., Xin M., Liu Yu., Li Q., Zhang Ya.* Characterization of a bioflocculant from a newly isolated *Vagococcus sp.* W31 // *Journal of Zhejiang University. Science B (Biomedicine & Biotechnology)*. – 2006. – Vol. 7, iss. 3. – P. 186–192. – <https://doi.org/10.1631/jzus.2006.B0186>
50. *Head I. M., Jones D. M., Roling W. F. M.* Marine microorganisms make a meal of oil // *Nature Reviews. Microbiology*. – 2006. – Vol. 4, iss. 3. – P. 173–182. – <https://doi.org/10.1038/nrmicro1348>
51. *Hupfer M., Gloess S., Grossart H.-P.* Polyphosphate accumulating microorganisms in aquatic sediments // *Aquatic Microbial Ecology*. – 2007. – Vol. 47, nr 3. – P. 299–311. – <https://doi.org/10.3354/ame047299>
52. *Hupfer M., Rütibe B., Schmieder P.* Origin and diagenesis of polyphosphate in lake sediments: a ³¹P NMR study // *Limnology and Oceanography*. – 2004. – Vol. 49, iss. 1. – P. 1–10. – <https://doi.org/10.4319/lo.2004.49.1.0001>
53. *Janssen P. M. J., Meinema K., van der Roest H. F.* Biological phosphorus removal: manual for design and operation. – [S. l.] : Intern. water assoc. publ., 2002. – 224 p.
54. *Kurane R., Takeda K., Suzuki T.* Screening for and characteristics of microbial flocculants // *Agricultural and Biological Chemistry*. – 1986. – Vol. 50, iss. 9. – P. 2301–2307. – <https://doi.org/10.1271/BBB1961.50.2301>
55. *Lo Giudice A., Bruni V., De Domenico M., Michaud L.* Psychrophiles – cold adapted hydrocarbon-degrading microorganisms // *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology* / ed. by K. N. Timmis. – Berlin [et al.] : Springer, 2010. – P. 1897–1921. – https://doi.org/10.1007/978-3-540-77587-4_139
56. *Mills A. I., Breuil C., Colwell R. R.* Enumeration of petroleum-degrading marine and estuarine microorganisms by the most probably number method // *Canadian Journal of Microbiology*. – 1978. – Vol. 24, iss. 5. – P. 552–557. – <https://doi.org/10.1139/m78-089>
57. *Paytan A., McLaughlin K.* The oceanic phosphorus cycle // *Chemical Reviews*. – 2007. – Vol. 107, iss. 2. – P. 563–576. – <https://doi.org/10.1021/CR0503613>
58. *Zhang Y., Miller R. M.* Effect of rhamnolipid (biosurfactant) structure on solubilization and biodegradation of n-alkanes // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1995. – Vol. 61, nr 6. – P. 2247–2251. – <https://doi.org/10.1128/aem.61.6.2247-2251.1995>

BIOTRANSFORMING POTENTIAL OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM THE BARENTS SEA

Kozhukhova E. V., Makarevich E. V., Litvinova M. Yu., Balachina E. S.

Murmansk Arctical University, Murmansk, Russian Federation,

e-mail: kozhukhovaev@mstu.edu.ru

Abstract: Application of active biotransforming microorganisms isolated directly from natural hydroecosystems, for bioremediation of the Barents Sea water area, appears to be feasible, as such microbial isolates possess specific enzymatic complexes adapted to environmental factors, being at the same time non-genetically modified and non-toxic for the rest of hydrobionts in the ecosystem. This work estimates the potential of heterotrophic microorganisms isolated from various areas of the Barents Sea, for transformation of phosphorus- and hydrocarbon containing compounds, according to a set of indicators (phosphate accumulation and hydrocarbon oxidation, flocculation activity of biodestructors, hydrophobicity level of bacterial cell surface and emulsifying activity index for oil products). Test cultures demonstrated the ability to utilize the pollutants in the range of 25–44 %, under conditions imitating the composition of desalinated marine ecosystems. However, only three cultures out of seven tested strains, namely *B. cereus*, *S. proteamaculans* and *Sh. baltica*, demonstrated the medium level of biotransforming activity reaching 43 % in model experiments.

Keywords: heterotrophic bacteria, Barents Sea, phosphorus, hydrocarbons, microbial transformation, bioflocculation.

Сведения об авторах

Кожухова Екатерина Вячеславовна	старший преподаватель кафедры микробиологии и биохимии, ФГАОУ ВО «Мурманский арктический университет», г. Мурманск, Российская Федерация, ул. Капитана Егорова, д. 16, kozhukhovaev@mstu.edu.ru
Макаревич Елена Викторовна	кандидат биологических наук, доцент, заведующий кафедрой микробиологии и биохимии, ФГАОУ ВО «Мурманский арктический университет», г. Мурманск, Российская Федерация, ул. Капитана Егорова, д. 16, makarevichev@mstu.edu.ru
Литвинова Марина Юрьевна	кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии и биохимии, ФГАОУ ВО «Мурманский арктический университет», г. Мурманск, Российская Федерация, ул. Капитана Егорова, д. 16, litvinovamyu@mstu.edu.ru
Балачина Екатерина Сергеевна	кандидат естественных наук, доцент кафедры микробиологии и биохимии, ФГАОУ ВО «Мурманский арктический университет», г. Мурманск, Российская Федерация, ул. Капитана Егорова, д. 16, mishchenkoes@mstu.edu.ru

Поступила в редакцию 26.10.2023 г.

Принята к публикации 27.02.2024 г.