

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

«ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи

КИМ АЛЕКСАНДРА ВЯЧЕСЛАВОВНА

**ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА
ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ
СВОЙСТВА КУЛЬТИВИРУЕМЫХ БАКТЕРИЙ АКВАТОРИЙ
ПРИМОРСКОГО КРАЯ**

03.02.08 – экология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:

к. б. н. Богатыренко Елена Александровна

ВЛАДИВОСТОК

2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1 Влияние абиотических факторов на микроорганизмы в морской среде	10
1.2 Влияние биотических факторов на микроорганизмы в морской среде	15
1.3 Антропогенное загрязнение морской среды	16
1.3.1 Воздействие химического загрязнения	17
1.3.2 Воздействие физического загрязнения	20
1.3.3 Воздействие биологического загрязнения	21
1.3.4 Оценка воздействия загрязнения морской среды на микроорганизмы в зависимости от его источника	23
1.4 Проблема загрязнения морских акваторий Приморского края	28
1.5 Концепция происхождения патогенных микроорганизмов	30
ГЛАВА 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	35
2.1 Районы исследования	35
2.2 Отбор и посев проб поверхностных вод	39
2.3 Питательные среды, использованные в работе	39
2.4 Определение таксономической принадлежности выделенных бактерий	41
2.5 Изучение биохимических свойств полученных бактерий	43
2.6 Изучение факторов патогенности, вирулентности и антибиотикочувствительности исследуемых бактерий	46
2.7 Статистическая обработка результатов	50
ГЛАВА 3 ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ БАКТЕРИЙ ИЗ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД АКВАТОРИЙ ПРИМОРСКОГО КРАЯ С РАЗНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКОЙ	51
ГЛАВА 4 БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КУЛЬТИВИРУЕМЫХ БАКТЕРИЙ ИЗ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД АКВАТОРИЙ ПРИМОРСКОГО КРАЯ С РАЗНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКОЙ	55
4.1 Изучение дегидрогеназной активности гетеротрофных бактерий	55
4.2 Исследование способности бактерий разлагать различные органические субстраты	58

4.2.1	Определение амилалитической, протеолитической и липолитической активности у культивируемых бактерий	58
4.2.2	Определение ферментативной активности у бактерий по отношению к органическим субстратам, характерным морским водам	60
ГЛАВА 5 ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ, ВИРУЛЕНТНОСТЬ И АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД ПРИМОРСКОГО КРАЯ С РАЗНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКОЙ.....		
		67
5.1	Исследование факторов патогенности у бактерий, выделенных из акваторий с разной антропогенной нагрузкой	67
5.2	Оценка влияния антропогенного загрязнения среды на цитопатические свойства, вирулентность и антибиотикочувствительность бактерий рода <i>Pseudomonas</i> , выделенных из б. Золотой Рог и б. Киевка	70
5.2.1	Определение цитопатических свойств бактерий рода <i>Pseudomonas</i> , выделенных из акваторий с разной антропогенной нагрузкой	71
5.2.2	Определение вирулентности у бактерий рода <i>Pseudomonas</i> , выделенных из акваторий с разной антропогенной нагрузкой	73
5.2.3	Определение антибиотикочувствительности бактерий рода <i>Pseudomonas</i> , выделенных из акваторий с разной антропогенной нагрузкой	74
ВЫВОДЫ		77
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ.....		79
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....		81
Приложение 1		107
Приложение 2		110
Приложение 3		112
Приложение 4		115
Приложение 5		121
Приложение 6		127
Приложение 7		129

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Японское море входит в число наиболее продуктивных регионов Мирового океана за счет смешения холодных и теплых течений, а также муссонного климата, характеризуется уникальным разнообразием флоры и фауны, в том числе ценных для промысла видов рыб и гидробионтов (Дулепова и др., 2004). Вместе с этим, в прибрежных водах некоторых регионов отмечается высокая степень антропогенного воздействия, связанная с увеличением численности населения на побережье и активным вовлечением прибрежной полосы в сферу хозяйственной деятельности человека.

Среди районов российского побережья Японского моря особенно загрязненным считается Приморский край. На юге Приморского края находится один из крупнейших заливов Японского моря – залив Петра Великого (Доклад..., 2017), на берегу которого расположены два густонаселенных города – Владивосток и Находка (общая численность населения около 1 млн чел) (Галышева, 2009). Основными источниками загрязнения морских вод являются промышленные предприятия, коммунально-бытовые стоки, морские порты, торговый и военно-морской флот. В прибрежных акваториях залива Петра Великого наблюдается хроническое загрязнение широким спектром поллютантов, включая тяжелые металлы, нефть, нефтепродукты, ПАВ и т.п. (Огородникова, 2001; Доклад..., 2017). Тем не менее, отмечается, что уровень и характер антропогенной нагрузки на всей протяженности прибрежной полосы Приморского края не одинаков и встречаются морские участки с благоприятным состоянием среды (Галышева, 2009).

Поступление большого количества загрязняющих веществ в морские воды способно негативно влиять как на отдельные организмы, так и на структурно-функциональные показатели биоценозов (Израэль, Цыбань, 1989). Микроорганизмы являются одними из первых, кто реагирует на происходящие изменения в экосистеме в силу своих уникальных биохимических и генетических особенностей, и в зависимости от экологического состояния среды, способны

вырабатывать различные адаптационные механизмы для выживания, связанные с изменением клеточных структур, активности ферментных систем и т.д. (Рощина, Петров, 1997).

На сегодняшний день, микробиоценозы Японского моря недостаточно изучены. В найденной нами литературе отсутствуют комплексные исследования о влиянии антропогенной нагрузки на таксономический состав и биологические свойства культивируемых бактерий.

Степень разработанности темы. Основные работы, посвященные изучению микроорганизмов Японского моря, сводятся к изучению механизмов адаптации к экстремальным условиям морских глубин (Bale et al. 1997; Nogi et al. 1998), описанию новых таксонов (Romanenko et al., 2012; Nedashkovskaya et al., 2014; Doi, Osawa, 2019) или уникальных физиолого-биохимических свойств отдельных видов или штаммов бактерий (Михайлов и др., 2004; Chaerun et al., 2004; Romanenko и др., 2013). В работе Михайлова В.В. (2004) собран обширный материал о встречающихся в российских водах Японского моря таксонах бактерий, однако в ней не приводится связь между их распространением и экологическим состоянием акваторий.

В научных исследованиях по оценке состояния прибрежных вод Приморского края показано, что антропогенная нагрузка приводит к увеличению в среде общей численности гетеротрофных микроорганизмов и появлению санитарно-показательных, патогенных и условно-патогенных бактерий (Христофорова, 2012; Христофорова и др., 2012; Бойченко, 2019). Также, об уровне и характере антропогенного воздействия, по мнению некоторых авторов, можно судить по изменению численности отдельных индикаторных эколого-физиологических групп микроорганизмов (нефтеустойчивые, фенолустойчивые, металлорезистентные и т.п.) (Безвербная, 2005; Калитина 2006; Калитина и др., 2006; Бузолева, 2012а; Христофорова, и др., 2012). Однако, вопрос, как антропогенное загрязнение в целом влияет на видовую структуру культивируемых бактерий в микробных сообществах и физиолого-биохимические свойства отдельных видов остается открытым.

Помимо этого, эколого-эпидемиологические последствия изменений биологических свойств бактерий (морфологических, культуральных, физиолого-биохимических и генетических) под действием антропогенного загрязнения еще не до конца определены, но можно предположить, что эти изменения могут сопровождаться приобретением микроорганизмами признаков, представляющих опасность для гидробионтов, наземных организмов и человека (Secades, 2001). Данные о влиянии загрязнения морской среды на проявление патогенных свойств у сапротрофных микроорганизмов в научной литературе не были обнаружены. Однако, по сообщению ряда исследователей, различные абиотические факторы среды могут приводить к повышению вирулентности у патогенных бактерий (Баснакьян, 2003; Сомов, Бузолева, 2004; Бузолева и др., 2014а).

Цель работы: изучить влияние антропогенной нагрузки на таксономическое разнообразие и биологические свойства культивируемых бактерий, выделенных из поверхностных вод акваторий Приморского края с разной степенью загрязнения.

Для выполнения цели работы были поставлены следующие **задачи:**

1. Определить таксономический состав сообществ культивируемых бактерий, выделенных из акваторий с разной степенью антропогенной нагрузки;
2. Изучить способность к утилизации различных органических субстратов у культивируемых бактерий, выделенных из акваторий с разной степенью антропогенной нагрузки;
3. Исследовать факторы патогенности, вирулентность и антибиотикочувствительность у культивируемых бактерий, выделенных из акваторий с разной степенью антропогенной нагрузки.

Научная новизна. Впервые показано, что в загрязненных акваториях Приморского края таксономическое разнообразие культивируемых бактерий увеличивается за счет аллохтонной микробиоты. Впервые установлено, что под действием антропогенного загрязнения изменяются качественные и количественные показатели ферментативной активности культивируемых бактерий в отношении характерных для морской среды органических субстратов.

Впервые показано, что у сапротрофных бактерий, выделенных из акваторий, испытывающих антропогенную нагрузку, усиливается вирулентность за счет синтеза факторов патогенности, а также появляется множественная устойчивость к лекарственным препаратам.

Теоретическая и практическая значимость. Антропогенное загрязнение как экологический фактор влияет на качественные и количественные изменения состава культивируемых бактерий в микробных сообществах, а также на их биологические свойства. При сравнительных исследованиях водных акваторий установлено, чем выше антропогенная нагрузка, тем больше доля бактерий в микробных сообществах с широким набором факторов патогенности и устойчивостью к различным противомикробным препаратам. Установлено, что дегидрогеназная активность культивируемых бактерий может быть использована для определения органического загрязнения морских акваторий в качестве дополнительного или альтернативного метода изучения экологического состояния водных объектов. Предложен состав сред для выявления ферментативной активности по отношению к субстратам, характерным для морских вод (хитин, хитозан, хитин-глюкановый комплекс, фукоидан, альгинат и клетчатка). Используемые в работе методики определения ферментативной активности, факторов патогенности, цитопатических свойств и вирулентности у сапротрофных культивируемых бактерий могут быть использованы для оценки экологического состояния морских акваторий. Результаты научной работы можно использовать в курсах лекций для программ бакалавриата, магистратуры и аспирантуры биологического направления по таким дисциплинам как «Экология», «Экология микроорганизмов», «Мониторинг и биоремедиация», «Морская микробиология», «Основы регуляции метаболизма микроорганизмов», «Физиология микроорганизмов», «Микробиология и вирусология», «Санитарная микробиология», «Большой практикум по микробиологии».

Положения, выносимые на защиту:

1. Антропогенное загрязнение приводит к увеличению таксономического разнообразия культивируемых бактерий в поверхностных водах акваторий Приморского края за счет аллохтонной микробиоты.

2. Антропогенное загрязнение прибрежных вод приводит как к уменьшению доли бактерий-деструкторов органических субстратов, характерных для морской среды (хитин и его производные, клетчатка, альгинат натрия, фукоидан), так и к снижению скорости утилизации бактериями этих соединений.

3. Антропогенное загрязнение морских прибрежных вод влияет на развитие у бактерий мультирезистентности к антибиотикам и усиливает их вирулентность за счет широкого набора факторов патогенности.

Степень достоверности результатов. Достоверность подтверждается воспроизводимостью полученных результатов при повторении условий экспериментов, использование в работе общепринятых методик и статистических методов. Все полученные в ходе работы данные исследования задокументированы и внесены в лабораторные журналы.

Обоснованность научных положений диссертационной работы подтверждается привлечением большого массива научных публикаций по исследуемой тематике, как отечественных, так и зарубежных авторов.

Апробация работы. Результаты научной работы были представлены на всероссийских и международных конференциях и симпозиуме: шестая международная Байкальская конференция, 7-12 сентября 2015 г. Иркутск; 4-й Микробиологический симпозиум с международным участием «Микроорганизмы и вирусы в водных экосистемах», 7-12 сентября 2015, г. Иркутск; International conferees Unique Marine Ecosystems: Modern Technologies of Exploration and Conservation for Future Generations, August 4-7, 2016, Vladivostok (международная конференция «Уникальные морские экосистемы: современные технологии исследования и сохранение будущих поколений, 4-7 августа, 2016, Владивосток); всероссийская научно-практическая конференция «Фундаментальная дальневосточная наука-медицине» посвященной 100-летию со дня рождения

академика Г.П. Сомова, 11 октября, 2017, Владивосток; международная научно-практическая конференция «Системы контроля окружающей среды – 2019», 12-13 сентября, 2019 г. Севастополь; всероссийская научно-практическая конференция «Понт Эвксинский – 2019», 23-27 сентября, 2019, г. Севастополь.

Результаты исследования включены в отчеты гранта Российского научного фонда №14-50-00034 по теме: «Технологии мониторинга и рационального использования морских биологических ресурсов» по направлению № 5 «Современные технологии контроля различных типов антропогенного загрязнения водной среды и оценки их влияния на морские биологические ресурсы», 2017-2018 гг.

По теме диссертации опубликовано 14 работ, из них в журналах рекомендованных ВАК – 3, получено 3 свидетельства о государственной регистрации базы данных

Структура работы. Диссертационная работа состоит из введения, пяти глав, выводов, списка сокращений и обозначений, списка литературы (231, в том числе 156 отечественных и 75 зарубежных источников) и приложений. Работа изложена на 134 страницах, содержит 14 рисунков, 7 таблиц и 7 приложений.

Личный вклад. Диссертант принимал непосредственное участие в сборе материала, проведении экспериментов, обработке, обобщении и анализе результатов исследования, формировании задач и формулировке выводов диссертации, а также в подготовке материалов к публикации.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность и признательность за постоянную помощь, внимание и поддержку при выполнении работы научным руководителям – д.б.н., профессору Бузолевой Любови Степановне и к.б.н. Богатыренко Елене Александровне, а также коллегам кафедры биоразнообразия и морских биоресурсов ШЕН ДВФУ вед. инж. Дункай Т.И., к.б.н. Сидоренко М.Л. Особую признательность автор выражает коллегам из НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова н.с. Пономаревой А.Л., м.н.с. Еськовой А.И., лаб.-исслед. Обуховой В.С. и Гомза Л.Н. за помощь в проведении экспериментов и конструктивную критику.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

По данным литературы известно, что состав и структура микробного сообщества формируется под действием различных экологических факторов среды, основными из которых являются: температура, соленость, давление, содержание органических соединений в среде, pH, взаимодействие микроорганизмов между собой и с макроорганизмами (Пяткин, Кривошеин, 1980; Шлегель, 1987; Емцев, Мишустин, 2005; Лысак, 2005; Нетрусов, 2015). Микроорганизмы в зависимости от экологического состояния биотопа способны вырабатывать различные адаптационные механизмы для выживания, связанные с изменением клеточных структур, активности ферментных систем, синтезом дополнительных соединений, переходом с одного потребляемого субстрата на другой и т.д. (Рощина, Петров, 1997). Данные изменения хорошо прослеживаются у микроорганизмов, обитающих в морских водах.

1.1 Влияние абиотических факторов на микроорганизмы в морской среде

Температура является одним из основных факторов окружающей среды, определяющих биологические особенности микроорганизмов, которые имеют определенный диапазон температур роста и размножения.

По температурному диапазону делятся на:

1. Психрофилы

– Облигатные психрофилы: T (°C) от –10 до +20, T (°C) opt. + 5 – +10.

– Факультативные психрофилы (психротрофы): T (°C) от – 10 до +20 – +30, T (°C) opt. +15.

Особенности: повышенное содержание ненасыщенных жирных кислот; синтез криопротекторов; синтез ферментов, имеющих низкую температуру активации (Av-Gay et al., 1992; Ray et al., 1994; Berger et al., 1996; Barria et al., 2013; De Maayer et al., 2014; Cavicchioli et al., 2016; Koh, 2017; Kralova et al., 2017; Zhang et al., 2018); не утрачивают способность образовывать полисомы.

2. Мезофилы: T ($^{\circ}\text{C}$) от +10 до +40 – +50, T ($^{\circ}\text{C}$) opt. +37. Особенности: обладают высокой ферментативной активностью при оптимальных температурах, не выходящих за пределы диапазона. Представители: большинство патогенных и условно-патогенных микроорганизмов (*E. coli*, *L. monocytogenes* и т.д.), а также представители нормальной микрофлоры тела человека и животных (Емцев, Мишустин, 2005; Лысак, 2005; Намсараев и др., 2008).

3. Термофилы

- Облигатные термофилы: T ($^{\circ}\text{C}$) от +40 до +70, T ($^{\circ}\text{C}$) opt. +50.
- Факультативные термофилы: T ($^{\circ}\text{C}$) от +20 до +50 – +65, T ($^{\circ}\text{C}$) opt. + 40.
- Экстремальные термофилы: T ($^{\circ}\text{C}$) от +111 до +250 – +300, T ($^{\circ}\text{C}$) opt. +175.

Особенности: повышенное содержание насыщенных жирных кислот; увеличение количества мембран и высокая механическая прочность; повышенное содержание ГЦ пар в ДНК; повышенная скорость размножения и отмирание бактериальных клеток; наличие ферментов имеющих высокую температуру активации; ускоренный обмен веществ; малое содержание свободной влаги; скорость синтеза различных клеточных структур выше чем скорость их разрушения (Necker, Richter, 1987; Баснакьян, Мельникова, 1996; Somkuti, Steinberg, 1999).

Разделение микроорганизмов на группы и подгруппы условно, т.к. некоторые микроорганизмы способны приспосабливаться к несвойственной им температуре. Например, в морской среде встречаются возбудители сапрозоонозов – микроорганизмы с двойственной природой (сапротрофной и паразитической), способные обитать в различных температурных условиях (Сомов, Бузолева, 2004), при этом в зависимости от температуры у них могут изменяться биологические свойства, в частности факторы патогенности (Сомов, Литвин, 1988; Сомов, Бузолева 2004). У листерий и иерсиний, типичных представителей возбудителей сапрозоонозов (температурный диапазон от +1 до +45 $^{\circ}\text{C}$), при переходе из теплокровного организма в окружающую среду запускается синтез «холодовых» изоферментов и

репрессируется продукция «тепловых», и наоборот, т.е. запускаются процессы перестройки обмена веществ в бактериальной клетке (Баснакьян, 2003; Сомов, Бузолева, 2004).

В работе Бузолевой (2001) был описан еще один механизм термоадаптации у листерий. Автором показано, что при колебании температуры у некоторых видов рода *Listeria* происходят процессы оптимизации метаболизма за счет качественных и количественных биохимических изменений, происходящих в бактериальной клетке. Также было выявлено, что в условиях низких температур у патогенных микроорганизмов могут формироваться жгутики, капсулы, происходят изменения в основных компонентах наружной мембраны, что повышает их патогенные свойства.

Рядом авторов показано, что низкая температура влияет на инициацию инфекционного процесса в макроорганизме, обеспечивает первые этапы патогенеза и при низких температурах патогенные микроорганизмы способны сохранять вирулентность на высоком уровне (Тимченко и др. 1986; 1988; Тимченко, 1989; Беседнов, 1993; Сомов, Бузолева, 2004).

Низкая температура играет важную роль в экологии патогенных микроорганизмов и в какой-то степени способствует возникновению эпидемического процесса при вызываемых ими инфекциях (Сомов, Бузолева, 2004).

Соленость. Колебание солености в Мировом океане значительны от 3 до 40‰ (в среднем изменяется в пределах от 31 до 38‰). При этом содержание солей в воде зависит от многих факторов (глубина и широта морских акваторий, течения, время года и т.п.). Микроорганизмы за счет своих уникальных особенностей способны обитать при разных концентрациях солей в воде (Мишустина и др., 1985; Нетрусов, 2015).

По мнению Фарбера (Farber) (1991a; 1991b; 1991в) соленость влияет на биологические свойства возбудителей сапрозоонозов. Например, бактерии рода *Listeria* способны поддерживать осмолярность внутри клетки за счет накопления ионов калия. Также Мунро (Munro) с коллегами (1989), на примере *Escherichia*

coli, установили, что за счет увеличения количества калия в клетках увеличивается и осмолярность и ионная сила, в свою очередь это является основным механизмом адаптации к колебаниям содержания солей в воде.

Гидростатическое давление. Многие морские микроорганизмы обитают в определенных диапазонах осмотического давления, при которых они способны нормально расти и размножаться, но при этом есть те, которые легко приспосабливаются к изменениям давления.

Пьезофилы это микроорганизмы, которые живут в условиях повышенного давления (оптимум для роста – 40-60 МПа (~ 395-592 атм)). Большинство пьезофилов обитают в морской среде в условиях низких температур, поэтому их еще называют пьезопсихрофилами. Под действием повышенного давления изменяется состав липидного слоя мембран. Чем выше давление, тем больше синтезируется длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот. Пьезопсихрофильные ферменты пока мало изучены, но известно, что большинство из пьезофилов способны проявлять протеолитическую, амилолитическую активности, при этом с увеличением гидростатического давления их активность и экспрессия может возрастать (Намсараев и др., 2008; Нетрусов, 2015).

Водородный показатель (pH). Существуют различные классификации микроорганизмов по отношению к pH. Микроорганизмы в зависимости от pH делятся на: алкалофилов – pH выше 9; нейтрофилов – pH от 4 до 9; ацидофилов – pH ниже 4. Большинство микроорганизмов обитают в нейтральной среде. pH морской воды, например, находится в пределах между 7,5 и 8,5. Данный диапазон pH поддерживается за счет температуры, гидростатического давления, биологической активности микроорганизмов и т.д. В зависимости от pH изменения происходят в первую очередь в поверхностных структурах бактериальной клетки и ферментативной активности. Так же микроорганизмы, в процессе жизнедеятельности могут изменять pH окружающей их среды (Кашнер, 1981; Намсараев и др., 2008; Нетрусов, 2015).

Известно, что некоторые патогенные микроорганизмы, например *L. monocytogenes*, могут выживать в широком диапазоне pH (Farber, 1991b; Тартаковский и др., 2002; White et al., 2015). Было отмечено, что различные концентрации NaCl (0,5; 2,5; 4,5‰) и pH (5,0; 5,5; 6; 7), так же как и температура влияют на динамику численности бактериальных клеток в голодных средах (Scullen, Zaika, 1994; Schirmer et al., 2014).

Трофические условия. По определению некоторых авторов, морские воды по содержанию разных концентраций органических веществ (ОВ) можно разделить на трофические уровни (Океанология..., 1979; Перечень..., 1999).

Эвтровные воды – содержание ОВ в концентрации > 1 мг/л;

Мезотрофные – содержание ОВ в концентрации ~ 1 мг/л;

Олиготрофные – содержание ОВ в концентрации < 1 мг/л.

Многие микроорганизмы, способны к росту и размножению в широком диапазоне концентраций ОВ. Например, в работе Бузолевой (2001) было показано, что бактерии рода *Listeria* могут выживать в условиях минимального содержания или полного отсутствия ОВ в среде за счет разложения погибших бактерий своего или других видов микроорганизмов, или использовать ранее накопленные резервные вещества. В условиях недостатка питательных веществ у листерий, происходит увеличение площади поверхности клетки за счет образования простеков, следовательно, увеличивается приток ОВ в клетку. Таким образом, патогенные виды рода *Listeria* способны к олиготрофии, что является важным адаптационным механизмом, благодаря которому возбудитель способен нормально функционировать в таких средах как морская среда.

Газовый состав. Азот (62,6%), кислород (34,9%) и углекислый газ (2,5%) являются самыми распространенными газами в морских водах (Мишустина и др., 1985; Нетрусов, 2015). Помимо этих газов в морях и океанах присутствуют в растворенном виде водород, метан, гелий, неон, аргон и другие инертные газы (Обжиров и др., 1999). Некоторыми учеными в лабораторных условиях было показано, что возбудители сапрозоонозов в морской среде, способны к

азотфиксации и усвоению углекислого газа из газовой среды (Бузолева и др., 1997).

1.2 Влияние биотических факторов на микроорганизмы в морской среде

На сегодняшний день было найдено и описано более двухсот тысяч видов животных и растений в морях и океанах. Суммарная биомасса зоо- и фитобентоса, зоо- и фитопланктона составляет примерно 1,2 и 0,2, 40 и 800 млрд тонн соответственно (Моисеев, 1989).

Общеизвестно, что микроорганизмы могут вступать в различные взаимоотношения, как между собой, так и с макроорганизмами (Нетрусов, 2015). Особенно интересны взаимодействия между бактериями и простейшими в океане, у которых наблюдается в основном «хищничество» и «конкуренция» (Barcina et al., 1992; Davies et al., 1995; Rozen, Belkin, 2001).

В литературе описан пример взаимодействия простейших с патогенными бактериями, такими как *Listeria monocytogenes* и *Salmonella enterica*. Установлено, что при поедании простейшими бактериальных клеток, большая часть из них подвергается перевариванию в фагосомах, а другая часть претерпевает L-трансформацию. Однако, некоторое количество клеток бактерий могут проявлять устойчивость к фагоцитозу и размножаться в организме хозяина и на выходе из него, восстанавливать свою популяцию в среде обитания. Показано, что при пассировании через простейших численность вирулентных клеток у *L. monocytogenes* увеличивается (Ly, Muller, 1990).

Микроорганизмы в водной среде так же взаимодействуют с морскими обитателями (рыбами, гидробионтами, водорослями и растениями) и между собой, вступая с ними в симбиотические отношения (Еськова и др., 2017б). Например, многие микроорганизмы входят в состав нормальной микрофлоры гидробионтов, при этом качественный и количественный состав для каждого вида разный. Представители нормальной микрофлоры защищают макроорганизм

и являются мощным барьером перед патогенными микроорганизмами (Воробьев, Лыкова, 1999; Богатыренко, Бузолева, 2016).

Микроорганизмы способны адаптироваться к неблагоприятным условиям среды посредством образования биопленок (между представителями одного или разных видов) (Abram et al., 2015; Brackman, Coenye, 2015; Nozhevnikova et al., 2015; Еськова и др., 2016; 2017а; Голозубова и др., 2017а; 2017б). Взаимодействия в биопленке происходят за счет механизма «*Quorum sensing*» через метаболические связи (Bassam et al., 2009; Solano et al., 2014; Brackman, Coenye, 2015; Galante et al., 2015). Для многих микроорганизмов биопленки являются естественной формой сосуществования в природе, таким образом, они защищают себя от негативного влияния со стороны внешней среды (Смирнова и др., 2010; Романова, Гинцбург, 2011; Пушкарева и др., 2013).

1.3 Антропогенное загрязнение морской среды

Большая часть нашей планеты покрыта океаническими водами (70%). В настоящее время, Мировой океан испытывает значительное антропогенное загрязнение, обусловленное человеческой деятельностью (Новиков, 2002; Лукьянова, 2010).

Антропогенное загрязнение, особенно промышленное, может влиять на изменение состава микробных сообществ, на их функционирование, в частности на активность ферментов (Рощина, Петров, 1997), появление генетических повреждений, способствующих увеличению мутаций, перенос плазмид (устойчивости к антибиотикам, тяжелым металлам и т.д.) между штаммами микроорганизмов (Багаева и др., 2013).

По данным литературы, известно, что гетеротрофные микроорганизмы способны использовать разнообразные органические соединения в качестве источника углерода, а также выживать и размножаться в условиях повышенных концентраций токсических веществ в среде, таких как нефтеуглеводороды (НУ) (Суслова, 2007; Бузолева и др., 2008; Щука, Володкович, 2015, Юницына

и др., 2016; Бузолева и др., 2017), тяжелые металлы (Безвербная и др., 2005; Багаева и др., 2013; Бузолева, Кривошеева, 2013; Javanbakht et al, 2014) и т.д.

1.3.1 Воздействие химического загрязнения

Химическое загрязнение – это поступление в морскую среду химических веществ органической и неорганической природы за счет естественных и антропогенных процессов.

Неорганическое загрязнение. Неорганическими поллютантами морских экосистем в основном являются различные химические соединения мышьяка, свинца, кадмия и т.д. токсичные для морских животных и растений. Большая часть из которых поступают в воды в результате человеческой деятельности с коммунально-бытовыми, промышленными и сельскохозяйственными стоками. Тяжелые металлы имеют свойство накапливаться в клетках микроорганизмов и по цепи питания передаваться другим организмам (Javanbakht et al., 2014; Li, Тао, 2015). Также, неорганические кислоты, основания и микроэлементы поступающие в воды с различными сточными водами, влияют на жизнедеятельность морских обитателей, изменяя кислотность среды (Брукс, 1982).

Органическое загрязнение. Органические вещества (ОВ), поступающие за счет человеческой деятельности в моря с сельскохозяйственными, коммунально-бытовыми сточными водами пагубно влияют на состояние вод. Суспензии ОВ могут осаждаться на дне морей и океанов, следовательно, происходит задержка развития или полное прекращение жизнедеятельности некоторых микроорганизмов, участвующих в процессах восстановления баланса (самоочистки) в водных экосистемах. ОВ ограничивают прохождение света вглубь водной толщи, за счет чего замедляются процессы фотосинтеза, различные жиры, масла и т.д. препятствуют газообмену между водой и атмосферой, тем самым снижают доступ кислорода, образуя пленку на поверхности воды (Валова, 2001; Лукьянова, 2010).

Нефть и нефтепродукты являются наиболее распространенными и опасными загрязнителями морских поверхностных вод. НУ могут накапливаться в донных осадках, таким образом сохраняться на долгое время и пагубно влиять на морских обитателей (Осипова и др., 2015). Концентрация растворенной нефти и нефтепродуктов в морской среде варьирует в широком диапазоне. В основном, высокая их концентрация отмечается в прибрежных районах океана, в том числе и районах с активным судоходством (Морозов, Николаев, 1978; Морозов, Жукова, 2006; Осипова и др., 2015).

НУ могут поступать в морские за счет естественных процессов, происходящих в морях и океанах, а так же при их транспортировке, аварий на нефтяных платформах, слива за борт танкерами промывочных и балластных вод, со стоками промышленных предприятий и с хозяйственно-бытовыми водами (Осипова и др., 2015).

НУ на поверхности воды образуют пленку, тем самым приводят к изменению состава спектра и интенсивность проникновения в воду света, рН среды, а так же ухудшают газообмен с атмосферой (Техногенное загрязнение..., 2001; Романкевич, Айбулатов, 2005; Логинова, Лопух, 2011; Осипова и др., 2015).

Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) поступают в морские воды в большом количестве, превышающей возможности их растворения, что в свою очередь ведет к сорбции соединений на частицах взвесей. Взвеси оседают в зоне их накопления (слой 1-5 см) на дне и сохраняются на длительное время. При этом ПАУ в донных осадках имеют, как природное происхождение, так антропогенное. ПАУ могут накапливаться внутри клеток организма, а также сорбироваться на поверхности организмов. Планктон способен накапливать большое количество ПАУ (Техногенное загрязнение..., 2001; Романкевич, Айбулатов, 2005).

Пестициды – это вещества, синтезированные искусственно для борьбы против вредителей и болезней растений. Доказано, что пестициды и их побочные продукты, попадая в морскую среду за счет сельскохозяйственных и промышленных стоков, где их применяют или производят, наносят большой урон

морским обитателям (Anderson et al., 2014). Также было выявлено, что некоторые бактерии способны разрушать пестициды и использовать их в качестве источника энергии (Зайнитдинова и др., 2019).

Синтетические поверхностно-активные вещества (СПАВ) – это обширная группа веществ, которые способны адсорбироваться на поверхности раздела фаз, таким образом, влияют на поверхностное натяжение воды. СПАВ делятся на анионактивные, катионактивные, амфолитные и неионогенные. Данные соединения могут попадать в морские воды с коммунально-бытовыми, промышленными стоками, при установке нефтяных и газовых скважин и т.д. (Техногенное загрязнение..., 2001).

Дампинг (сброс и захоронение отходов в морях). Некоторые промышленные предприятия сбрасывают в моря различные вещества органического и неорганического происхождения, основываясь на возможности морской среды к самоочистке, но, как известно, эта способность не беспредельна. Загрязняющие вещества помимо того, что изменяют качество воды, способны накапливаться на дне. Сброс материалов дампинга на дно морей может привести к ухудшению состояния морской воды, гибели малоподвижных форм бентоса и снижению скорости роста и размножения у рыб, моллюсков и ракообразных за счет недостатка кислорода, появлению растворенных форм металла и сероводорода. Нередко изменяется видовой состав сообществ (Романкевич, Айбулатов, 2005; Жариков, 2013).

Фенолы еще один вид загрязнителей, поступающих в воды за счет природных процессов жизнедеятельности организмов, а так со стоками промышленных предприятий и коммунально-бытовыми. Повышенное содержание фенолов в воде может свидетельствовать о загрязнении водоемов. Сброс фенолов в воды резко ухудшает состояние, оказывая влияние на морских обитателей, ведет к изменению режима биогенных элементов и растворенных газов (кислорода, углекислого газа) (Техногенное загрязнение..., 2001; Романкевич, Айбулатов, 2005; Логинова, Лопух, 2011).

Антибиотики – это группа природных или полусинтетических (синтетических) органических веществ, способных разрушать микроорганизмы или подавлять их размножение (Егоров, 2004). Бактерии обладают потенциальной устойчивостью в отношении токсинов и ядов, в том числе антибиотиков других микроорганизмов природных экосистем (Егоров, 2004; Верховина и др., 2011). Антибиотики попадают в воды с промышленными, коммунально-бытовыми и иными стоками (Верховина и др., 2011; Журавлев и др., 2015). Следовательно, в зоне сброса появляются устойчивые формы микроорганизмов за счет накопления и распространения плазмид, несущих гены устойчивости к антибиотикам и тяжелым металлам, которые могут передаваться от одних бактерий другим (Alonso et al., 2001; Егоров, 2004; Tenover, 2006; Яковлев, 2007).

В том числе, в морскую воду поступает с различными загрязняющими стоками большое количество органических соединений таких как: азот органический (входит в состав протеинов и протеидов, полипептидов, аминокислот, аминов, амидов, мочевины); сера органическая в виде метилмеркаптана, диметилсульфида и т.д.; карбонильные соединения – соединения, содержащие карбонильные и карбоксильные группы; ацетон; формальдегиды; сахара (моносахариды, олигосахариды и полисахариды); жиры – полные сложные эфиры глицерина и жирных кислот; органические кислоты и т.д. (Логинова, Лопух, 2011).

1.3.2 Воздействие физического загрязнения

Физическое загрязнение связано с изменением физических параметров морской среды, в основном за счет сброса тепла и радиоактивных веществ. Тепловое загрязнение в основном, связано тепловыми и атомными электростанциями и промышленными предприятиями, где вода используется для охлаждения, например генераторов и электродвигателей. При тепловом загрязнении потребность в кислороде растет, а растворимость кислорода уменьшается, за счет чего могут задыхаться и погибать рыбы. Установлено, что

за счет теплового загрязнения могут интенсивно развиваться одноклеточные водоросли с последующим гниением отмирающей растительной массы, а также существенно повышается ядовитость многих химических загрязнителей, в частности тяжелых металлов (Малахов, Сенич, 1996). Радиоактивные вещества поступают в воды в основном от ядерных реакторов, которые осаждаются и поглощаются живыми организмами и концентрируются в их тканях. Радиоактивная Hg (ртуть), P (фосфор), Cd (кадмий) накапливаются прежде всего в живых организмах, V (ванадий), Cs (цезий), Nb (ниобий), Zn (цинк) – в грунте, S (сера), Cr (хром), I (йод) – в воде. Радиоактивные вещества могут пагубно воздействовать на организм, вызывая нарушение биологических процессов и различные мутации (Романкевич, Айбулатов, 2005).

1.3.3 Воздействие биологического загрязнения

Биологическое загрязнение создается микроорганизмами, в том числе патогенными и условно-патогенными, поступающими с коммунально-бытовыми, сельско-хозяйственными, промышленными, больничными и др. стоками (Наливайко, 2006; Голозубова и др., 2015; Правосудова, Мельников, 2013), балластными водами (Бузолева и др., 2012б). Попадая в воды, условно-патогенные и патогенные микроорганизмы могут стать причиной различных заболеваний, в том числе холеры, тифа, кишечных инфекций и т.д. (Черников и др., 2004; Наливайко, 2006; Правосудова, Мельников, 2013).

На данный момент установлено, что многие болезнетворные микроорганизмы могут накапливаться в организме гидробионтов, тем самым указывать на ухудшение состояния водных экосистем (Беленева и др., 2003; 2007). Так, анализ литературных данных показал, что в микробиоте беспозвоночных из районов со значительной антропогенной нагрузкой отмечается резкое увеличение численности бактерий семейства Enterobacteriaceae, составляющее больше половины от общего числа разнообразия микроорганизмов (Беленева и др., 2003). Содержание представителей типичной морской

микрофлоры – *Pseudoalteromonas*, *Vibrio*, *Photobacterium*, *Pseudomonas* снижается при этом до 25% (Беленева и др., 2003).

По степени загрязненности воды делятся на несколько зон, для которых характерна своя микрофлора и микрофауна (Алексеев и др., 2006; Наливайко, 2006; Нетрусов, 2015):

1. Полисапробная зона – наблюдается присутствие большого количества органических веществ, сероводорода, углекислоты, метана, преобладают гнилостные процессы анаэробного типа. Число бактерий – от 10^6 в 1 мл воды. Прослеживается дефицит кислорода.

2. Мезосапробная зона – наблюдается минерализация органического вещества с преобладанием окислительных процессов. Содержание кислорода колеблется от времени суток.

Мезосапробная зона делится на α - и β - мезосапробные зоны. Они отличаются интенсивностью окисления. В β - мезосапробной зоне протекают процессы минерализации наиболее интенсивно. Число бактериальных клеток в этой зоне от 10^4 до 10^5 в 1 мл.

3. Олигосапробная зона – отсутствуют органические вещества. Здесь заканчиваются процессы окисления нитритов в нитраты. Число бактерий насчитывается от 10^3 до 10^4 в 1 мл. Типичными представителями этой зоны являются железобактерии. Содержание кислорода в воде постоянное и не колеблется.

– Ксеносапробная зона – наблюдается минимальное содержание минеральных соединений и органических веществ, малое разнообразие биоты, в основном это чистые воды горных ручьев, небольших ледниковых рек выходы ключей.

– Гиперсапробная зона – наблюдается почти полное отсутствие каких либо организмов кроме бактерий и грибов.

1.3.4 Оценка воздействия загрязнения морской среды на микроорганизмы в зависимости от его источника

– Техногенное загрязнение

Техногенное загрязнение характеризуется поступлением в воды тяжелых металлов, нефтеуглеводородов, фенолов и других соединений, поступающих в морскую воду различными стоками от промышленных предприятий, сельскохозяйственных угодий, балластными водами от судов и т.д.

Микроорганизмы способны адаптироваться к повышенным концентрациям загрязняющих веществ в среде и использовать их в качестве источника углерода (Гусев, Коронелли, 1985).

Нефтеокисляющие микроорганизмы. Нефть и нефтепродукты являются одними из наиболее распространенных загрязнителей морских экосистем и пока ещё не разработан единый комплекс мер для определения содержания их в воде. Некоторыми авторами было отмечено, что достаточно большое количество видов морских микроорганизмов обладают способностью к деструкции НУ. Еще в 50-х годах XX века было предложено использовать бактерии в качестве индикаторов нефтяного загрязнения (Ворошилова, Дианова, 1952), поскольку известно, что микроорганизмы обладают способностью быстро адаптироваться к неблагоприятным условиям окружающей среды. Микробные сообщества участвуют в деструкции НУ до промежуточных метаболитов или CO_2 и H_2O . Скорость разложения НУ зависит от их физико-химического свойства и взаимодействия с живыми и неживыми компонентами береговой экосистемы (Бузолева и др. 2008; Осипова и др., 2015; Щука, Володкович, 2015; Бузолева и др., 2017).

На развитие микроорганизмов в воде, способных к деструкции НУ, могут влиять различные физико-химические параметры самой среды, такие как температура, соленость, рН, наличие необходимых биогенных элементов источника углерода и т.д. (Юницына и др., 2016). При этом нефтеокисляющие

микроорганизмы способны восстанавливать морские экосистемы даже после разливов нефти и его производных (Venosa et al., 1996).

Нефтеокисляющая микрофлора разнообразна, включает в себя не только бактерии, но и грибы, при этом, в морских и пресных водах встречаются практически одинаковые представители, разлагающие НУ (Суслова, 2007; Бузолева и др., 2008; Щука, Володкович, 2015; Бузолева и др., 2017).

Способность к окислению НУ является штаммовым признаком (не является свойством рода или вида) (Мишустина и др., 1985).

Фенолокисляющие микроорганизмы. Фенолы поступают в воды за счет естественных процессов, происходящих в водной среде, а так же с различными коммунально-бытовыми, промышленными и иными стоками. Известно, что морская среда способна, за счет микроорганизмов деструкторов фенолов, самоочищается от этого вида загрязнителя. Фенолокисляющие микроорганизмы также могут служить индикаторами присутствия фенола в море. Загрязнение соединениями фенольной природы даже в малых концентрациях может привести к гибели морских организмов (Дмитриева и др., 1999а; Дроздовская, 2000; Христофорова и др., 2001).

Микроорганизмы устойчивые к тяжелым металлам. Микроорганизмы способны, при высоких концентрациях тяжелых металлов, индуцировать механизмы защиты от их токсического действия (Chaturvedi et al., 2015), также отличаются степенью устойчивости или чувствительности к ним, что может быть генетически детерминировано (Chien et al., 2013; Jung et al., 2016). Во многих случаях резистентность определяется наличием плазмид, несущие гены устойчивости к тяжелым металлам (Bouzat, Hoostal, 2013). Микроорганизмы с наибольшей устойчивостью к тяжелым металлам, были найдены, некоторыми учеными, в местах, содержащих промышленные загрязнения, либо месторождений соответствующего металла (El Baz et al., 2015).

Известно, что катионы тяжелых металлов могут нарушать барьерные свойства цитоплазматической мембраны у бактериальных клеток, что приводит

к утечке внутриклеточного калия и уменьшению электропроводности цитоплазмы (Иванов, Егоров, 2007).

Тяжелые металлы влияют на ферментативную активность патогенных микроорганизмов, а так же на их вирулентность. Установлено, что тяжелые металлы оказывают как стимулирующее, так и угнетающее действие на патогенный потенциал возбудителей сапрозоонозов. На примере возбудителей сапрозоонозов показано, что ионы тяжелых металлов могут увеличивать адгезивность бактерий в 4 и более раза (Бузолева, и др., 2014а).

– *Коммунально-бытовое загрязнение*

Микроорганизмы, обитающие в водной среде постоянно, и участвующие в процессах самоочищения водоемов, входят в состав автохтонной микрофлоры. Представители аллохтонной микрофлоры, среди которых могут быть и патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, попадают в воды из почвы, воздуха, различными промышленными и хозяйственными стоками (Антропогенное перераспределение..., 1993; Черников и др., 2004; Наливайко, 2006; Правосудова, Мельников, 2013).

1 мл сточных вод городской канализации может содержать миллиарды микробных клеток. Хозяйственно-бытовые сточные воды содержат в основном микроорганизмы, выделяющиеся из кишечника человека и животных с фекалиями, смываемых с поверхности тела человека и окружающих предметов (Вольпе, Кучеренко, 1970; Кондакова, 2005; Правосудова, Мельников, 2013). Среди них могут быть как условно-патогенные так и патогенные микроорганизмы. Кроме того, возможно через воду могут передаваться различные кишечные инфекции, лептоспирозы, сибирская язва, грибковые заболевания и т.д. (Кондакова, 2005; Правосудова, Мельников, 2013).

Фекальное загрязнение ухудшает состояние морских обитателей, препятствует разведению гидробионтов и рыб в промышленных масштабах. При этом употребление человеком обсемененных морепродуктов может привести к серьезным заболеваниям.

Следовательно, в связи с увеличением заболеваний, вызываемых бактериями группы кишечной палочки (БГКП), возникла острая необходимость создания методов обнаружения условно-патогенных и патогенных бактерий в воде за короткий промежуток времени (Кондакова, 2005; 2007; Правосудова, Мельников, 2013).

БГКП используются в качестве организмов-индикаторов фекального загрязнения. В группу БГКП входят микроорганизмы таких родов как: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Citrobacter* и др. (Lipp et al., 2001; Noble et al., 2003; Кондакова, 2005; 2007; Правосудова, Мельников, 2013; Maravic et al., 2015).

– *Биогенное загрязнение* связано с поступлением в окружающую среду биогенных веществ (Христофорова, Соломай, 2006).

Микроорганизмы, обладающие гидролитической активностью, играют главную роль в разрушении органических субстратов в среде (Заварзин, Колотилова, 2001). Как известно, количество микроорганизмов, способных к деструкции органических веществ, природного или антропогенного происхождения возрастает в местах их сброса и скопления (Сулова, 2007).

Бактерии – деструкторы липидов. Липиды могут поступать в воды за счет коммунально-бытовых, промышленных и иных стоков, распада нефти и нефтепродуктов, синтезироваться многими углеводородокисляющими и другими бактериями (Цыбань, Теплинская, 1982; Теплинская, 1990). Жиры в основном концентрируются в приповерхностных слоях моря, на границе раздела вода-воздух, что может привести к ухудшению газообмена воды, изменению температурного режима и т.д. Важную роль в восстановлении газо- и теплообмена между водой и атмосферой играет бактериальный нейстон, который участвует в освобождении поверхности моря от различных жиров и жироподобных производных (Мишустна, 1985; Динамика экосистем..., 2000). Фермент липаза расщепляет триацилглицерол до диацилглицерола и жирной кислоты. В основном синтез липолитических ферментов у большинства микроорганизмов индуцибельный, при этом у разных представителей могут

встречаться несколько изоформ липаз, которые отличаются молекулярной массой, стабильностью и активностью (Шеламова, Тырсин, 2012).

Наличие липолитической активности у микроорганизмов может быть связана с деструкцией НУ нефтеокисляющими бактериями, следовательно, наличие фермента липазы у большей части микробного сообщества, можно рассматривать как следствие загрязнения нефтью и нефтепродуктами (Киреева и др., 2006).

Численность микроорганизмов с липолитической активностью и наибольшая частота встречаемости наблюдается в прибрежных акваториях, приустьевых участках и в речных стоках, особенно, в местах их впадения в морскую среду, где присутствует наибольшее загрязнение. При этом, их численность, по мере продвижения к открытой части акваторий от прибрежных, снижается на несколько порядков (Цыбань, Теплинская, 1982).

Бактерии – деструкторы полисахаридов. Они являются индикаторами присутствия в морской среде полисахаридов, которые поступают в воды за счет жизнедеятельности морских организмов, с промышленными и коммунально–бытовыми стоками. Многие бактерии (*Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. и др.) и грибы являются активными продуцентами амилаз (Мишустина, 1985; Динамика экосистем..., 2000). Амилазы – это группа ферментов, осуществляющие гидролиз в основном α -(1,4)-гликозидной связи в амилопектине, амилозе, гликогене и иных мальтоолигосахаридах (Безбородов и др., 2011).

Протеолитические ферменты, в основном участвуют в реакциях гидролиза пептидной связи в молекулах белков и пептидов (за счет эндопептидаз). Достаточно широкий спектр микроорганизмов способны расщеплять продукты белковой природы. Протеолитические бактерии способны использовать белки и продукты его гидролиза в качестве питательного субстрата, разлагать их до аммиака, ароматических аминокислот, эндогенных канцерогенов, сульфидов и др. соединений (Григорьев, Яковенко, 2000).

Микроорганизмы, обладающие гидролитической активностью, играют важную роль в процессах самоочистки морей и океанов (Цыбань и др., 1990; 2000; Кондратьева, 1996).

1.4 Проблема загрязнения морских акваторий Приморского края

Для определения уровня и характера загрязнения морских вод и донных осадков используют показатели содержания в среде отдельных химических соединений в принятых для него единицах измерения, а также по значениям предельно допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ. Для описания качества вод используется расчет значений индекса загрязненности вод (ИЗВ), который позволяет исследуемые акватории отнести к определенному классу частоты (Качество вод..., 2016)

Среди районов российского побережья Японского моря наиболее загрязненным считается Приморский край. На юге Приморского края расположен один из крупнейших заливов Японского моря – залив Петра Великого (Доклад..., 2017). Залив Петра Великого занимает более 12% всей береговой линии побережья Приморского края, и большая часть занята под населенные пункты, промышленные предприятия, сельское хозяйство, морские порты и железные дороги. Тем не менее, отмечается, что уровень и характер антропогенной нагрузки на всей протяженности прибрежной полосы Приморского края не одинаков и встречаются морские участки с благоприятным состоянием среды (Галышева, 2009).

Различные сточные воды, содержащие разнообразные по природе загрязняющие вещества поступают в воды залива Петра Великого. Прибрежные акватории вблизи г. Владивосток – Амурский и Уссурийский заливы и б. Золотой Рог, г. Находка – зал. Находка, в частности б. Находка наиболее подвержены антропогенной нагрузке (Галышева, 2009; Доклад..., 2017). По исследованиям за последние несколько лет показано, что качество вод этих акваторий по значениям ИЗВ ухудшилось и были отнесены к классам качества вод «загрязненные» и «грязные» (табл.1, 2).

Таблица 1– Классы качества воды по ИЗВ (Качество вод..., 2016)

Воды	Значения ИЗВ	Классы качества вод
Очень чистые	до 0,2	I
Чистая	0,2–1,0	II
Умеренно загрязненные	1,0–2,0	III
Загрязненные	2,0–4,0	IV
Грязные	4,0–6,0	V
Очень грязные	6,0–10,0	VI
Чрезвычайно грязные	Более 10,0	VI I

Таблица 2 – Классы качества вод залива Петра Великого за период с 2012 по 2019 гг. в зависимости от значения ИЗВ (Доклад ..., 2017; 2019)

Район	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Б. Золотой Рог	V	IV	IV	III	V	V	V	IV
Амурский залив	IV	III	III	III	IV	IV	IV	IV
Уссурийский залив	IV	III	III	III	IV	IV	IV	IV
Б. Находка	IV	III	IV	III	IV	IV	IV	IV

По результатам комплексной оценки состояния прибрежных вод Приморского края с 2011 по 2019 гг. установлено, что концентрации загрязняющих веществ каждый год изменялись и в основном превышали ПДК (Доклад..., 2017; 2019).

Увеличение количества населения в городах и развитие промышленности привело к загрязнению прибрежных вод различными по природе поллютантами.

По результатам гидрохимических исследований прибрежных акваторий Приморского края, расположенных вблизи крупных городов почти по всем показателям ПДК (БПК₅, содержание кислорода, биогенных элементов, окисляемость и т.п.) испытывают мощное антропогенное воздействие со стороны человеческой деятельности (Доклад..., 2017; 2019). Например, гидрохимические показатели состояния акваторий Приморского края за 2016 год показаны в таблице 3.

Таблица 3 – Гидрохимические показатели и состояния акваторий залива Петра Великого на 2016 год (Доклад..., 2017)

Гидрохимические показатели	Б. Золотой Рог	Амурский залив	Уссурийский залив	Б. Находка
Среднегодовая концентрация НУ	1 мг/дм ³	0,10 мг/дм ³	0,11 мг/дм ³	0,16 мг/дм ³
Среднегодовая концентрация фенолов	0,8 мкг/дм ³	2 мг/дм ³	1,5 мг/дм ³	0,8 мг/дм ³
Среднегодовая концентрация АПАВ	199 мкг/дм ³	199 мкг/дм ³	230 мкг/дм ³	198 мкг/дм ³
Среднегодовая концентрация взвешенных веществ за год	6,7 мг/дм ³	14,4 мг/д ³	4,1 мг/дм ³	7,7 мг/дм ³
Среднегодовое значение БПК ₅	4,11 мг/дм ³	1,7 мг/дм ³	1,63 мг/дм ³	2,92 мг/д ³
Максимальное значение за год БПК ₅	13,0 мг/дм ³	2,19 мг/дм ³	5,00 мг/дм ³	5,00 мг/дм ³
Содержание кислорода в среднем в толще воды	7,71 мг/дм ³	10,57 мг/дм ³	10,97 мг/дм ³	10,09 мг/д ³
Среднегодовая концентрация фосфатов (по фосфору)	50 мкг/дм ³	13,2 мкг/дм ³	13 мкг/дм ³	8,9 мкг/дм ³
Среднегодовая концентрация общего фосфора в толще вод	65 мкг/дм ³	24 мкг/дм ³	21 мкг/дм ³	26 мкг/дм ³
Среднегодовая концентрация органического фосфора	15 мкг/дм ³	10 мкг/дм ³	8,4 мкг/дм ³	17 мкг/дм ³
Среднегодовая концентрация кремния	575 мкг/дм ³	1464 мкг/дм ³	265 мкг/дм ³	521 мкг/дм ³
Среднегодовая концентрация нитритов (по азоту) в толще воды	12,6 мкг/дм ³	3,4 мкг/дм ³	1,4 мкг/дм ³	3,5 мкг/дм ³
Среднегодовая концентрация нитратов (по азоту) в толще	50 мкг/дм ³	64 мкг/дм ³	27 мкг/дм ³	41 мкг/дм ³
Среднегодовая концентрация аммонийного азота	263 мкг/дм ³	64 мкг/дм ³	74 мкг/дм ³	84 мкг/дм ³
Среднегодовая концентрация общего азота	65 мкг/дм ³	941 мкг/дм ³	714 мкг/дм ³	892 мкг/дм ³
Среднегодовая концентрация органического азота в толще воды	15 мкг/дм ³	812 мкг/дм ³	613 мкг/дм ³	764 мкг/дм ³

1.5 Концепция происхождения патогенных микроорганизмов

Есть мнение, что все патогенные микроорганизмы произошли от сапротрофов – микроорганизмов питающихся мертвыми органическими веществами. Поскольку сапротрофы широко распространены в природе и встречаются повсеместно, в том числе на поверхности и внутри тела человека, возможно, что они путем приспособления к условиям существования в животном организме приобрели свойства, характерные для болезнетворных микроорганизмов. Доказательства перехода от сапротрофного образа жизни к паразитизму это: во-первых, близкое родство сапротрофных и патогенных микроорганизмов, которые могут входить в одну группу (род)

микроорганизмов, например, сапротрофный вид *Leptospira biflexa* и патогенный *L. interrogans* (Bharti et al., 2003; Levett, 2001) или *Bacillus mycoides* и *B. anthracis* (Васильев и др., 2013) и т.д.; во-вторых, наличие микроорганизмов, способных к обитанию, как в окружающей среде, так и в теле человека, например, возбудители сапрозоонозов (Сомов, Бузолева, 2004); в-третьих, известно, что микроорганизмы способны к передаче генов, ответственных за синтез факторов патогенности (островки патогенности и т.д.) от патогенных к не патогенным бактериям (Herbert, Michael, 2004).

Не все эти наблюдения являются безупречными, но это не позволяет, однако отрицать возможности возникновения патогенных бактерий от сапротрофных.

Если рассматривать эволюционный путь превращения сапротрофных микроорганизмов в патогенные, то можно сказать, что каждый патогенный микроорганизм проходит путь от хемолитоавтотрофа через сапротрофа, комменсала, симбионта до патогена с разными уровнями патогенности – потенциального патогена, завершеного патогена, строгого патогена, абсолютного патогена. Так могут возникать паразитические формы существования микроорганизма (Калина, 1985). Некоторые ученые считают, что в процессе длительного обитания микроорганизмов сапротрофов в организме хозяина они утратили ненужные ферменты и под влиянием организма-хозяина приобрели способность синтезировать токсины и биополимеры, наделившие их патогенными свойствами. Степень выраженности патогенных свойств выражается через вирулентность, которая и определяет градацию от сапротрофного до абсолютного патогенного микроорганизма (Калина, 1985).

Под *патогенностью* обычно понимают потенциальную способность микроорганизма вызывать инфекционные процессы у восприимчивого организма хозяина. Патогенность – это качественный признак данного биологического вида, передающийся по наследству, обычно характеризуется специфичностью к определенному кругу хозяев или только одному. Микроорганизмы в зависимости от наличия и величины патогенного потенциала

делятся на: патогенные – всегда вызывают развитие определенной инфекционной болезни при попадании в чувствительный организм, в норме не встречаются в составе нормальной микрофлоры человека и животных; потенциально- или условно-патогенные, оппортунистические – вызывают развитие инфекции лишь при определенных условиях, в норме часто обнаруживаются в составе нормальной микрофлоры человека и животных, инфекционный процесс, в основном, не специфичен и может варьировать по тяжести и динамике заболевания; непатогенные – как правило, не вызывают инфекционные процессы (Поздеев, 2010; Щиробоков, 2015).

Вирулентность. Степень выраженности патогенного потенциала микроорганизмов называют вирулентностью, которая имеет количественное выражение и изменяется под действием различных условий среды (Поздеев, 2010; Щиробоков, 2015). Как влияют условия окружающей среды на факторы патогенности и вирулентность микроорганизмов описаны выше.

При определении потенциала патогенности имеют значения следующие факторы патогенности: а) адгезивные свойства; б) инвазивные свойства; в) персистенция (антифагоцитарные, антикомплементарные свойства, антигенная мимикрия и др.); г) ферментативная активность (гемолитическая; наличие ферментативных систем, обуславливающих распад белков и аминокислот до токсинов и т.д.); д) цитотоксический эффект (способность повреждать клетки хозяина); ж) продукция токсических веществ, различных по составу и действию (Поздеев, 2010; Щиробоков, 2015).

В процессе адгезии могут участвовать различные поверхностные клеточные структуры, такие как:

– *клеточная стенка*, участвует в связывании бактерий с клетками-хозяина, а также может содержать токсичные компоненты (например, липид А) (Габидуллин и др., 2009; Поздеев, 2010; Щиробоков, 2015; Yun et al., 2017).

– *фимбрии*, участвуют в фиксации бактерий в тканях (Лабинская и др., 2005; Габидуллин и др., 2009; Щиробоков, 2015).

– *жгутики* участвуют в передвижении бактериальной клетки к цели (Щиробоков, 2015).

– *капсула* является одним из основных факторов патогенности. Капсула бактерий маскирует, а так же защищает бактериальную клетку и ее структуры от распознавания и уничтожения клетками иммунной системы организма хозяина (Поздеев, 2010; Щиробоков, 2015). Способность капсулы или слизистого слоя «легко» отделяться от поверхности бактериальной клетки приводит к избеганию прямого контакта бактерий с фагоцитами (Garcia et al., 1999).

В процессах инвазии и персистенции патогенных и условно-патогенных микроорганизмов участвуют различные ферменты, такие как:

1. Гиалуронидаза разрушает кислые мукополисахариды т. е. межклеточное вещество соединительной ткани (гиалуроновую кислоту) (Габидуллин и др., 2009; Поздеев, 2010);

2. Нейраминидаза участвует в расщеплении сиаловой кислоты, которая входит в состав поверхностных рецепторов клеток слизистых оболочек, что позволяет им взаимодействовать с микроорганизмами и их токсинами (Габидуллин и др., 2009; Поздеев, 2010);

3. Фибринолизин участвует в растворении сгустка фибрина в зоне воспаления, что позволяет микроорганизму распространяться в глубину органов и тканей;

4. Лецитиназа входит в группу внеклеточных ферментов, участвует в расщеплении лецитины мембран мышечных волокон, эритроцитов и других клеток (Габидуллин и др., 2009);

5. Коагулаза (Плазмокоагулаза) фермент, посредством которого происходит свертывание плазмы крови, относится к основным ферментам патогенности. Неоднородна по локализации, спектру действия, продуцентам, антигенной специфичности. С помощью этого фермента формируется вокруг бактериальной клетки «чехол», непроницаемый для антител и затрудняющий действие фагоцитов макроорганизма (Лабинская и др., 2005);

6. ДНК-аза деполимеризует ДНК (Габидуллин и др., 2009).

7. Протеазы – ферменты, осуществляющие расщепление пептидных связей в белках и пептидах, присутствуют во всех органах. Они осуществляют широкий круг физиологических функций, начиная от деградации белков до более специфической регуляции клеточных процессов, таких как активация ферментов, гормонов или процессинг и транспорт секреторных белков через мембрану (Поздеев, 2010). Протеазы ответственны за сложные процессы, вовлеченные как в нормальную физиологию клетки, так и патофизиологические состояния (Secades et al., 2001). Бактериальные протеазы могут являться факторами патогенности, способствующими эрозии хозяйских тканей. Так, бактериальные ферменты, деградирующие соединительные мышечные ткани, такие как коллагеназы, эластазы, желатиназы и т. д. могут играть важную роль в этих процессах. Например, коллагеназа способствует интенсивному расплавлению мышечной ткани. Некоторые авторы относят протеазы к главным факторам вирулентности среди всех внеклеточных факторов. Показано, что протеолитические ферменты патогенных бактерий рыб участвуют в массивном повреждении тканей хозяина (Secades et al., 2001; Поздеев, 2010).;

8. Липазы – ферменты, гидролизующие эфирные связи ацилглицеролов с освобождением жирных кислот и глицерина. Найдено большое количество бактериальных липаз, обладающих различными ферментативными свойствами и субстратной специфичностью. Липазы участвуют в адгезии и инвазии бактериальных клеток в ткани хозяина (Лабинская и др., 2005; Поздеев, 2010).;

9. Фосфатаза – фермент, который дефосфорилирует такие субстраты, как белки, фосфорилированные липиды, сахара и нуклеотиды в результате гидролиза сложноэфирной связи фосфорной кислоты. Конечными продуктами реакции являются фосфатный анион и молекула с гидроксильной группой.

Фосфатазы в зависимости от рН, при котором проявляется максимальная активность фермента, делятся на два типа: кислую и щелочную (Михайлов и др., 2004).

ГЛАВА 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Районы исследования

Для проведения исследований были выбраны прибрежные акватории Приморского края, отличающиеся характером и степенью антропогенного пресса. Район работ включал акватории б. Золотой Рог и б. Находка, испытывающие значительное влияние промышленных, хозяйственно-бытовых и иных стоков, б. Киевка и зал. Восток, с минимальной антропогенной нагрузкой (рис. 1, табл. 4).

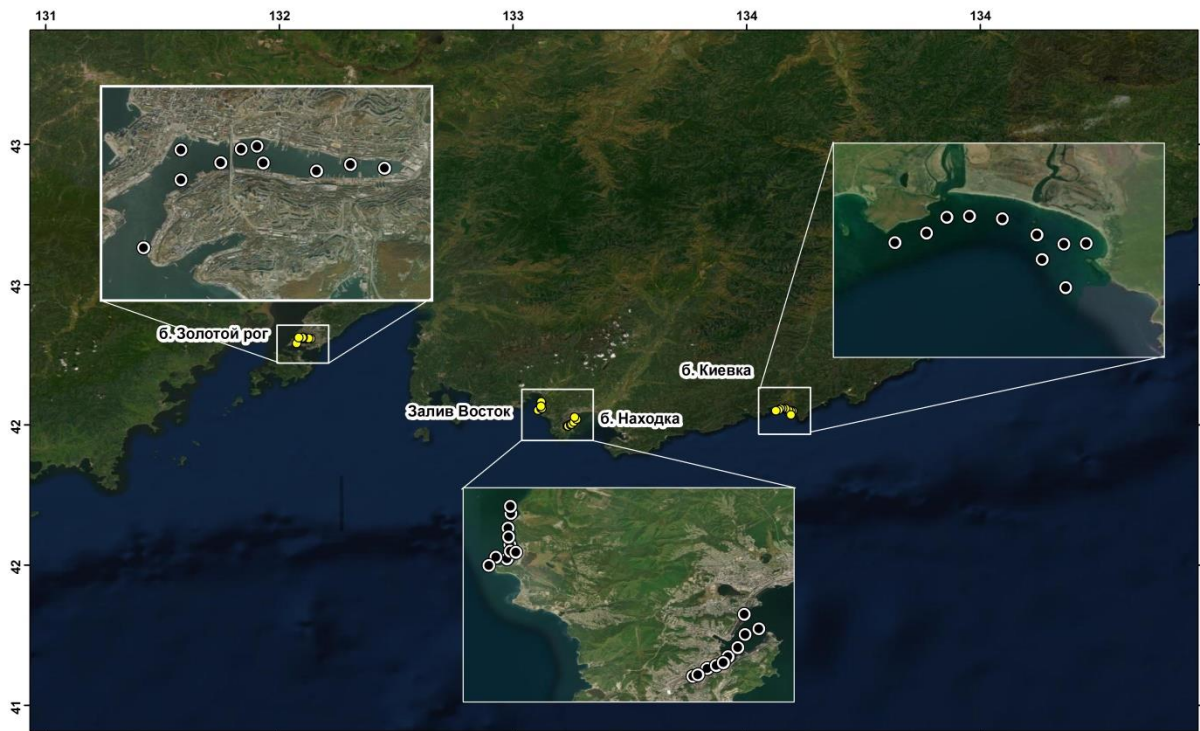


Рисунок 1 – Карта – схема расположения исследуемых акваторий с указанием станций отбора проб

Б. Золотой Рог впадает в северный берег пролива Босфор Восточный, между мысом Тигровым и мысом Голдобина, с северо-запада бухта ограничена полуостровом Шкота (рис.1). На побережье акватории располагается крупный населенный пункт г. Владивосток, морской порт, судоремонтные предприятия, нефтебаза, административные и складские помещения. Основными источниками

органического загрязнения прибрежных вод бухты являются хозяйственно-бытовые и промышленные сточные воды, р. Объяснения, балластные и льяльные воды военного, транспортного и рыболовного флота (Гаврилевский, Гаврилова, 1998; Огородникова, 2001).

В воде и грунтах отмечается высокое содержание тяжелых металлов, фенолов, нефтеуглеводородов, хлорорганических и иных соединений (Доклад..., 2017).

Экологическое состояние бухты оценивается в настоящее время как критическое и носит смешанный характер загрязнения (Ващенко, 2000; Огородникова и др., 2001; Доклад..., 2017).

Б. Находка располагается на западе залива Находка (рис. 1). На побережье бухты расположен г. Находка и морской порт. Основными источниками загрязнения залива и в том числе бухты Находка являются специализированный морской нефтеналивной порт Козьмино, отходы промышленных и коммунальных предприятий, суда и портовые сооружения, а также речные стоки (Галышева, 2009; Доклад..., 2017).

В б. Находка также как и в б. Золотой Рог отмечается высокое содержание тяжелых металлов, фенолов, нефтеуглеводородов, хлорорганических и иных соединений (Доклад..., 2017).

Зал. Восток находится в юго-восточной части зал. Петра Великого на западе омывает берег м. Пещурова, на востоке м. Подосёнова, открыт с юга. Залив Восток испытывает небольшую антропогенную нагрузку, в том числе рекреационный пресс, особенно в летний период времени (Галышева, Христофорова, 2007; Христофорова и др., 2012). Не смотря на это, за счет интенсивной циркуляции вод и выносу загрязненных вод из акватории залива наблюдается восстановление экологического состояния залива, особенно в осенне-зимне-весеннее время (Христофорова и др., 2019).

Б. Киевка располагается в южной части побережья Приморья, имеет широтную протяженность и прилегает к берегу между двумя мысами Суцкого и Островной (рис. 1). Данная акватория представляется как фоновый район при

сравнительной оценке экологического состояния акваторий Приморского края, относится открытому типу, поэтому прослеживается проникновение в их пределы разнообразной фауны. На побережье отсутствуют крупные населенные пункты и промышленные предприятия (Галышева, Коженкова, 2006; Галышева и др., 2008).

Таблица 4 – Характеристика исследуемых акваторий Приморского края

	Б. Золотой Рог	Б. Находка	Зал. Восток	Б. Киевка
Крупные населенные пункты	город Владивосток	город Находка	Отсутствуют	Отсутствуют
Крупные предприятия, порты	Судостроительное и судоремонтное предприятие «Дальзавод», Владивостокский морской торговый и рыбный порты, ТЭЦ-2	Крупные порты Восточный торговый, рыбный, нефтеналивной, лесной, Находкинский судоремонтный завод	Отсутствуют	Отсутствуют
Портовая деятельность	Стоянки судов, рейд, слив отработанных вод, постоянные транспортные линии (Галышева, 2009)	Стоянки судов, рейд, слив отработанных вод, постоянные транспортные линии (Галышева, 2009)	Локальная стоянка малотоннажных судов (Галышева, 2009)	Отсутствует (Галышева, 2009)
Визуальные характеристик и поверхностных вод	Наличие нефтяной пленки, плавающий мусор	Наличие нефтяной пленки, плавающий мусор	Отсутствуют	Отсутствуют
Уровень содержания ОБ в среде	Чрезвычайно высокий (Галышева, 2009)	Высокий (Галышева, 2009)	Умеренный, летом ближе к высокому (Галышева, 2009)	Низкий, летом ближе к умеренному (Галышева, 2009)
Максимальное значение ОБ в донных осадках (Сорг), % 100 гр пробы	9,66 (Галышева, 2009)	3,20 (Галышева, 2009)	2,87 (Галышева, 2009)	1,16 (Галышева, 2009)

Продолжение таблицы 4

Основная причина поступления и накопления ОБ	Хроническое антропогенное загрязнение нефтеуглеводородами, фенолами, хозяйственно-бытовыми стоками, ослабленная гидродинамика, закрытость (Галышева, 2009)	Загрязнение нефтеуглеводородами, фенолами, сток р. Партизанской, хозяйственно-бытовыми стоками рекреационная нагрузка (Галышева, 2009)	Рекреационная нагрузка, естественный терригенный и речной сток (Галышева, 2009)	Автохтонная продукция, сток р. Киевка (Галышева, 2009)
Рекреационная деятельность	Интенсивная, локальная (Галышева, 2009)	Умеренная, локальная (Галышева, 2009)	Интенсивная, обширная (Галышева, 2009)	Интенсивная, локальная (Галышева, 2009)
Концентрация НУ	2016 год до 1,78 мг/дм ³ (Доклад..., 2017)	2016 год 0,16 мг/дм ³ среднее за год (Доклад..., 2017)	2016 год до 0,11 мг/дм ³ (Барышева и др., 2019)	данные о присутствии повышенных концентрация й НУ в литературе не найдены
	2018 год до 0,25 мг/дм ³ (Доклад..., 2019)	2018 год до 0,19 мг/дм ³ (Доклад..., 2019)	2018 год до 0,04 мг/дм ³ (Барышева и др., 2019)	
Концентрация фенолов на	2016 год до 1,8 мкг/дм ³ (Доклад..., 2017)	2016 год до 1,3 мкг/дм ³ (Доклад..., 2017)	2016 год до 1 мкг/дм ³ (Барышева и др., 2019)	данные о присутствии повышенных концентрация х фенолов в литературе не найдены
	2018 год до 2,2 мг/дм ³ (Доклад..., 2019)	2018 год до 2,7 мкг/дм ³ (Доклад..., 2019)	2018 год до 0,7 мкг/дм ³ (Барышева и др., 2019)	
Концентрация АПАВ на	2016 год до 257 мкг/дм ³ (Доклад..., 2017)	2016 год до 367 мкг/дм ³ (Доклад..., 2017)	2016 год до 155 мкг/ дм ³ (Барышева и др., 2019)	данные о присутствии повышенных концентрация х АПАВ в литературе не найдены
	2018 год до 949 мкг/дм ³ (Доклад..., 2019)	2018 год до 829 мкг/дм ³ (Доклад..., 2019)	2018 год до 0,06 мкг/дм ³ (АСПАВ) (Барышева и др., 2019)	
Значение БПК ₅	2016 год до 13 мг/дм ³ (Доклад..., 2017)	2016 год до 5 мг/дм ³ (Доклад..., 2017)	2016 год до 1,3 мг/д ³ (Барышева и др., 2019)	Данные за 2005 год до 2 мг/дм ³ (Галышева и др., 2008)
	2018 год до 6 мг/дм ³ (Доклад..., 2019)	2018 год До 4 мг/дм ³ (Доклад..., 2019)	2018 год до 1,4 мг/д ³ (Барышева и др., 2019)	

Концентрация нитратов	2016 год 50 мкг/дм ³ (средняя концентрация за год) (Доклад..., 2017)	2016 год 191 мкг/дм ³ (Доклад..., 2017)	Данные за 2012 год до 14 мкг/дм ³ (Журавель и др., 2012)	Данные за 2013 год до 8 мкг/дм ³ (Зуенко, Рачков, 2003)
	2018 год до 190,7 мкг/дм ³ (Доклад..., 2019)	2018 год до 198,5 мкг/дм ³ (Доклад..., 2019)		

2.2 Отбор и посев проб поверхностных вод

Материалом работы послужили образцы поверхностных вод, отобранных в б. Золотой Рог, б. Находка, б. Киевка и зал. Восток в июне-августе 2015 и 2016 гг. согласно ГОСТ 31942-12 (2013). Посев проб производили методом Дригальского (Герхард, 1983) на питательную среду для морских микроорганизмов (Бузолева, 2012а). Полученные чистые культуры бактерий использовались для всех последующих опытов.

2.3 Питательные среды, использованные в работе

Среда для морских микроорганизмов (СММ) (г/л): CaCO₃ – 1; MgSO₄ – 1; K₂HPO₄ – 0,2; глюкоза – 0,2; пептон ферментативный, сухой для бактериологических целей – 5; агар бактериологический – 15; дрожжевой экстракт – 5; H₂O искусственная морская* – 500 мл; дистиллированная вода – 500 мл, pH – 7.8-8.1 (Бузолева, 2012а).

Искусственная морская вода (г/л): NaCl – 27,5; MgCl₂ – 5; MgSO₄·7H₂O – 2; CaCl₂ – 0,5; KCl – 1; FeSO₄ – 0,001 (Бузолева, 2012а).

Мясо-пептонный агар (МПА) (г/л): экстракт из говяжьего мяса – 3; пептон ферментативный, сухой для бактериологических целей – 5; агар бактериологический – 15; дистиллированная вода – 1 л, pH – 6,8 (Нетрусов и др., 2005).

Среда с добавлением Твин – 20 (60, 80). К стерильному расплавленному и охлажденному до 45-50 °С МПА добавляли Твин 20, 60, 80 (Бузолева, 2012а).

Молочный агар Эйкмана. К стерильному расплавленному и охлажденному до 45-50 °С МПА добавляли стерильное обезжиренное молоко (15 мл на 100 мл).

Перед добавлением молоко обезжиривают центрифугированием (при 3 тыс. об/мин в течение 15 мин) и удалением поверхностной пленки, затем стерилизуют молоко при 0,5 атм в течение 20 мин (Бакулин и др., 2005; Бузолева, 2012а).

Среда с добавлением крахмала (г/л): крахмал растворимый – 30; NaNO_3 – 2; K_2HPO_4 – 1; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; KCl – 0,5; FeSO_4 – 0,01; агар бактериологический – 20; дистиллированная вода – 1 л (Бузолева, 2012а).

Среда с желатином (г/л): пептический перевар животной ткани – 5; мясной экстракт – 3; желатин – 120; дистиллированная вода – 1 л, pH (при 25°C) $6,8 \pm 0,2$ (Лабинская и др., 2004).

Среда для выявления ферментативной активности в отношении органических субстратов, характерных морским водам. За основу взята модифицированная среда Ворошиловой-Диановой следующего состава (г/л): NaCl – 10; NH_4NO_3 – 1; K_3HPO_4 – 1; KH_2PO_4 – 1; MgSO_4 – 0,2; CaCl_2 – 0,02; FeCl_2 – 2 капли концентрированного раствора; агар бактериологический – 15; дистиллированная вода – 1 л (Ворошилова, Дианова, 1952); субстрат (хитин, хитозан, фукоидан, клетчатка, хитин-глюкановый комплекс, альгинат натрия) – 10.

Кровяной агар. К стерильному расплавленному и охлажденному до 45-50 °С МПА добавляли 5% (по объему) стерильной дефибрированной крови (Лабинская и др., 2005).

Среда для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам (АГВ) (г/л): Na_2HPO_4 – 0,9; NaCl – 3,3; глюкоза – 0,9; крахмал водорастворимый – 0,5; Na_2HPO_4 – 3,5; пептон ферментативный, сухой для бактериологических целей – 9,2; гидролизат соевой муки ферментативный – 9,2; агар бактериологический – 10,3; pH $7,4 \pm 0,2$; дистиллированная вода – 1 л (Лабинская и др., 2005).

Среда Эндо (г/л): питательный агар для культивирования микроорганизмов, сухой – 26,5; витаминный препарат «эксд» – 1,22; щелочной фуксин – 0,23; $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ – 10,7; Na_3PO_4 – 0,48; Na_2SO_3 – 0,83; Na_2CO_3 – 0,03 (Бузолева, 2012а).

Среда Хью-Лейфсона (г/л): пептон ферментативный, сухой для бактериологических целей – 2; NaCl – 5; K_2HPO_4 – 0,3; глюкоза – 5;

бромкрезоловый пурпурный 0,03; агар бактериологический – 5; дистиллированная вода – 1 л, pH $7,4 \pm 0,2$ (Бузолева, 2012а).

Среда с мочевиной по Преусу (г/л): мочевины 50 % (стерильный водный раствор) - 20 мл; глюкоза – 5; агар бактериологический – 15; бромтимоловый синий – 0,02; бульон Хотингера – 1 л, pH 6,9-7,0 (Лабинская и др., 2005).

Среда Симмонса (г/л): NaCl – 4; MgSO₄ – 0,2; Na₃C₆H₅O₇ – 3; NH₄Cl – 0,8; Na₄HPO₄ – 1; Бромтимоловый синий – 0,08; агар бактериологический – $10,0 \pm 3,0$; дистиллированная вода – 1 л, pH $6,8 \pm 0,2$ (Лабинская и др., 2005).

2.4 Определение таксономической принадлежности выделенных бактерий

Идентификацию выделенных культивируемых бактерий проводили на основе морфологических, культуральных, физиолого-биохимических свойств (Берджи, 1980; The Prokariotes, 1992), в том числе использовали API стрипы фирмы BioMerieux (API 20 E, API 20 NE, API 50 CH, API Staph, API 20 Strep, API Listeria). Для подтверждения таксономического статуса некоторые штаммы были идентифицированы с применением анализа структуры их гена 16S рРНК (праймеры 27F/1350R) (Денисова и др., 1999; Lane et al, 1985) сотрудниками ЦКП «Геномика», г. Новосибирск.

Морфологию бактериальных клеток и тип клеточной стенки определяли при окраске поствитального препарата по Граму. Для выявления активности ферментов, например, уреазы использовали среду с мочевиной, желатиназы – с желатином, окисление и ферментацию глюкозы определяли на среде Хью-Лейфсона, утилизацию цитрата Na – на среде Симмонса. Способность к деструкции сахаров с образованием кислоты изучали на цветных средах Гиса.

В работе были использованы «API» стрипы фирмы BioMerieux (Франция). Стрипы API – это миниатюрные биохимические ряды для идентификации микроорганизмов. Для проведения теста использовали суточные культуры бактерий, из которых готовили бактериальную взвесь (для каждого вида стрипов использовали разные жидкие среды) и закапывали в лунки стрипов согласно

протоколу. Инкубировали 24 часа при комнатной температуре, учитывали результат согласно протоколу.

API 20 E – для идентификации бактерий семейства Enterobacteriaceae и других неприхотливых грамотрицательных палочек;

API 20 NE – для идентификации грамотрицательных палочек, таких как *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Maraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas* и другие (кроме бактерий семейства Enterobacteriaceae);

API 50 CH – для идентификации лактобацилл (среда API 50 CHL), бактерий рода *Bacillus* (среда API 50 CHB), бактерий семейства Enterobacteriaceae (среда API 50 CHE);

API Staph – для идентификации бактерий рода *Staphylococcus*, *Micrococcus* и других родственных микроорганизмов;

API 20 Strep – для идентификации бактерий семейства Streptococcaceae и других родственных микроорганизмов.

API Listeria – для идентификации бактерий рода *Listeria*

Обработку полученных данных проводили в онлайн режиме на сайте компании BioMerieux (<https://apiweb.biomerieux.com>).

Анализ структуры гена 16S рРНК, выделенных в чистую культуру бактерий проводили совместно с ЦКП «Геномика» СО РАН, г. Новосибирск. Для отправки образцов на секвенирование по методу Сэнгера, ДНК суточных чистых культур бактерий выделяли с помощью набора реагентов НК-сорбент «Base» (производство Литех) согласно протоколу.

Для амплификации ДНК использовали набор реагентов фирмы «Amplisens» (Россия). На одну пробу в объеме 10 мкл реакционной смеси добавляли 5 мкл Redmix, 0,2 мкл dNTP, 3,4 мкл H₂O, по 0,2 мкл универсальных бактериальных праймеров 27F 5' – AGAGTTTGATCMTGGCTCAG – 3' и 1350R 5' – GACGGGCGGTGTGTACAAG – 3' (Денисова и др., 1999; Lane et al, 1985) и 1 мкл исследуемой ДНК. Амплификацию проводили на приборе «My Cycler» (BioRad, США).

Аmplификацию ДНК проводили в следующем режиме (Денисова и др., 1999): 94 °С – 4 мин (1 цикл); 94 °С – 60 сек, 48 °С – 60 сек, 72 °С – 90 сек (5 циклов); 92 °С – 60 сек, 50 °С – 110 сек, 72 °С – 90 сек (10 циклов); 92 °С – 60 сек, 52 °С – 60 сек, 72 °С – 60 сек (10 циклов); 92 °С – 60 сек, 54 °С – 60 сек, 72 °С – 110 сек (10 циклов); 72° С – 10 мин (1 цикл).

Продукты ПЦР реакций разделяли в агарозном геле (1%-ном) с добавлением этидиум бромид в электрофорезной камере (при напряженности поля около 2 В/см), результаты учитывали на трансиллюминаторе под ультрафиолетовым излучением. Продукты амплификации нужной длины вырезали из геля и экстрагировали путем замораживания в жидком азоте и центрифугирования при 13,4 тыс. об/мин в течение 20 мин.

После выделения из геля, ПЦР-продукты высушили с добавлением 1 мкл праймера 27F. Готовые пробы отправляли в ЦКП «Геномика», г. Новосибирск, для определения первичной структуры полученных фрагментов ДНК. Секвенирование осуществлялось по методу Сэнгера на капиллярном приборе ABI 3130x1 Genetic Analyser.

С помощью программы NCBI BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) проводили поиск гомологичных последовательностей в GenBank (международном банке данных) (Altschul et al., 1997).

2.5 Изучение биохимических свойств полученных бактерий

Оценка дегидрогеназной активности

Дегидрогеназную активность (ДГА) чистых культур бактерий определяли тетразолиевым методом. Для данной методики использовали суспензию суточных чистых культур бактерий в концентрации 10^9 кл/мл, отмытых от посторонних примесей буферным раствором. Поэтапно вносили в химически чистые пробирки 1 мл бактериальной взвеси, 1,2 мл 1/15 Na_2HPO_4 , 0,5 мл 0,1 М глюкозы (субстрат для дегидрирования) и 1% р-р трифенилтетразолийхлорида (ТТХ). Инкубировали в течение 2 часов при комнатной температуре. Затем добавляли ледяную

уксусную кислоту (3 мл) для разрушения бактериальных клеток, а образовавшийся формазан экстрагировали из реакционной смеси толуолом (3 мл) (Методические рекомендации..., 1978). Несколько раз встряхивали пробирки с содержимым и центрифугировали в течение 30 сек при 1000 об/мин. Затем пипеткой переносили в кюветы для спектрофотометра – Genesys 10S UV-Vis (Thermo Fisher Scientific) надосадочную жидкость в объеме 3 мл. Измеряли при длине волны 454 нм в трех повторностях, считали среднее значение.

Для анализа полученных результатов стандартным способом использовали десятикратное разведение трифенилформаза (ТФФ), строили калибровочную прямую и на ее основании было составлено уравнение:

$$D = \frac{X+0,009}{0,044}$$

где X – оптическая плотность исследуемого раствора

D – мг формаза / л смеси.

Исследование способности гетеротрофных бактерий разлагать различные органические субстраты

Для определения ферментативной активности использовали агаризованные среды, содержащие один из следующих субстратов: *обезжиренное молоко*, *Твин (20, 60, 80)*, *крахмал* (Бузолева, 2012а). Инкубировали в течение 3-4 суток при температуре 25⁰С. О наличии протеолитической активности судили по появлению вокруг колоний зон гидролиза, а при определении липолитической активности отмечали появление помутнения вокруг колоний бактерий за счет образования кристаллов кальциевого мыла. Для выявления амилолитической активности в чашки с крахмальной средой добавляли раствор Люголя и отмечали появление светлых колец вокруг колоний, свидетельствующее о наличии амилаз (Бузолева, 2012а).

Способность разлагать хитин, хитозан, клетчатку, фукоидан, альгинат натрия и хитин-глюкановый комплекс (ХГК) определяли путем высева суточных культур бактерий на модифицированную минеральную среду Ворошиловой-Диановой (Ворошилова, Дианова, 1952). В качестве единственного источника

углерода использовали соответствующий полисахарид в концентрации 1%. Для контроля параллельно высевали штаммы бактерий на чашках Петри с минеральной средой без добавления органического субстрата. Инкубировали до 10 суток при комнатной температуре. Отмечали рост бактерий на среде с субстратом и отсутствие роста на голодной минеральной среде.

Количественная оценка хитиназной активности бактерий по выходу образующегося при гидролизе хитина N-ацетилглюкозамина (GlcNAc). Для эксперимента использовали раствор коллоидного хитина.

Супернатант получали при культивировании исследуемых бактерий в жидкой среде с добавлением в качестве источника питания нативный хитин в течение 4-х суток при комнатной температуре. Затем центрифугировали при 4500 об/мин 5 мин, надосадочную жидкость переносили в чистые пробирки.

К 4 мл рабочего раствора коллоидного хитина добавляли 1 мл супернатанта.

Выдерживали 120 мин при температуре 37 °С. Для приготовления контрольного раствора к 4 мл рабочего раствора коллоидного хитина добавляли 1 мл стерильной жидкой питательной среды, содержащую нативный хитин, через 120 мин после выдерживания при температуре 37 °С.

Для определения *хитиназной* активности необходимо было провести реакцию с 4-диметиламинобензальдегидом. Для этого опытные и контрольный растворы центрифугировали 3 мин при 4500 об/мин, фильтровали.

Отбирали по 0,5 мл опытных и контрольного фильтрата, добавляли по 2 мл раствора ацетилацетона (0,75 мл ацетилацетона + 25 мл 0,625 М Na₂CO₃) и кипятили на водяной бане 20 мин. Растворы охлаждали и добавляли к ним по 20 мл этилового спирта и по 2 мл реактива Эрлиха (0,8 г N-диметиламинобензальдегида + 10 мл конц. HCl + 15 мл этилового спирта).

Растворы выдерживали 45 мин при комнатной температуре и измеряли оптическую плотность опытных растворов при 530 нм напротив контроля. Опыт проводили в трех повторностях (Decleire et al., 1996; Рысакова и др., 2006).

Активность фермента рассчитывали по формуле:

$$C = \frac{A530 - 0,006}{2,669},$$

где A530 – значение оптической плотности при длине волны 530 нм.

$$A = \frac{C * 5}{0,03 \text{ [концентрация коллоидного хитина]}} , \text{ Е/г.}$$

2.6 Изучение факторов патогенности, вирулентности и антибиотикочувствительности исследуемых бактерий

Определение адгезивности. Для определения способности бактерий адгезироваться на поверхности эукариотических клеток использовали метод Бриллис В.И. (1986).

В эксперимент были взяты эритроциты человека О (I) группы Rh (+) крови, которые содержат на своей поверхности вещество гликоферин, идентичное гликокаликсу эпителиальных клеток. Эритроциты несколько раз отмывали буферным раствором (0,1 М раствор фосфата натрия, рН=7,2-7,3) при помощи центрифугирования (300 об/мин). Далее готовили взвесь эритроцитов с концентрацией 10^8 кл/мл на указанном буферном растворе.

Культуры бактерий выращивали в течение 24-48 часов при комнатной температуре на среде СММ (Бузолева, 2012а).

На первом этапе работы, в каждую лунку 24-луночного планшета вносили по 0,5 мл взвеси эритроцитов (10^8 кл/мл) и добавляли к ним по 0,5 мл взвеси бактериальных клеток (10^9 кл/мл). Смесь инкубировали в термостате при температуре 37°C 30 мин. Далее готовили мазки на тщательно обезжиренном предметном стекле, затем их фиксировали в 96% этаноле 10 мин и окрашивали по Романовскому-Гимзе на протяжении 40 мин. Адгезию изучали на микроскопе Axio Lab. A1 (Zeiss AG, Германия).

Для оценки адгезивности бактерий производили подсчет на 100 эритроцитах, просматривая весь мазок на предметном стекле. Эксперимент повторяли трижды.

Высчитывали по формуле:

$$СПА = \frac{\text{количество адгезированных бактерий}}{\text{на количество связанных клеток}},$$

где СПА – среднее количество бактериальных клеток, прикрепившихся к одному эритроциту, из ста просмотренных на предметном стекле.

При значении СПА от 0 до 1,0 – нулевая адгезивность, от 1,01 до 2,0 – низкая, от 2,01 до 4,0 – средняя, свыше 4,0 – высокая.

$$K = \frac{\text{адгезированные бактериальные клетки}}{(\text{свободные эритроциты} + \text{адгезированные бактериальные клетки})} \times 100\%$$

где К – % эритроцитов, на поверхности которых есть адгезированные бактерии.

$$ИАМ = \frac{СПА \times 100}{K},$$

где ИАМ – показатель среднего количества адгезированных бактериальных клеток на одном эритроците.

Если ИАМ \leq 1,75 – неадгезивные, от 1,76 до 2,5 – низкоадгезивные, от 2,51 до 4,0 – среднеадгезивные и при ИАМ \geq 4,0 – высокоадгезивные.

Определение гемолитической активности. На чашки Петри с кровяным агаром осуществляли посев 18-часовой культуры штаммов бактерий. Чашки инкубировали при комнатной температуре в течение 24-48 часов. После чего проводили учет результатов. При положительной реакции отмечали появление зеленовато-коричневого ореола вокруг колоний или образование прозрачной зоны гемолиза (Лабинская и др., 2005).

Определение плазмокоагуляционной активности. В стерильные эппендорфы разливали по 0,3 мл цитратной плазмы, разведенной фосфатно-солевым

раствором в стандартном соотношении 1:5 и по одной петле суточных культур бактериальных клеток (10^9 кл/мл). Учитывали хлопьеобразование через 5 минут (Лабинская и др., 2005).

Определение гиалуронидазной активности. В стерильные эппендорфы разливали по 0,3 мл гиалуроновой кислоты в рабочем титре, добавляли по 0,05 мл суспензии суточных культур бактерий (10^9 кл/мл), инкубировали в термостате при $36\text{ }^{\circ}\text{C}$ 15 минут, далее в холодильнике при $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 минут. Затем, закапывали по 5 капель 15% уксусной кислоты, вызывающая свертывание гиалуроновой кислоты и учитывали результаты. Положительная реакция при отсутствии коагулированного сгустка (Куяров, Сайгушева, 2012).

Определение цитопатических свойств. Цитопатические свойства бактерий изучали на культуре клеток зеленой мартышки (линия Vero E6) (Tan et al., 2004). Монослой клеток Vero E6 выращивали на среде Игла MEM с двойным набором аминокислот и витаминов в специальных культуральных планшетах (96-луночных), дополнительно вносили L-глутамин (1 мг/мл) и 7% сыворотку эмбрионов коров. Готовили суспензию суточных культур бактерий в концентрации 10^9 кл/мл на среде СММ (Бузолева, 2012а), далее методом последовательного десятикратного разведения доводили рабочие концентрации бактериальной взвеси от 10^9 до 10^4 кл/мл. Суспензии каждой концентрации клеток бактерий добавляли в монослой клеток Vero E6, инкубировали 3 суток при температуре $36\text{ }^{\circ}\text{C}$. Через 24, 48 и 72 часа оценивали результат на микроскопе Axio Lab. A1 (Zeiss AG, Германия). Цитопатические свойства бактерий считали выраженными при наблюдении в поле зрения микроскопа дегенеративных изменений монослоя Vero E6.

Определение LD_{50} . Для определения LD_{50} использовали суспензию суточных культур гетеротрофных бактерий в концентрации 10^9 кл/мл, далее методом последовательного десятикратного разведения доводили рабочие концентрации бактериальной взвеси от 10^9 до 10^4 кл/мл и заражали по 5 мышей внутрибрюшинно (вводимая доза 0,5 мл). Наблюдали в течение 30 суток

ежедневно, отмечая в протоколе опыта количество павших и живых животных. LD₅₀ рассчитывали по формуле Кербера (Лабинская и др., 2004; Тихонович, 2013).

$$\lg LD_{50} = \lg D - \sigma (\text{SUM} - 0,5)$$

$$\text{SUM} = \sum L_i$$

где,

D – максимальная доза из испытанных;

σ – логарифм отношения каждой последующей дозы к предыдущей, т.е. логарифм кратности испытываемых разведений;

SUM – сумма значений, найденных для всех испытанных доз;

L – отношение числа животных, погибших от введения данной дозы, к общему числу животных, которым эта доза была введена

Стандартную ошибку рассчитывали по формуле:

$$\lg LD_{96} = \lg D - \sigma (\text{SUM} - 0,96)$$

$$\lg LD_{14} = \lg D - \sigma (\text{SUM} - 0,14)$$

$$Se = \frac{(\lg LD_{96} + \lg LD_{14})}{n}$$

где n – количество мышей, взятых в эксперимент.

Определение антибиотикочувствительности. Для определения антибиотикочувствительности бактерий использовали диско-диффузионный метод (МУК 4.2. 1890-04, 2004). Посев производили газоном на среду АГВ. На каждую чашку Петри укладывали по 6 дисков, смоченных в растворах разных антибиотиков.

В работу были взяты 7 видов антибиотиков (карбеницилин, тетрациклин, ампицилин, цефотаксим, ципрофлоксацин, цефтозидим, цефоперазон) фирмы НИЦФ СПб. Выбранные антибиотики обладают активностью против грамотрицательных бактерий, в том числе и бактерий рода *Pseudomonas* (Страчунский, Козлов, 2002; Супотницкий, 2011).

2.7 Статистическая обработка результатов

Для определения сходства между составами бактериальных сообществ акваторий Приморского края, использовали расчеты кластерного расстояния на основе евклидовых дистанций (Воробьев и др., 2006).

Для определения видового разнообразия бактериальных сообществ использовали расчет индекса α разнообразия Фишера (Fisher et al., 1943). Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета Vegan (<https://github.com/vegandevs/vegan/issues>) в R v. 3.5.0 (<https://www.r-studio.com>).

Значения уровней дегидрогеназной активности и хитиназной активности культивируемых штаммов бактерий, выделенных из акваторий Приморского края сравнивали с помощью U-критерия Манна-Уитни (Гублер, Генкин, 1973).

Медиану рассчитывали для значений дегидрогеназной и хитиназной активностей культивируемых бактерий в программе Microsoft Office Excel 2010.

ГЛАВА 3 ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ БАКТЕРИЙ ИЗ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД АКВАТОРИЙ ПРИМОРСКОГО КРАЯ С РАЗНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКОЙ

В ходе работы из морской среды изолировано и таксономически охарактеризовано 259 штаммов бактерий относящихся к 33 родам, из них 77 штаммов – из б. Золотой Рог, 99 штаммов – б. Находка, 41 штамм – зал. Восток и 41 штамм – б. Киевка. В б. Золотой Рог все выделенные бактерии относились к 22 родам, в б. Находка – к 21, в б. Киевка – к 12 и зал. Восток – к 11.

Идентификацию всех выделенных в чистую культуру бактерий проводили на основе морфологических, культуральных и физиолого-биохимических свойств.

Поскольку, возникали трудности при дифференциации, например, бактерий, относящиеся к роду *Vibrio* от бактерий рода *Aeromonas*, часть штаммов была идентифицирована с помощью анализа последовательности гена 16S рРНК (праймеры 27F/1350R) для более точного определения их таксономического статуса сотрудниками ЦКП «Геномика» (г. Новосибирск). В данной работе, использование молекулярно-генетических методов позволило скорректировать полученные результаты по идентификации культивируемых бактерий, выделенных из прибрежных вод Приморского края (прил. 1).

Всего из б. Золотой Рог до рода были идентифицированы 55 штаммов бактерий, из б. Находка – 92, б. Киевка – 32 и зал. Восток – 40. Часть культивируемых бактерий удалось идентифицировать до вида с вероятностью 98-99%.

Исследование таксономического разнообразия полученных чистых культур бактерий показало, что во всех акваториях встречались бактерии родов *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Chryseobacterium*, *Acinetobacter* и *Actinomyces* (рис. 2, прил. 2). По литературным источникам известно, что представители данных таксономических групп являются типичными для морских вод и встречаются повсеместно (Малыгина, Кацев, 2003; Михайлов, 2004; Михайлов и др., 2004; Могильникова и др., 2009; Сулова и др., 2012; Семенов и др., 2014).

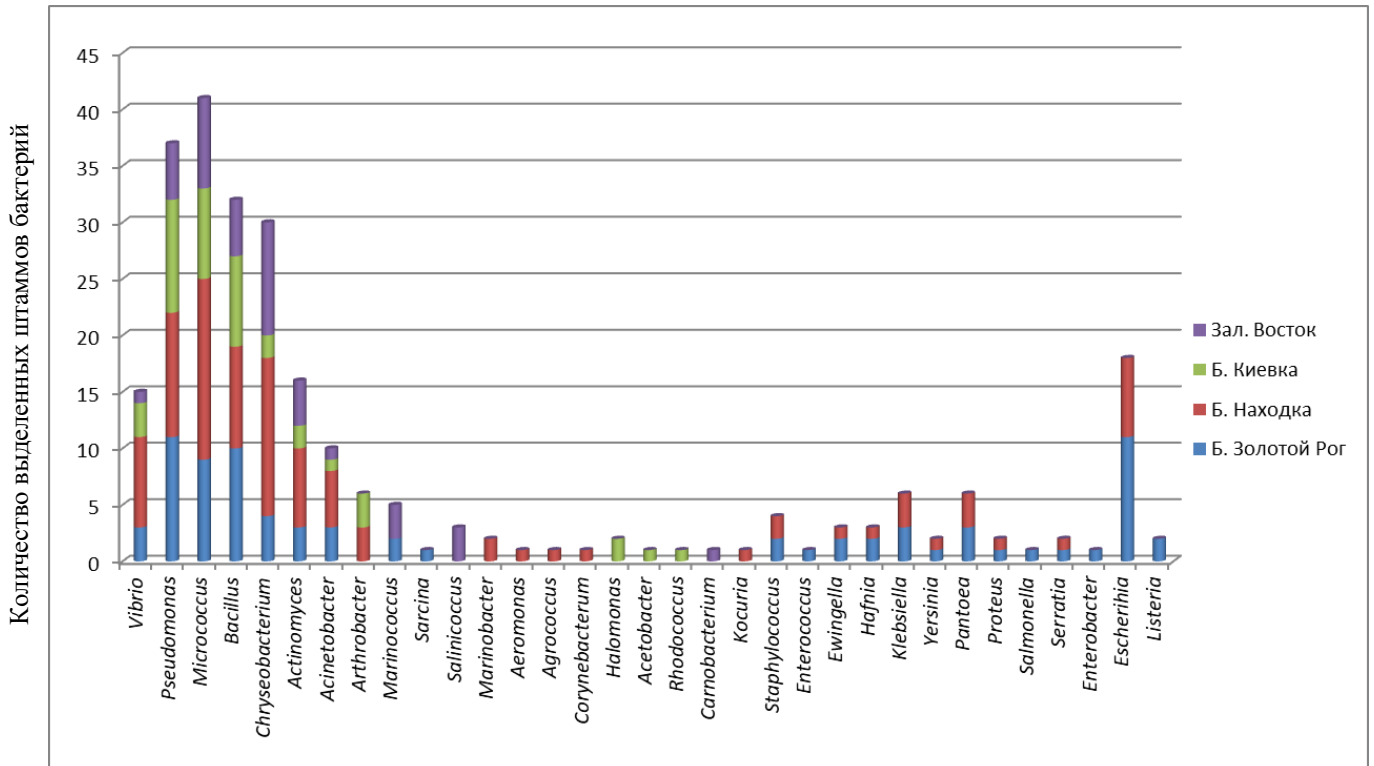


Рисунок 2 – Таксономический состав культивируемых бактерий, выделенных из акваторий Приморского края

Несмотря на сходство состава автохтонной микробиоты в исследуемых районах, значения индекса α разнообразия Фишера были выше в загрязненных акваториях - 10,29 и 8,77 для б. Золотой Рог и б. Находка, соответственно. В то время как для б. Киевка и зал. Восток индекс был равен 4,93 в обоих случаях. Подобные различия могут быть связаны с присутствием в загрязненных акваториях патогенных и условно-патогенных бактерий.

Так, доля выделенных патогенных и условно-патогенных бактерий в б. Находка была равна 21,4%, б. Золотой Рог - 30%, а фоновых районах эти микроорганизмы не были обнаружены.

И из в б. Золотой Рог и из б. Находка были выделены бактерии семейства Enterobacteriaceae, относящиеся к родам: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Ewingella*, *Hafnia*, *Yersinia*, *Pantoea*, *Proteus*, *Serratia*.

Среди БГКП в б. Золотой Рог были идентифицированы виды: *Escherichia fergusonii*, *Serratia liquefaciens*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *Enterobacter cloacae*, в б. Находка - *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Serratia fonticola*.

В б. Золотой Рог также обнаружены патогенные и условно-патогенные бактерии, такие как *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus pasteurii*, *Enterococcus sp.*, в б. Находка: *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus pasteurii* и *Kocuria rosea*.

В соответствии с критериями санитарно-микробиологических показателей в б. Золотой Рог присутствует как свежее фекальное загрязнение, о чем свидетельствует наличие в пробах воды бактерий рода *Enterococcus*, так и хроническое, о чем свидетельствует присутствие в пробах воды бактерий рода *Escherichia*, а в б. Находка – хроническое.

Кластерный анализ показал, что акватории, испытывающие мощное антропогенное загрязнение наиболее схожи между собой по составу микробного сообщества культивируемых бактерий, то же самое наблюдается и в акваториях с минимальным антропогенным прессом (рис. 3).

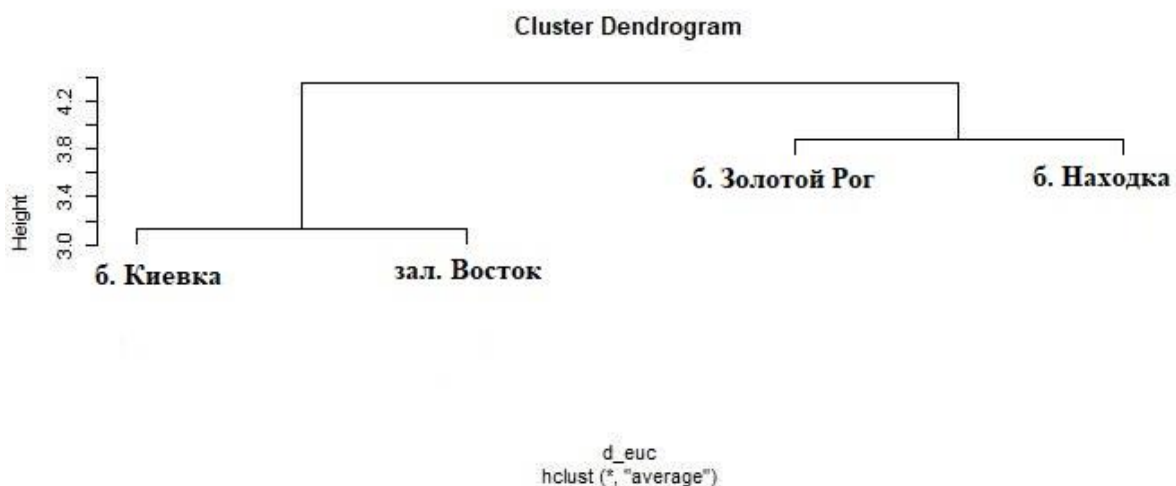


Рисунок 3 – Кластерная дендрограмма, характеризующая различия между составами культивируемых бактерий в микробных сообществах акваторий Приморского края

По литературным источникам известно, что под действием антропогенного пресса таксономическое разнообразие в микробиоценозах водных экосистем снижается и объясняется это исчезновением видов чувствительных к загрязнению и активной пролиферацией копиотрофов (Drury et. al., 2013, Jordaan et. al, 2019). В нашей же работе показано, что таксономическое разнообразие культивируемых форм бактерий в условиях хронического загрязнения наоборот увеличивается. Возможно, это связано с тем, что микроорганизмы, постоянно присутствующие в морской среде благодаря своим уникальным физиолого-биохимическим свойствам, способны адаптироваться к повышенным концентрациям различных поллютантов и формировать устойчивые к ним микробные сообщества (Бузолева и др., 2008; Нетрусов, 2015). А также, в акватории, испытывающие антропогенную нагрузку вместе с коммунально-бытовыми, промышленными и иными стоками в воды привносится аллохтонная микрофлора, представители которой способны к росту и размножению в водной среде (Сомов, Бузолева, 2004; Еськова и др., 2016; 2017а).

ГЛАВА 4 БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КУЛЬТИВИРУЕМЫХ БАКТЕРИЙ ИЗ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД АКВАТОРИЙ ПРИМОРСКОГО КРАЯ С РАЗНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКОЙ

4.1 Изучение дегидрогеназной активности гетеротрофных бактерий

Известно, что определение дегидрогеназной активности (ДГА) является одним из основных методов оценки экологического состояния (Тупин и др., 2010), т.к. позволяет в кратчайшие сроки определить происходящие изменения в окружающей среде за счет окислительных процессов. Ферменты дегидрогеназы относятся к классу оксидоредуктаз, катализирующих реакции, связанные с процессами дыхания, гликолиза и брожения, участвуют в переносе атомов водорода от субстрата-донора к акцептору. По величине показателя ДГА можно определить количество легкоокисляемого субстрата утилизируемого микроорганизмами в исследуемом экотопе (Кобелева, 2014).

В основном суммарное значение ДГА определяют в пробе почвы, сточных вод или ила (Тупин и др., 2010), при этом не учитывается состав и численность микроорганизмов, участвующих в окислительных процессах. В нашей работе определение ДГА использовали для выявления изменений активности ферментов дегидрогеназ у культивируемых бактерий под действием антропогенного загрязнения.

В работе были исследованы 95 штаммов бактерий, выделенных в 2015 году, из них 21 штамм из б. Золотой Рог, 27 – из б. Находка, 24 – из зал. Восток и 27 – из б. Киевка на наличие ДГА (прил. 3).

Интересно отметить, что большая доля бактерий с более высокими значениями ДГА была обнаружена в б. Золотой Рог и б. Находка (максимальные значения 8 и 6,8 усл.ед. соответственно). Для сравнения исследуемых акваторий между собой по ДГА культивируемых бактерий определяли значение медианы, которое равнялось 3 усл. ед. Согласно проведенным исследованиям, в загрязненных бухтах доля бактериальных штаммов со значениями ДГА выше 3

усл. ед. составила в б. Золотой Рог 71,4%, б. Находка – 85,2%, б. Киевка – 11,1%, в зал. Восток – 8,3% (рис. 4).

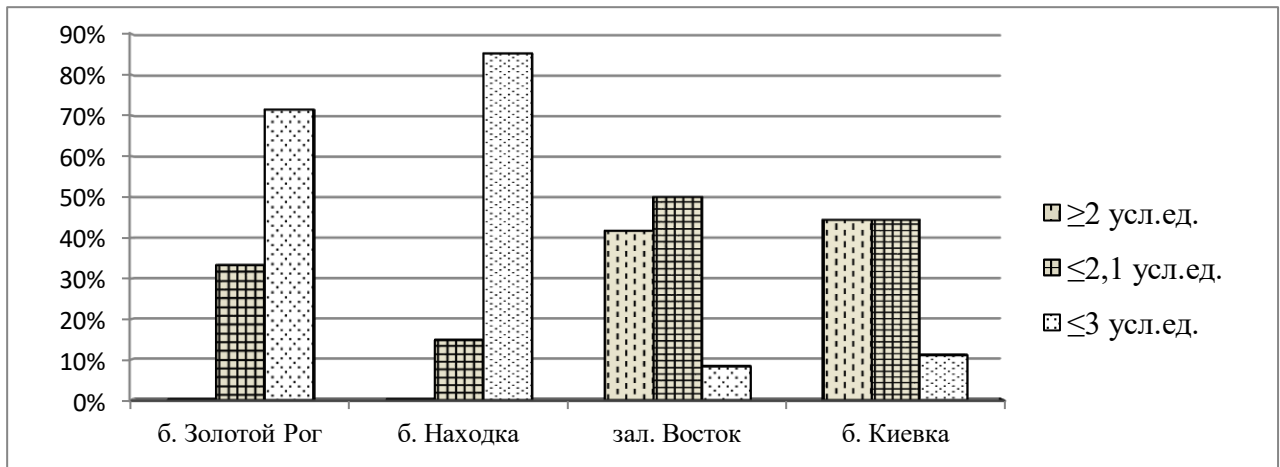


Рисунок 4 – Доля штаммов бактерий со значением медианы ДГА выше 3 усл.ед., выделенных из акваторий Приморского края

При анализе полученных данных с помощью критерия Манна-Уитни, не было выявлено статистически достоверных различий в значениях ДГА культивируемых бактерий, выделенных из б. Золотой Рог и б. Находка, что может указывать на схожие уровни активности ферментов дегидрогеназ у гетеротрофных бактерий в загрязненных районах. Похожие результаты получили при сравнении значений ДГА бактерий, выделенных из условно чистых акваторий (рис. 5 А, Б).

При оценке различий между культивируемыми бактериями, выделенными из загрязненных акваторий (б. Золотой Рог и б. Находка) и из условно чистых (б. Киевка и зал. Восток) по ДГА, выявлено, что $U_{эмп}$ находится в зоне значимости, следовательно, можно говорить о статистически достоверном различии в активности дегидрогеназ между бактериями, выделенными из акваторий, обремененных антропогенной нагрузкой и бактериями из условно чистых районов (рис. 5 В, Г, Д, Е).

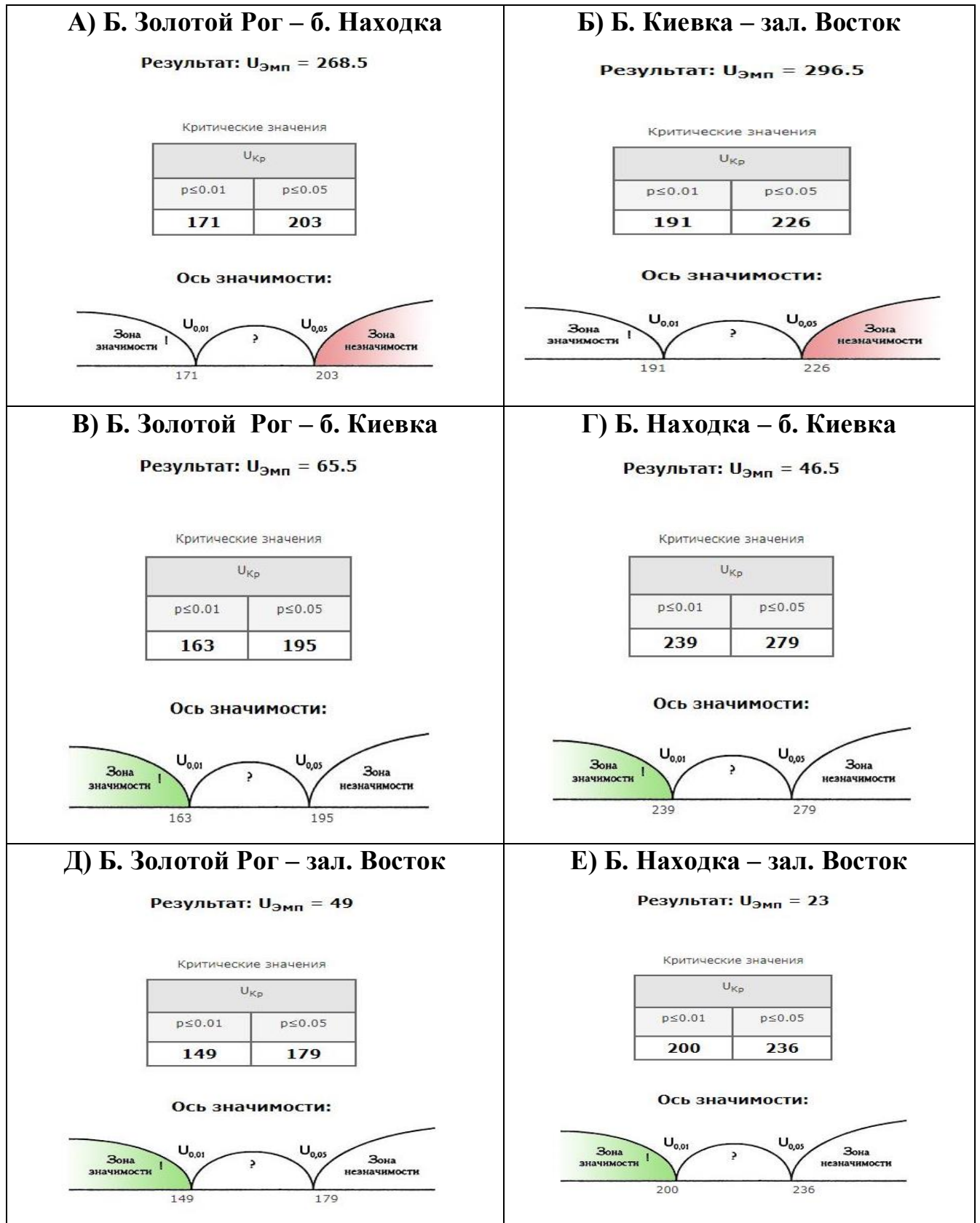


Рисунок 5 – Значения критерия Манна-Уитни для ДГА культивируемых бактерий, выделенных из акваторий Приморского края: А – б. Золотой Рог – б. Находка; Б – б. Киевка – зал. Восток; В) Б. Золотой Рог – б. Киевка; Г) Б. Находка – б. Киевка; Д) Б. Золотой Рог – зал. Восток; Е) Б. Находка – зал. Восток

Очевидно, что поступление в воды б. Золотой Рог и б. Находка большого количества органических соединений с коммунально-бытовыми, промышленными и речными стоками приводит к усилению активности ферментов дегидрогеназ у гетеротрофных бактерий. Учитывая полученные результаты, тест на ДГА отдельных штаммов бактерий может быть использован для определения уровня органического загрязнения в качестве альтернативы химическим методам.

4.2 Исследование способности бактерий разлагать различные органические субстраты

4.2.1 Определение амилалитической, протеолитической и липолитической активности у культивируемых бактерий

На следующем этапе проводили качественную оценку амилалитической, протеолитической и липолитической активностей исследуемых бактерий. Данный подход нередко используют для определения уровня антропогенного воздействия на морскую среду (Израэль, Цыбань, 1981; Дмитриева, 1999б, 1999в; Калитина, 2006; Калитина и др., 2006).

В нашей работе было установлено, что частота встречаемости у бактерий амилалитической и протеолитической активности в загрязненных и фоновых районах практически не отличалась между собой. Например, доля бактерий, выделенных из бухт Золотой Рог и Находка, обладающих протеолитической активностью составила 51% и 37%, амилалитической 37% и 41% соответственно. А в б. Киевка доля бактерий с протеолитической активностью составила 41%, с амилалитической – 37%, в зал. Восток – 46% и 41% соответственно (рис. 6, прил. 4).

Как известно, многие микроорганизмы могут синтезировать ферменты амилазы и протеазы в присутствии легкоразлагаемых соединений (Дмитриева, 1999б). Данные органические субстраты постоянно присутствуют в морской воде за счет естественных процессов жизнедеятельности морских организмов и терригенных стоков в условно чистых районах. Дополнительно они могут

поступать вместе с коммунально-бытовыми и промышленными сбросами в районах с антропогенной нагрузкой. В этом случае сложно разграничить между собой природные и антропогенные источники поступления органических веществ. Вероятно, поэтому частота встречаемости амилитической и протеолитической активностей у микроорганизмов из разных акваторий практически не отличалась.

Доля бактерий с липолитической активностью составила в загрязненных районах б. Золотой Рог до 80%, в б. Находка до 45%, в то время как в условно чистых акваториях б. Киевка до 19% и зал. Восток до 17% (рис. 6, прил. 4). Природными источниками липидов могут быть останки мертвых животных и растений. Однако, основной вклад в поступление липидов в морскую среду вносят коммунально-бытовые и промышленные стоки, а также аварийные разливы нефти и нефтепродуктов (Цыбань, Теплинская, 1982; Теплинская, 1990; Киреева, 2006). Учитывая, существенное загрязнение б. Золотой Рог и б. Находка нефтяными углеводородами (Доклад..., 2017), становятся вполне объяснимы полученные нами результаты по липолитической активности культивируемых бактерий.

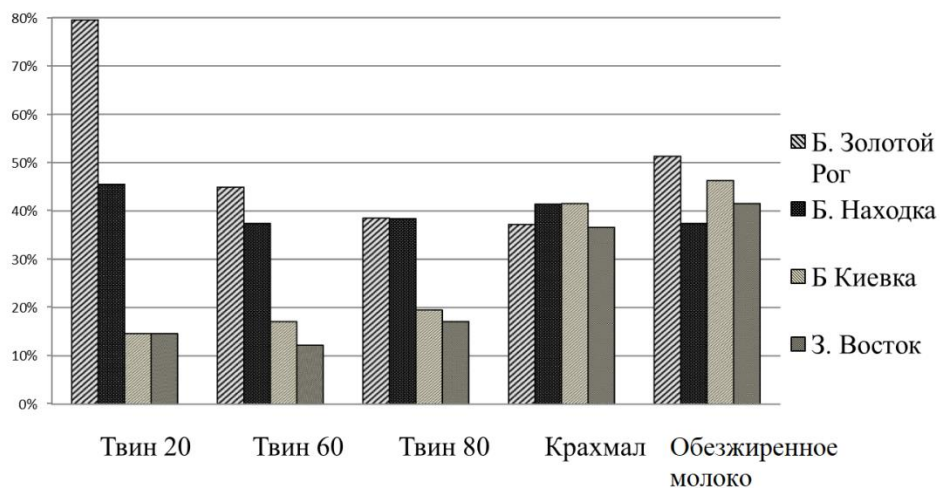


Рисунок 6 – Доля бактериальных штаммов, обладающих ферментативной активностью по отношению к органическим субстратам: обезжиренное молоко, крахмал, Твин 20, 60, 80

4.2.2 Определение ферментативной активности у бактерий по отношению к органическим субстратам, характерным морским водам

Поскольку не было обнаружено разницы по амилолитической и протеолитической активности у культивируемых бактерий, выделенных из загрязненных и условно чистых акваторий. То было сделано предположение, что под действием антропогенной нагрузки, возможно, будет изменяться активность других ферментов по отношению к субстратам характерным морским водам.

Известно, что общие запасы хитина, содержащихся в морском зоопланктоне, клеточной стенке дрожжей и грибов, панцирях ракообразных (Быкова, Немцев, 2002), стенках цист инфузорий, клетках диатомовых, зеленых, золотистых и гаптофитовых водорослей (Cauchie, 2002), трубках погонофор (Muzzarelli, 1977) в мировом океане оцениваются в 2,3 млрд. т/год (Скрябин и др., 2002). Содержание бурых водорослей (главными компонентами биомассы которых являются, клетчатка, альгинат и фукоидан) в морских водах достаточно велико, поэтому его сложно оценить и может составлять несколько десятков млрд тонн.

Еще одной особенностью является то, что данные субстраты являются высокомолекулярными соединениями и их конверсия осуществляется либо комплексом ферментов (хитин, клетчатка) (Быкова, Немцев, 2002; Клесов, Синицин, 1981) либо узкоспециализированными ферментами, синтезируемыми определенными группами микроорганизмов. Например, фукоиданы содержатся в водорослях и некоторых морских животных, представляют собой семейство разнообразных по химической структуре сульфатированных полисахаридов и встречаются только в морской среде (Holtkamp et al., 2009). Ферменты, участвующие в его разложении разнообразны, специфичны и найдены у обитающих в морской среде бактериях, беспозвоночных животных и некоторых грибах (Kusaykin и др., 2016). Также и с альгинатом, в настоящее время обнаружено и идентифицировано сотни альгинат-лиаз, выделенных только из морских макро- и микроорганизмов (Kawamoto et al., 2006; Zhu et al., 2016a, 2016b).

По литературным данным известно, что существует несколько методов качественного и количественного определения ферментативной активности бактерий по отношению к различным органическим субстратам.

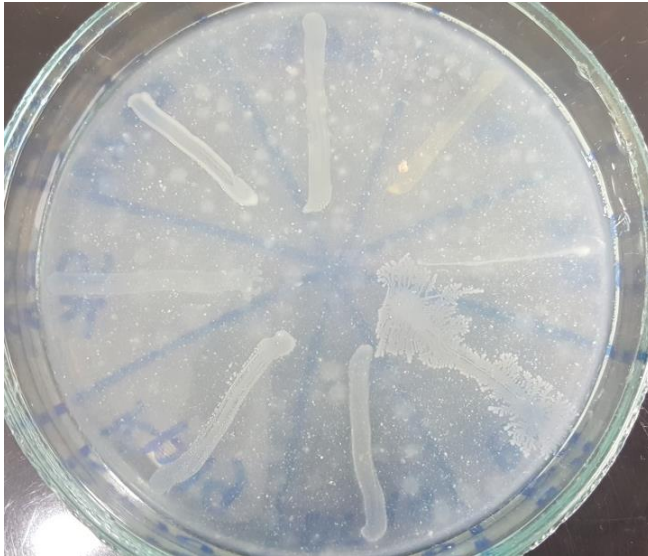
Некоторыми авторами был предложен способ определения хитиназной активности на плотной среде с добавлением коллоидного хитина и учет результатов по зоне гидролиза вокруг колонии бактерий (Шустер, Максимова, 2008; Aounallah et al., 2017). Или с использованием производных соединений, таких как карбоксиметилцеллюлоза или фильтровальной бумаги для определения целлюлазной активности (Ферментные препараты..., 2012; Шмидт, Худайгулов, 2016).

При этом изучать способность к деструкции широкого спектра органических субстратов сразу у большого количества штаммов бактерий достаточно трудоемко и не всегда представляется возможным использовать дополнительно необходимое лабораторное оборудование. Поэтому одним из решений в данной работе стало создание специальных сред, содержащих в качестве единственного источника углерода не растворимые в воде органические субстраты: хитин, хитозан, ХГК ракообразных, альгинат натрия, клетчатку и фукоидан бурых водорослей для определения ферментативной активности культивируемых бактерий, выделенных из морской среды.

Для проведения эксперимента в первую очередь субстраты измельчали механическим способом (до порошкообразного состояния) стерилизовали под ультрафиолетовым излучением в закрытом боксе в течение 60 минут. Затем, в расплавленную и остуженную до 45⁰С стерильную модифицированную среду Ворошиловой-Диановой добавляли субстрат (в соотношении на 1 литр среды 10 грамм субстрата), разливали в стерильные чашки Петри, высушивали под ультрафиолетовым излучением в течение 30 минут. Стерильность созданных сред оценивали по отсутствию роста посторонней микрофлоры в течение 10 суток при комнатной температуре. На поверхность остывшей агаризованной среды с субстратом высевали суточные культуры бактерий, параллельно высеивали на минеральной среде без добавления источника углерода в качестве

контроля. Инкубировали в течение 10 суток при комнатной температуре. После инкубации отмечали рост колоний на модифицированной среде Ворошиловой-Диановой с добавлением органического субстрата в качестве единственного источника углерода и отсутствием роста бактерий на среде без добавления субстрата (рис.7 А, Б).

А)



Б)



Рисунок – 7 Рост штаммов бактерий, выделенных из акваторий Приморского края, на минеральной среде с добавлением в качестве единственного источника углерода: А – хитозан; Б – клетчатка

Установлено, что в условно чистых акваториях доля бактерий, способных к деструкции хитина, хитозана, ХГК, фукоидана, клетчатки и альгинат натрия выше по сравнению с загрязненными районами в среднем на 15-20% (рис. 8). В основном ферментативная активность к этим субстратам выявлена у представителей автохтонной микрофлоры, например у бактерий рода *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Chryseobacterium* и редко встречалась у условно-патогенных и патогенных бактерий (прил. 5).

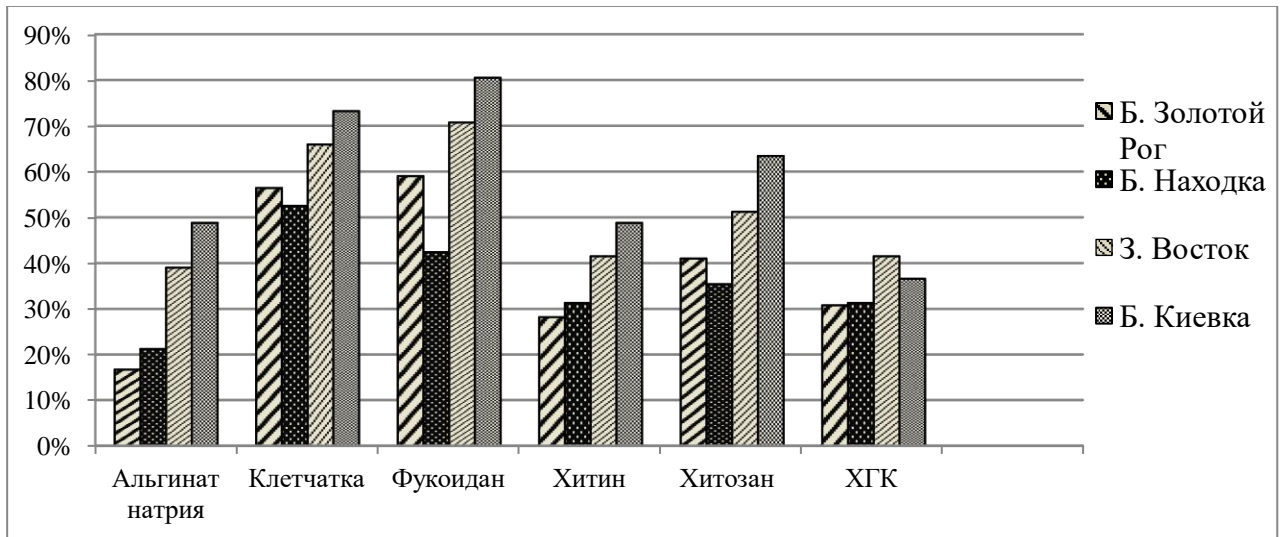


Рисунок 8 – Доля бактериальных штаммов, обладающих ферментативной активностью по отношению к органическим субстратам: хитин, хитозан, ХГК, клетчатка, альгинат натрия, фукоидан

Интересно отметить, что рост культур гетеротрофных бактерий, выделенных из условно чистых районов, отмечали на 3-4 сутки культивирования, в то время как из акваторий с высокой антропогенной нагрузкой только на 7-8. Вероятно всего, у бактерий, выделенных из загрязненных районов, это связано с удлинением лаг-фазы при переходе к утилизации более сложных органических соединений (Готтшалк, 1982).

Полученные данные могут быть объяснены тем, что в б. Золотой Рог и б. Находка наблюдается повышенное содержание ОВ, поступающих в воды с хозяйственно-бытовыми, промышленными и речными стоками, балластными водами и т.п. В таких условиях микроорганизмы способны к деструкции широкого спектра ОВ, в первую очередь простых соединений, для минимизации затрат энергии и при переходе на потребление более сложных субстратов у бактерий наблюдается длительная адаптация по времени за счет необходимости синтезировать сложные ферментные комплексы. Бактерии из условно чистых акваторий чаще встречаются с органическими субстратами естественного происхождения, за счет чего адаптационный период у них короче и скорость синтеза ферментов выше.

Учитывая, что антропогенное загрязнение может влиять не только на скорость роста бактерий на определенных субстратах, но и на значения ферментативной активности, была проведена количественная оценка активности хитиназы. В работу были взяты все штаммы бактерий, выросшие на минеральной среде с добавлением в качестве единственного источника углерода хитин. Всего исследовано 94 штамма бактерий: из б. Золотой Рог – 25, б. Находка – 31, зал. Восток – 17, б. Киевка – 21 (прил. 6).

Показано, что доля штаммов бактерий обладающих хитиназной активностью со значением медианы равной 4 Е/г и выше составила в б. Киевка – 71%, Зал. Восток – 59%, б. Находка – 42%, б. Золотой Рог – 20% (рис. 9).

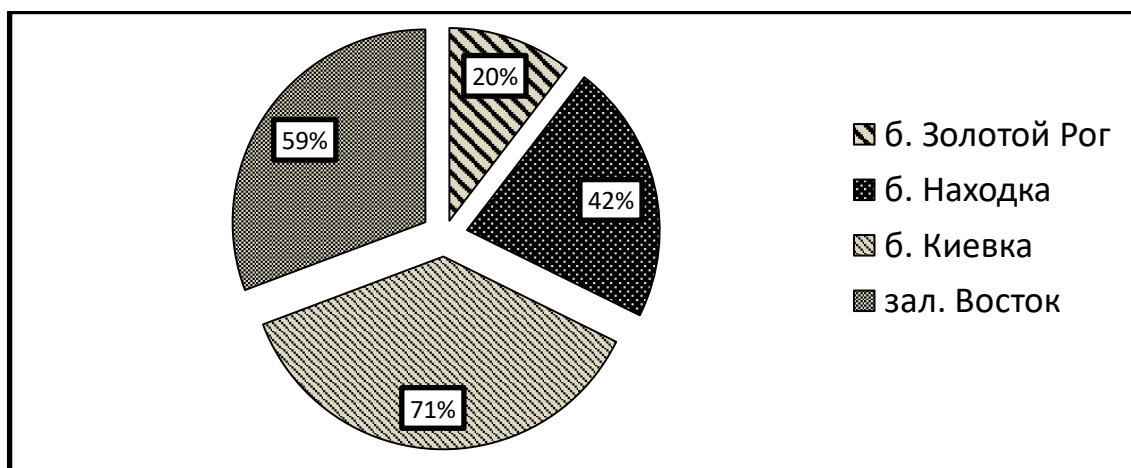


Рисунок 9 – Доля штаммов бактерий со значением медианы хитиназной активности выше 4 Е/г, выделенных из акваторий Приморского края

При анализе полученных данных с помощью критерия Манна-Уитни не было выявлено статистически достоверных различий в значениях хитиназной активности культивируемых бактерий, выделенных из б. Золотой Рог и б. Находка, что может указывать на схожие уровни активности хитиназ у гетеротрофных бактерий в загрязненных районах. Похожие результаты получились при сравнении значений хитиназной активности бактерий, выделенных из условно чистых акваторий (рис. 10.1 А, Б).

Значения U-критерий находились в зоне значимости при сравнении хитиновой активности бактерий, выделенных из акваторий с антропогенной нагрузкой б. Золотой Рог и б. Находка с условно чистыми районами б. Киевка и зал. Восток. Таким образом, загрязнение приводит к снижению активности хитиназ у гетеротрофных бактерий (рис. 10.1 В,Г, рис. 10.2 Д, Е).

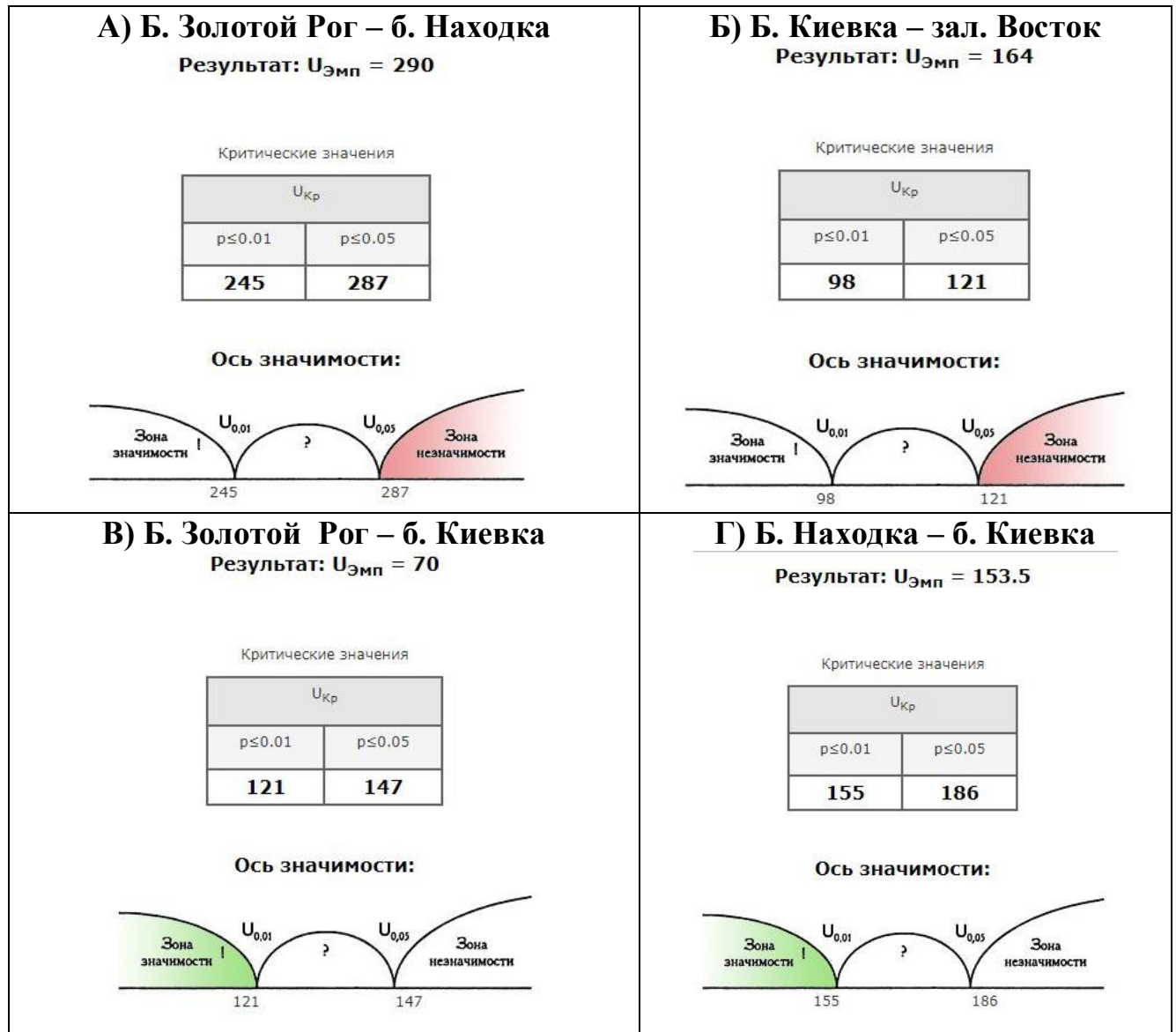


Рисунок 10.1 – Значения критерия Манна-Уитни для хитиновой активности культивируемых бактерий, выделенных из акваторий Приморского края: А – б. Золотой Рог – б. Находка; Б – б. Киевка – зал. Восток В – Б. Золотой Рог – б. Киевка; Г – Б. Находка – б. Киевка

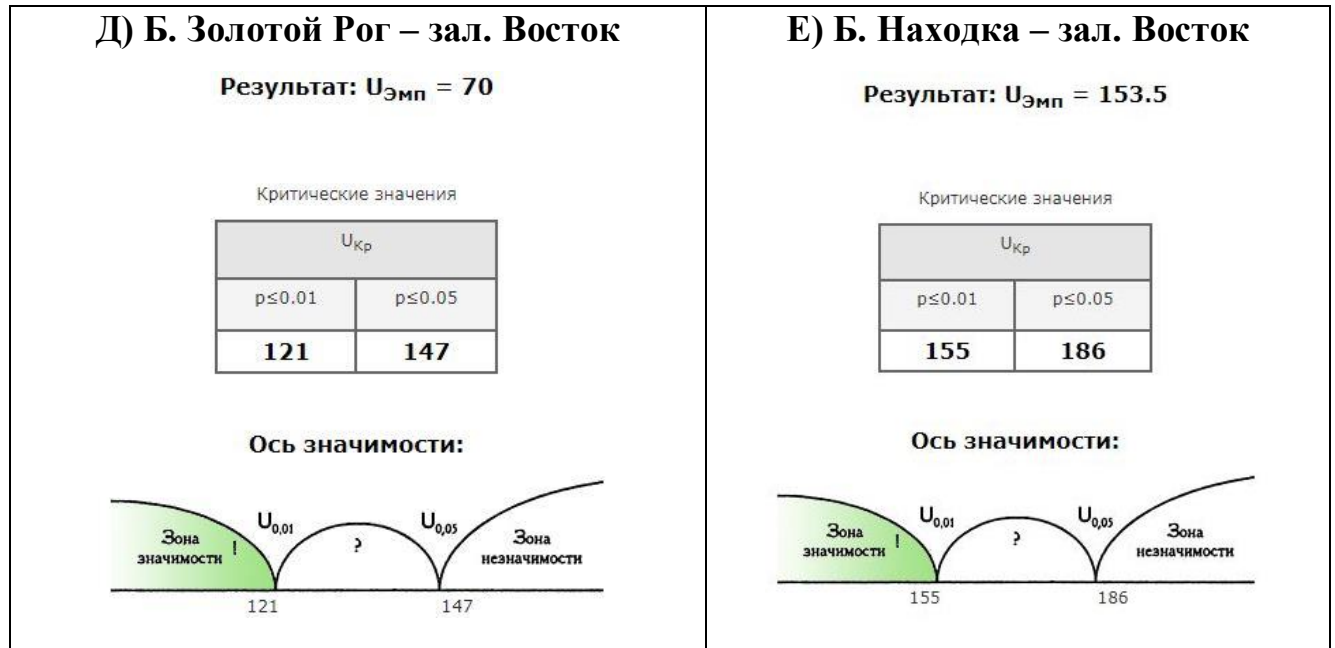


Рисунок 10.2 – Значения критерия Манна-Уитни для хитиновой активности культивируемых бактерий, выделенных из акваторий Приморского края: Д) Б. Золотой Рог – зал. Восток; Е) Б. Находка – зал. Восток

Следовательно, можно сделать вывод, что под действием антропогенного загрязнения снижается частота выявления ферментативной активности у культивируемых бактерий по отношению к субстратам, характерным морским водам (хитину, хитозану, ХГК, клетчатке, фукоидану, альгинату натрия), и снижается скорость утилизации бактериями этих субстратов.

ГЛАВА 5 ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ, ВИРУЛЕНТНОСТЬ И АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД ПРИМОРСКОГО КРАЯ С РАЗНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКОЙ

По литературным данным, известно, что различные факторы среды (температура, рН, соленость и т.д.) могут влиять на изменение патогенного потенциала у возбудителей сапрозоонозов (Баснакьян, 2003; Сомов, Бузолева, 2004). При этом, установлено, что наличие в среде загрязняющих веществ, таких как тяжелые металлы, также оказывают стимулирующее, либо угнетающее действие на факторы вирулентности патогенных и условно-патогенных микроорганизмов (Бузолева и др., 2014а).

Исходя из предположения, что под действием антропогенного загрязнения сапротрофные микроорганизмы могут изменять свои биологические свойства, в частности, патогенный потенциал, были проведены исследования по выявлению у полученных нами бактерий способности к адгезии, синтезу плазмокоагулазы, гиалуронидазы, гемолизинов, цитотоксинов, а также вирулентности и устойчивости к антибиотикам.

5.1 Исследование факторов патогенности у бактерий, выделенных из акваторий с разной антропогенной нагрузкой

Исследования показали, что доля высоко- и среднеадгезивных штаммов бактерий была выше в б. Находка и б. Золотой Рог по сравнению с условно чистыми акваториями. В зал. Восток высокоадгезивные бактерии не были обнаружены (рис.11, прил. 7).

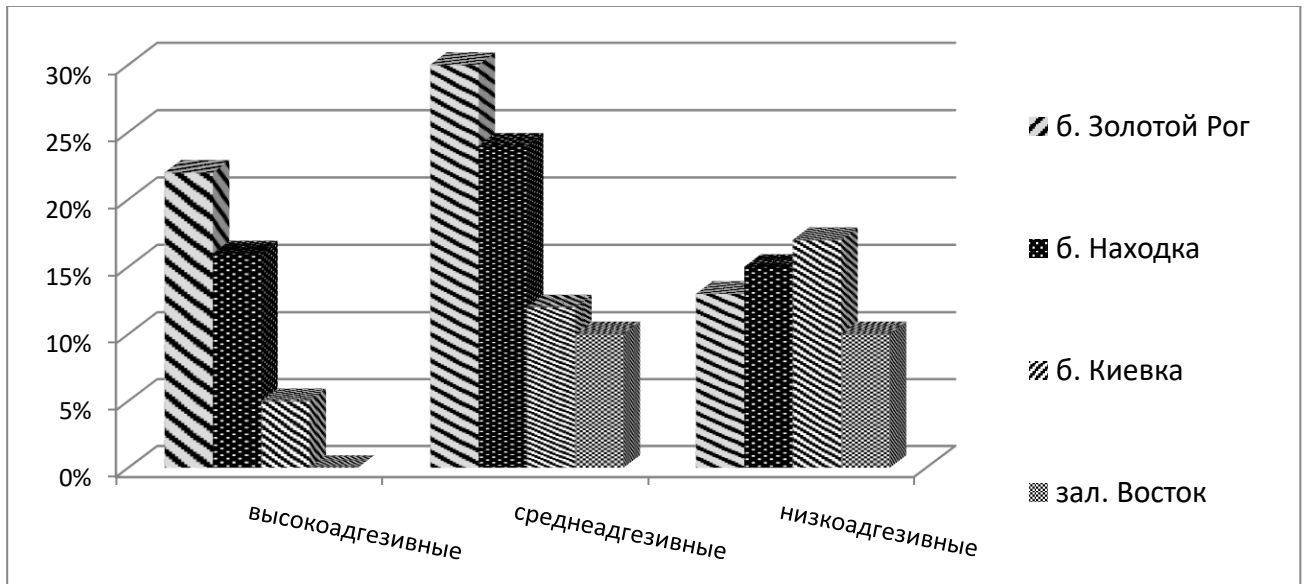


Рисунок 11 – Сравнительная характеристика адгезивности гетеротрофных бактерий, выделенных из акваторий с разной степенью антропогенного пресса

Как видно из рисунка 11, высокоадгезивными в 22% случаев были гетеротрофные бактерии, выделенные из б. Золотой Рог, 16% – из б. Находка и 5% – из б. Киевка. Из них на долю патогенных и условно-патогенных бактерий приходилось в б. Золотой Рог и б. Находка 6% и 5% соответственно.

Среднеадгезивными в 30% случаев штаммы бактерий, выделенные из б. Золотой Рог, 24% – из б. Находка, 12% – из б. Киевка и 10% – из зал. Восток. Из них доля патогенных и условно-патогенных бактерий составила в б. Золотой Рог – 6% и б. Находка – 5%.

Неадгезивными в большинстве случаев были штаммы бактерий, выделенные из б. Киевка и зал. Восток, что составило 66% и 80% соответственно.

Также к факторам патогенности относят гемолитическую (способность разрушать эритроциты человека), гиалуронидазную (способность разрушать межклеточное вещество), плазмокоагулазную (формирует непроницаемый «чехол» для антител и затрудняющий действие фагоцитов) активности.

Гемолитическая активность была обнаружена только у штаммов бактерий, выделенных из загрязненных акваторий, так на их долю в б. Золотой Рог пришлось 22%, в б. Находка – 18% (рис. 12, прил. 7).

Как известно, гемолизины – внеклеточно секретируемые молекулы, которые разрушают эритроциты и освобождают гемоглобин. Освобожденное железо, в свою очередь является необходимым для жизнедеятельности большинства патогенных бактерий (Ахтариева и др., 2003; Бухарин и др., 2005). За счет сорбции железа из среды, бактерии способны лучше противостоять неблагоприятным факторам, а также получают преимущества в конкурентной борьбе (Меньшикова, 2004).

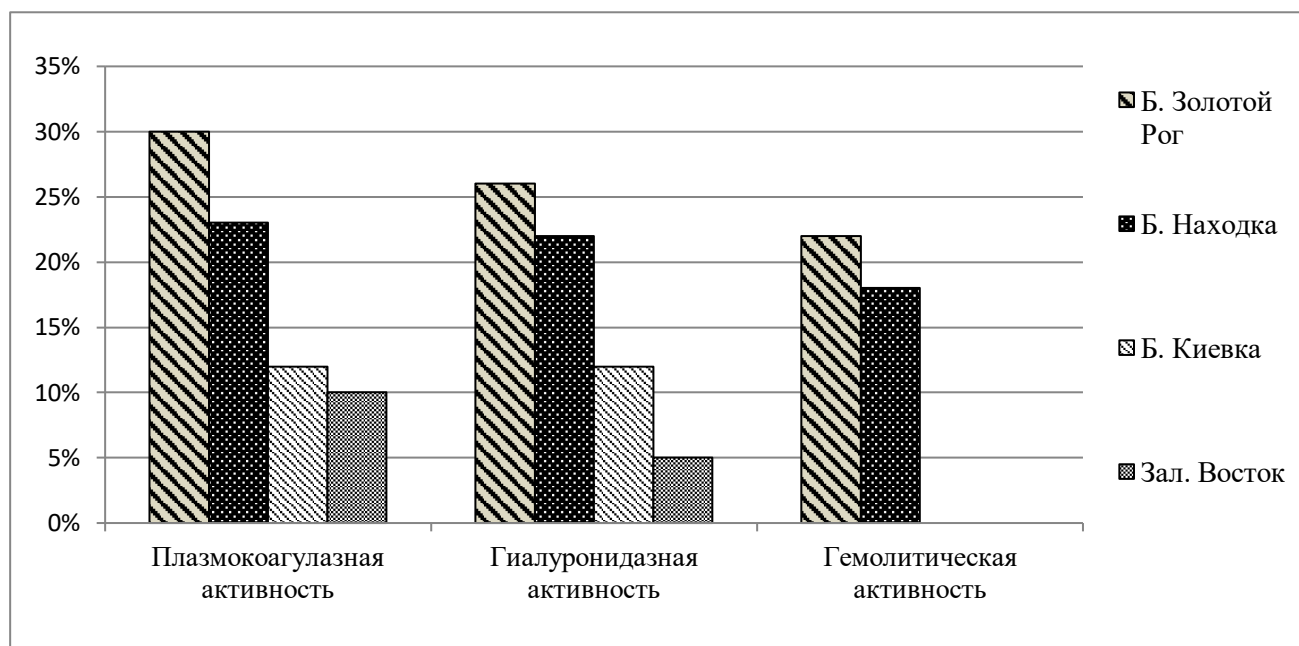


Рисунок 12 – Сравнительная характеристика гемолитической, плазмокоагулазной и гиалуронидазной активности гетеротрофных бактерий, выделенных из акваторий с разной антропогенной нагрузкой

При сравнении случаев проявления плазмокоагулазной активности было установлено, что у бактерий из б. Золотой Рог число встречаемости штаммов, обладающих этим ферментом, составило 30%, из б. Находка – 23%, из б. Киевка – 12 % и зал. Восток – 10% (рис.12, прил. 7). Из них доля патогенных и условно-патогенных бактерий составила в б. Золотой Рог – 8%, в б. Находка – 3%.

Доля штаммов, обладающих гиалуронидазной активностью, также была выше у бактерий из б. Золотой Рог – 26% и б. Находка – 22% по сравнению с зал.

Восток – 5 % и б. Киевка – 12% (рис. 12, прил. 7). При этом от общего количества бактерий, обладающих гиалуронидазной активностью 8% в б. Золотой Рог и 5% в б. Находка приходилось на патогенные и условно-патогенные бактерии.

Фермент гиалуронидаза способен расщеплять мукополисахариды, входящие в состав морских растений, поэтому некоторые бактерии и в условно чистых акваториях способны проявлять гиалуронидазную активность. Согласно литературным данным, микроорганизмы за счет плазмокоагулазной активности способны при неблагоприятных условиях среды выделять слизеобразное вещество, обволакивающее клетку, тем самым избегать, например переваривания макрофагами (Поздеев и др., 2010). При этом, скорее всего слизистый слой вокруг бактериальной клетки способствует выживаемости их и в окружающей среде, следовательно, присутствие не большого количества бактерий с плазмокоагулазной активностью в фоновых районах также объяснимо. Фермент плазмокоагулаза подавляет в организме человека фагоцитарную функцию и выработку антител, маскирует патогенный агент, усиливая тем самым агрессивные и инвазивные свойства бактерий (Поздеев и др., 2010).

5.2 Оценка влияния антропогенного загрязнения среды на цитопатические свойства, вирулентность и антибиотикочувствительность бактерий рода *Pseudomonas*, выделенных из б. Золотой Рог и б. Киевка

Для подтверждения гипотезы о влиянии антропогенного загрязнения, были проведены исследования на проявление цитопатических свойств, вирулентность и антибиотикочувствительность у бактерий рода *Pseudomonas*, которые встречались во всех исследуемых бухтах и по численности были одними из доминирующих групп микроорганизмов.

Бактерии рода *Pseudomonas* широко распространены в природе, в том числе и в морской воде (Берджи, 1980), поскольку способны расти в различных экологических условиях, и потреблять в качестве источников питания разнообразные органические субстраты. При этом псевдомонады быстро

адаптируются к изменяющимся условиям обитания, в том числе и к загрязнению морских вод.

Всего было взято в работу 19 штаммов бактерий, относящихся к роду *Pseudomonas*, 9 – из б. Киевка, и 10 – из б. Золотой Рог.

Из б. Золотой Рог в основном были выделены бактерии вида *Ps. fluorescence*, а в б. Киевка *Ps. putida*.

5.2.1 Определение цитопатических свойств бактерий рода *Pseudomonas*, выделенных из акваторий с разной антропогенной нагрузкой

Как видно из таблицы 5 значительный цитопатический эффект наблюдали у штаммов бактерий, выделенных из б. Золотой Рог.

Таблица 5 – Оценка цитопатических свойств бактерий рода *Pseudomonas*

Бактерии рода <i>Pseudomonas</i>	кл/мл					
	10^9	10^8	10^7	10^6	10^5	10^4
Б. Киевка						
<i>Ps. putida</i> 1К	+					
<i>Ps. psychrophila</i> 2 К	+	+	+			
<i>Ps. putida</i> 3 К	+					
<i>Ps. putida</i> 4 К	+	+				
<i>Ps. putida</i> 5 К	+	+	+			
<i>Ps. panacis</i> 6 К	+	+				
<i>Ps. stutzeri</i> 7 К	+	+				
<i>Ps. azotoformans.</i> 8 К	+	+				
<i>Ps. psychrophila</i> 9 К	+	+				
Б. Золотой Рог						
<i>Ps. psychrophila</i> 13Р	+	+	+			
<i>Ps. putida</i> 2 ЗР	+	+	+	+	+	+
<i>Ps. putida</i> 3 ЗР	+	+	+	+	+	+
<i>Ps. fluorescence</i> 4 ЗР	+	+	+	+	+	+
<i>Ps. azotoformans.</i> 5 ЗР	+	+	+	+		
<i>Ps. fluorescence</i> 6 ЗР	+	+	+	+	+	+
<i>Ps. fluorescence</i> 7 ЗР	+	+	+	+	+	+
<i>Ps. fluorescence</i> 8 ЗР	+	+	+	+	+	+
<i>Ps. fluorescence</i> 9 ЗР	+	+	+	+	+	+
<i>Ps. fluorescence</i> 10 ЗР	+	+	+	+	+	+

Примечание: “+” – разрушение клеток, “–” отсутствие разрушения

80% штаммов *Pseudomonas*, выделенных из б. Золотой Рог разрушали клетки монослоя при разведении культуры бактерий до 10^4 кл/мл. При этом штаммы из б. Киевка слабо разрушали клетки монослоя при разведении культуры до 10^7 кл/мл, и практически не наблюдали цитопатического действия при последующих разведениях культуры этих бактерий (рис. 13, 14).

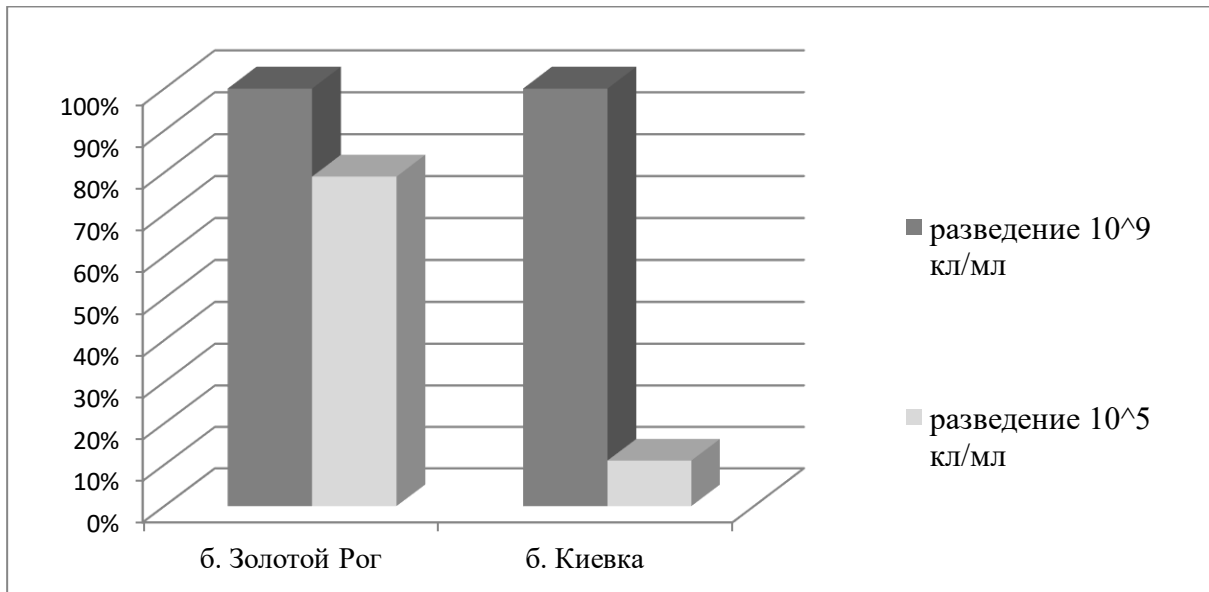


Рисунок 13 – Сравнительная характеристика цитопатических свойств бактерий рода *Pseudomonas* из районов с разной степенью антропогенной нагрузки

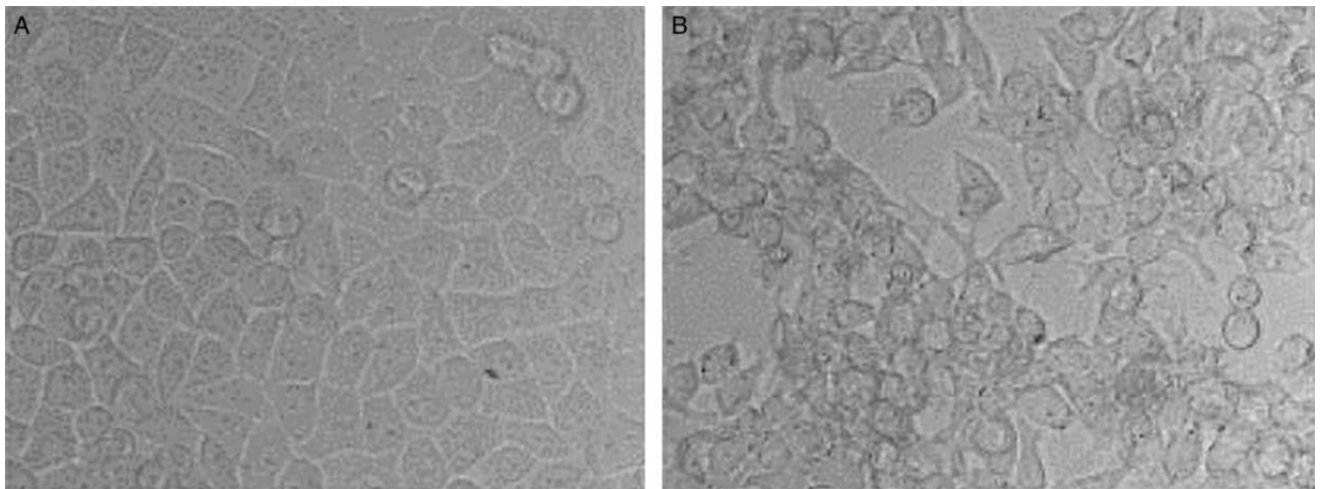


Рисунок 14 – Разрушение клеток монослоя под микроскопом: А – не разрушенный; В – разрушенный

5.2.2 Определение вирулентности у бактерий рода *Pseudomonas*, выделенных из акваторий с разной антропогенной нагрузкой

Штаммы бактерий с выраженными факторами патогенности были проверены на вирулентность, т.е. определена степень патогенного потенциала исследуемых бактерий (LD_{50}) на беспородных белых мышах (табл. 6).

Таблица 6 – Определение вирулентности у бактерий рода *Pseudomonas*, выделенных из районов с разной антропогенной нагрузкой

Место выделения	№ Штамма	Заражающая доза КОЕ/мл	Всего зараженных объектов	Период инкубации, сутки						% летальности	
				1	2	5	10	15	20		
				Количество выживших животных							
Б. Золотой Рог	<i>Pseudomonas putida</i> 2 ЗР	10^9	5	5	2	2	2	2	2	2	60%
		10^7	5	5	5	5	5	5	5	5	0%
		10^5	5	5	5	5	5	5	5	5	0%
		10^3	5	5	5	5	5	5	5	5	0%
		10^1	5	5	5	5	5	5	5	5	0%
	<i>Pseudomonas fluorescence</i> 6 ЗР	10^9	5	5	3	3	3	3	3	3	40%
		10^7	5	5	5	5	5	5	5	5	0%
		10^5	5	5	4	4	4	4	4	4	20%
		10^3	5	5	4	4	4	4	4	4	20%
		10^1	5	5	5	5	5	5	5	5	0%
Б. Киевка	<i>Pseudomonas putida</i> 5 К	10^9	5	5	5	5	5	5	5	5	0%
		10^7	5	5	5	5	5	5	5	5	0%
		10^5	5	5	5	5	5	5	5	5	0%
		10^3	5	5	5	5	5	5	5	5	0%
		10^1	5	5	5	5	5	5	5	5	0%
	<i>Pseudomonas psychrophila</i> 2 К	10^9	5	5	5	5	5	5	5	5	0%
		10^7	5	5	5	5	5	5	5	5	0%
		10^5	5	5	5	5	5	5	5	5	0%
		10^3	5	5	5	5	5	5	5	5	0%
		10^1	5	5	5	5	5	5	5	5	0%
	Контроль		5	5	5	5	5	5	5	5	0%

В результате эксперимента выявлено, что у штаммов из б. Золотой Рог *Pseudomonas putida* 2 ЗР $LD_{50} = 6,3 \times 10^8 \pm 0,55$ КОЕ/мл, а у штамма *Pseudomonas fluorescence* 6 ЗР $LD_{50} = 6,3 \times 10^7 \pm 0,53$ КОЕ/мл. Штаммы, выделенные из б. Киевка были авирулентны.

5.2.3 Определение антибиотикочувствительности бактерий рода *Pseudomonas*, выделенных из акваторий с разной антропогенной нагрузкой

При исследовании антибиотикочувствительности бактерий оказалось, что наибольшее подавление роста бактериальных клеток отмечено при использовании ципрофлоксацина и цефоперазона как в б. Золотой Рог так и в б. Киевка.

60 % (6 штаммов) бактерий из б. Золотого Рога показали устойчивость ко всем антибиотикам, взятым в работу, при этом 20 % (2 штамма) бактерий были устойчивы к 5 и более из 7 антибиотикам (табл. 7). По литературным данным известно, что в районах активно используемых в хозяйственной деятельности и принимающих наибольшее количество загрязняющих веществ, появляются устойчивые формы микроорганизмов к антибактериальным веществам за счет накопления и распространения плазмид, несущих гены устойчивости к антибиотикам и тяжелым металлам, которые могут передаваться от одних бактерий другим (Burton et al., 1982; Tenover, 2006).

Среди бактерий, выделенных из б. Киевка, только 22,2% (2 штамма) проявляли устойчивость ко всем используемым антибиотикам, большая же часть были чувствительны практически ко всем антимикробным препаратам (табл. 7).

Таблица 7 – Антибиотикочувствительность бактерий рода *Pseudomonas*, выделенных из акваторий с разной антропогенной нагрузкой

Штм.	карбеницилин	тетрациклин	ампициллин	цефотаксим	ципрофлоксацин	цефтозидим	цефоперазон
Б. Киевка							
<i>Ps. putida</i> 1К	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps. psychrophila</i> 2К	–	–	+	–	–	+	–
<i>Ps. putida</i> 3К	–	–	+	–	–	–	–
<i>Ps. putida</i> 4К	–	–	+	–	–	–	–
<i>Ps. putida</i> 5К	–	–	+	–	–	–	–
<i>Ps. panacis</i> 6К	–	–	–	–	–	–	–
<i>Ps. stutzeri</i> 7К	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps. azotoformans</i> 8К	–	–	+	–	–	–	–
<i>Ps. psychrophila</i> 9К	–	–	–	–	–	–	–

Б. Золотой Рог							
<i>Ps. psychrophila</i> 13P	–	–	–	–	–	–	–
<i>Ps. putida</i> 2 3P	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps. putida</i> 3 3P	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps. fluorescence</i> 4 3P	+	–	+	–	–	–	–
<i>Ps. azotoformans</i> 5 3P	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps. fluorescence</i> 6 3P	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps. fluorescence</i> 7 3P	+	+	+	+	–	+	–
<i>Ps. fluorescence</i> 8 3P	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps. Fluorescence</i> 9 3P	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ps. fluorescence</i> 10 3P	+	+	+	+	+	–	–

Примечание: + устойчивы, – чувствительны

В природе антибиотики синтезируются некоторыми микроорганизмами и служат естественным средством межвидовой борьбы у них и бактерии могут приобретать устойчивость к их действию, следовательно, не большой процент штаммов устойчивых к антимикробным препаратам в условно чистых акваториях вполне объясним (Абдуллин и др., 1997).

Кроме того, согласно данным литературы, в водах б. Золотой Рог высока численность бактерий, устойчивых к тяжелым металлам (Безвербная и др., 2005), а металлоустойчивость у бактерий часто связана с антибиотикорезистентностью, что может быть обусловлено присутствием в бактериальной клетке одних и тех же плазмид, где локализованы соответствующие гены (Alonso et al, 2001).

Очевидно, что постоянное длительное биологическое загрязнение микроорганизмами, которые поступают в б. Золотой Рог и б. Находка различными стоками, может быть причиной приобретения сапротрофными бактериями тех или иных факторов патогенности. В основе этих процессов лежат закономерности функционирования генов патогенности, мутации, а также перенос генов между микроорганизмами одного или разных видов. Учитывая, что гены, ответственные за патогенные свойства, часто собраны в островки патогенности (Juhas et al., 2009) или локализованы в плазмидах (Top et al., 2000), можно предположить, что они могут мигрировать в клетки сапротрофных бактерий. Кроме того, не исключена возможность влияния поллютантов (нефтеуглеводородов, фенолов, тяжелых

металлов) как стрессовых факторов, являющихся причиной не только фенотипической модификационной изменчивости, но и генетических изменений (Цыбань и др., 2000; Иванов, Егоров, 2007).

Таким образом, бактерии под влиянием антропогенного загрязнения способны изменять свои биологические свойства в сторону повышения патогенного потенциала. Загрязнение морской среды приводит к проявлению и появлению агрессивных свойств у бактерий, в качестве ответной реакции на воздействие стрессового фактора. Полученные результаты имеют как общебиологическое, так и важное эколого-эпидемиологическое значение.

ВЫВОДЫ

1. Из прибрежных вод Приморского края было выделено и таксономически охарактеризовано 259 штаммов бактерий, из них 78 штаммов – из б. Золотой Рог, 99 штаммов – б. Находка, 41 штамм – зал. Восток и 41 штамм – б. Киевка.

2. Таксономическое разнообразие и частота выделения культивируемых бактерий из акваторий с хроническим антропогенным загрязнением оказались выше, чем в фоновых районах, за счет патогенной и условно-патогенной микробиоты. Кластерный анализ выявил наибольшее сходство бактериальных сообществ между б. Золотой Рог и б. Находка, а также б. Киевка и зал. Восток.

3. Впервые показано, что антропогенная нагрузка не влияет на частоту выявления у культивируемых бактерий амилолитической и протеолитической активностей. Частота выявления липаз у бактерий, выделенных из загрязненных акваторий, была выше (до 80%), чем из фоновых (до 19%), что указывает на значительное влияние техногенного загрязнения морской среды на изменение биологических свойств бактерий. Значения ДГА у бактерий из б. Золотой Рог и б. Находка были также достоверно выше, чем у бактерий из б. Киевка и зал. Восток.

4. Установлено, что доля штаммов бактерий, проявивших способность к разложению хитина, хитозана, ХГК, фукоидана, альгинат натрия и клетчатки в б. Находка и б. Золотой Рог была существенно меньше, чем в б. Киевка и зал. Восток. Для бактерий, выделенных из загрязненных акваторий, отмечалось замедление роста на питательных средах со специфическими субстратами и более низкие количественные значения хитиназной активности по сравнению с бактериями из условно чистых районов.

5. Доказано, что штаммы бактерий из акваторий с хроническим антропогенным загрязнением, чаще проявляли высокую адгезивность и обладали плазмокоагуляционной, гиалуронидазной и гемолитической активностями, чем штаммы из условно чистых районов.

6. Впервые показано, что вирулентностью и устойчивостью к широкому спектру антимикробных соединений обладали штаммы бактерий рода *Pseudomonas* только из акватории с существенной антропогенной нагрузкой.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

MEM – minimal essential medium

LD₅₀ – летальная доза; показатель опасности ядовитых и токсичных веществ, средняя доза токсичного вещества, вызывающая гибель 50% членов испытываемой группы

ТЕ-буфер – буферный раствор с добавлением трис(гидроксиметил)аминометана и этилендиаминтетрауксусной кислоты

U-критерий – Критерий Манна-Уитни

АГВ – агаровая среда Гивенталья-Ведьминой; среда, предназначенная для определения чувствительности к антибиотикам микроорганизмов

АПАВ – анионные поверхностно-активные вещества

БГКП – бактерии группы кишечной палочки

БПК₅ – биохимическое потребление кислорода (за 5 суток)

ДГА – дегидрогеназная активность

ИАМ – индекс адгезивности микроорганизма; показатель среднего количества адгезированных бактериальных клеток на одном эритроците

ИЗВ – индекс загрязнённости вод

К – коэффициент участия клеток в адгезивном процессе; % эритроцитов, на поверхности которых есть адгезированные бактерии.

МПА – мясо-пептонный агар

МУК – методические указания

НУ – нефтеуглеводороды

ОВ – органическое вещество

ПАВ – поверхностно-активные вещества

ПАУ – полициклические ароматические углеводороды

ПДК – предельно допустимая концентрация

СММ – среда для морских микроорганизмов

СПА – средний показатель адгезии; среднее количество бактериальных клеток, прикрепившихся к одному эритроциту, из ста просмотренных на предметном стекле

ТТХ – трифенилтетразолийхлорид

ТФФ – трифенилформаза

ХГК – хитин-глюкановый комплекс

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуллин, И.М. Антибиотики в клинической практике / И.М. Абдуллин, Д.К. Баширова, А.А. Визель. – Казань: ГП ВЭО «Самалат», 1997. – 234 с.
2. Алексеев, В.В. Система оценки качества водных объектов по комплексу гидробиологических показателей на геоинформационной основе / В.В. Алексеев, Е.Г. Гридина, Н.И. Куракина, А.А. Минина // Труды международного симпозиума – Пенза: изд-во Пенз. гос. ун-та, 2006. – 8 с.
3. Антропогенное перераспределение органического вещества в биосфере. – СПб: Наука, 1993. – 206 с.
4. Ахтариева, А.А. Гемолитическая активность бактерий рода *Enterobacter* / А.А. Ахтариева, Т.А. Савченко, Р.З. Салыхов, А.А. Камалова // Успехи современного естествознания. – 2003. – № 8. – С. 72–73.
5. Багаева, Т.В. Микробиологическая ремедиация природных систем от тяжелых металлов: учеб.-метод. пособие / Т.В. Багаева, Н.Э. Ионова, Г.В. Надеева. – Казань: Казанский университет, 2013. – 56 с.
6. Бакулин, М.К. Микробиология. Методические указания к лабораторным работам и учебной практики / М.К. Бакулин, А.А. Лещенко, Е.В. Чеботарев. – Киев, 2005. – 200 с.
7. Баснакьян, И.А., Мельникова, В.А. Стрессорные белки у бактерий / И.А. Баснакьян, В.А. Мельникова // Микробиология. – 1996. – № 6. – С. 99–103.
8. Баснакьян, И.А. Стресс у бактерий / И.А. Баснакьян. – М.: Медицина, 2003. – 136 с.
9. Барышева, В.С. Загрязнение морской среды залива Восток Японского моря органическими веществами (2016–2018 гг.) / В.С. Барышева, Е.Н. Чернова, О.В. Патрушева. – 2019.- Вестник ДВО РАН. - № 2. – С.87-94
10. 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.

11. Безбородов, А.М. Микробиологический синтез / А.М. Безбородов, Г.И. Квеситадзе.– СПб: Проспект Науки, 2011. – 144 с.
12. Беседнов, А.Л. Термостабильный токсин *Y. pseudotuberculosis* и разработка на его основе видоспецифических диагностических препаратов: автореф. дис. канд. биол. наук / А.Л. Беседнов. – Владивосток, 1993. – 18 с.
13. Беленева, И.А. Сравнительное изучение структуры микробных сообществ мидии *Mytilus trossulus* из культивируемой и природной популяции залива Петра Великого / И.А. Беленева, Н.В. Жукова, Э.Ф. Масленникова // Микробиология. – 2003. – № 4. – С. 528 – 534.
14. Беленева, И.А. Таксономический состав микрофлоры, ассоциированной с культивируемыми моллюсками *Crassostrea lugubris* и *Perna viridis* и с водой в лагуне залива Нячанг, Вьетнам / И.А. Беленева, Н.В. Жукова, Х.Ле Лан, Д.Х. Нгуен Тран // Микробиология. – 2007. – № 2. – С. 253–262.
15. Богатыренко, Е.А., Бузолева, Л.С. Характеристика бактериального сообщества кишечника дальневосточного трепанга *Apostichopus japonicus* / Е.А. Богатыренко, Л.С. Бузолева // Микробиология. – 2016. – Т. 85, № 1. – С. 92–99.
16. Бойченко, Т.В. Опыт применения методов микробной индикации в оценке качества среды хронически загрязненных морских акваторий / Т.В. Бойченко // Вестник Северо–восточного федерального университета им. М.К. Аммосова.– 2019. – № 2 (70). – С. 5–13.
17. Бриллис, В.И. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов / В.И. Бриллис, Т.А. Брилене, Х.П. Ленцнер, А. А. Ленцнер // Журн. Лабораторное дело. – 1986. – № 4. – С. 210–212.
18. Брукс, Р.В. Загрязнение микроэлементами / Р.В. Брукс // Химия окружающей среды. – М.: Химия, 1982. – С. 371–413.
19. Бузолева, Л.С. Газотрофия патогенных бактерий / Л.С. Бузолева, А.Д. Чумак, М.Ф. Дзадзиева и др. // Журн. микробиол. – 1997. – № 5. – С. 63–67.
20. Бузолева, Л.С. Адаптация патогенных бактерий к абиотическим факторам окружающей среды: автореф. дис. ... д-ра. биол. наук / Л.С. Бузолева. – Владивосток, 2001. – 48 с.

21. Бузолева, Л.С. Биологические свойства морских нефтеуглеводородокисляющих 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.
22. Бузолева, Л.С. Микробиологическая оценка прибрежных вод. Учебно-полевая практика: учебное пособие / Л.С. Бузолева. – Владивосток: изд. Тинро-центр, 2012а. – 72 с.
23. Бузолева, Л.С. Исследование микроорганизмов, поступающих в порт Владивостока с балластными водами судов / Л.С. Бузолева, А.В. Летягина, А.Ю. Звягинцев, И.А. Кашин // Российский Журнал Биологических Инвазий. – 2012б. – №1. – С. 19–27.
24. Бузолева, Л.С., Кривошеева, А.М. Влияние тяжёлых металлов на размножение патогенных бактерий / Л.С. Бузолева, А.М. Кривошеева // Успехи современного естествознания. – 2013. – № 7. – С. 30–33.
25. Бузолева, Л.С. Влияние тяжелых металлов на факторы патогенности у возбудителей сапрозоонозов / Л.С. Бузолева, Е.А. Богатыренко, А.В. Ким // Научный Журнал "Фундаментальные исследования". – № 10, часть 14. – 2014а. – С. 3076–3079.
26. Бузолева, Л.С. Биохимические адаптации возбудителей сапрозоонозов к факторам окружающей среды / Л.С. Бузолева, А.М. Кривошеева, Е.А. Богатыренко, М.А. Синельникова // Современные проблемы науки и образования. – 2014б. – № 6. – С. 1375–1375.
27. 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. Бухарин, О.В. Механизмы выживания бактерий / О.В. Бухарин, А.Л. Гинцбург, Ю.М. Романова, Г.И. Эль-Регистан. – М.: Медицина, 2005. – 367 с.
29. Быкова, В.М., Немцов, В.С. Сырьевые источники и способы получения хитина и хитозана: Хитин, его строение и свойства / В. М. Быкова, В.С.

Немцов // Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. – М.: Наука. – 2002. – С. 7–23.

30. Валова, В.Д. Основы экологии: Учебное пособие. 2-е изд. / В.Д. Валова. – М.: Издательский Дом «Дашков и КО», 2001. – 212 с.

31. Ващенко, М.А. Загрязнение залива Петра Великого Японского моря и его биологические последствия / М.А. Ващенко // Биол. Моря. – 2000. – Т. 26, № 3. – С. 149–159.

32. Васильев, Д.А. Биоиндикация бактерий *Bacillus thuringiensis* в объектах санитарного надзора / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Н.А. Феоктистова, М.А. Лыдина, А.И. Калдыркаев, В.А. Макеев, И.Г. Швиденко / Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2013. – № 3 (23). – С. 52–56.

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

34. Вольпе, И.К., Кучеренко, В.Д. Практическое руководство по санитарной микробиологии / И.К. Вольпе, В.Д. Кучеренко. – М.: Изд-во МГУ, 1970. – 148 с.

35. Воробьев, А.А., Лыкова, Е.А. Бактерии нормальной микрофлоры: биологические свойства и защитные функции / А.А. Воробьев, Е.А. Лыкова // Микробиология. – 1999. – № 6. – С. 102–105.

36. Воробьев, Н.И. Методические рекомендации по использованию графанализа в исследованиях систем, состоящих из биотических и абиотических компонентов/ Н.И. Воробьев, О.В. Свиридова, Р.С. Кутузова. – СПб.: ГНУ ВНИИСХМ, 2006.– 58 с.

37. Ворошилова, А.А., Дианова, Е.В. Окисляющие нефть бактерии – показатели интенсивности биологического окисления нефти в природных условиях / А.А. Ворошилова, Е.В. Дианова // Микробиология. – 1952. – Т. 21, № 4. – С. 408–415.

38. Гаврилевский, А.В., Гаврилова, Т.А. Комплексная количественная оценка параметров источников загрязнения морской акватории, прилегающей к городу Владивостоку / А.В. Гаврилевский, Т.А. Гаврилова // Гидрометеорологические процессы на шельфе: оценка воздействия на морскую среду. ДВНИГМИ. – Владивосток: Дальнаука. – 1998. – С.102–103.

39. Габидуллин, З.Г. Факторы патогенности бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, обеспечивающие выживание в организме хозяина / З.Г. Габидуллин, А.А. Ахтариева, М.М. Туйгунов, Р.С. Суфияров, В.Г. Туйгунова, Р.Р. Суфияров, Ю.З. Габидуллин, В.М. Изикаев, Г.А. Идиатуллина // Медицинский вестник Башкортостана.– 2009.– Т.4, № 5.– С. 86–95.

40. Галышева, Ю.А., Коженкова, С.И. Морские водоросли и беспозвоночные бухты Киевка: учебное пособие по летней полевой практике студентов/ Ю.А. Галышева, С.И. Коженкова. – Владивосток: Из-во Дальневосточного университета, 2006. – 160 с.

41. Галышева, Ю.А., Христофорова, Н.К. Среда и макробентос залива Восток Японского моря в условиях рекреационного воздействия / Ю.А. Галышева, Н.К. Христофорова // Известия ТИНРО. – 2007. – Т. 149. – С. 270–309.

42. Галышева, Ю.А. Некоторые экологические параметры водной среды и донных отложений бухты Киевка Японского моря / Ю.А. Галышева, Н.К. Христофорова, Е.П. Чернова, Р.П. Гришан, А.Р. Семянн // Известия ТИНРО. – 2008. – Т. 154. – С. 114–124.

43. Галышева, Ю.А. Биологические последствия органического загрязнения прибрежных морских экосистем российской части Японского моря / Ю.А. Галышева // Известия ТИНРО. – 2009. – Т. 158. – С. 209–227.

44. Герхард, Ф. Методы общей бактериологии: Пер. с англ. / Под ред. Ф. Герхардта и др. – М.: Мир, 1983. – 264 с.

45. Голозубова, Ю.С. Загрязнение прибрежных морских вод приморского края бактериями семейства *Enterobacteriaceae* / Ю.С. Голозубова, Л.С. Бузолева, А.И. Еськова, А.В. Ким // Современное состояние естественных и технических наук. – 2015. – № 19. – С. 34–35.

46. Голозубова, Ю.С. Биопленкообразующие свойства *Escherihia coli* в ассоциации с морскими сапрофитами / Ю.С. Голозубова, Л.С. Бузолева, А.И. Еськова, А.В. Ким, Богатыренко Е.А. // Материалы региональной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых учёных по естественным наукам. – 2017а. – С. 379–380.
47. Голозубова, Ю.С. Биопленкообразующие свойства бактерий семейства Enterobacteriaceae, выделенных из морской среды / Ю.С. Голозубова, Л.С. Бузолева, А.В. Ким, А.И. Еськова, Е.А. Богатыренко // Современные проблемы науки и образования. – 2017б. – № 4. – С. 170.
48. ГОСТ 31942–12. Вода. Отбор проб для микробиологического анализа. М.: Стандартинформ.– 2013.– 23 с.
49. ГОСТР 55293–2012. Ферментные препараты для пищевой промышленности. Метод определения целлюлазной активности – М.: Стандартинформ, 2012 – 10 с.
50. Готтшалк Г. Метаболизм бактерий / Г. Готтшалк.– М.: Мир, 1982. – 310 с.
51. Григорьев, П.Я., Яковенко, Э.П. Нарушение нормального состава кишечной микрофлоры, клиническое значение и вопросы терапии / П.Я. Григорьев, Э.П. Яковенко. – М.: Федеральный гастроэнтерологический центр при Министерстве Здравоохранения РФ, 2000. – 16 с.
52. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико–биологических исследованиях/ Е.В. Гублер, А.А. Генкин.– Л.: Медицина, 1973.– 140 с.
53. Денисова, Л.Я. Биоразнообразие водных бактерий на различных глубинах Южной котловины озера Байкал, выявленное по последовательностям 16S рРНК / Л.Я. Денисова, Н.Л. Белькова, И.И. Тулохонов, Е.Ф. Зайчиков // Микробиология. – 1999. – Т.68, № 4. – С. 475–483.
54. Динамика экосистем Берингова и Чукотского морей / Под. ред. Ю.А. Израэль, А.В. Цыбань, Дж. Гребмайер и др. – М.: Наука, 2000. – 357 с.

55. Дмитриева, Г.Ю. Детоксикация фенола микроорганизмами прибрежной зоны моря / Г.Ю. Дмитриева, Н.К. Христофорова, О.А. Дроздовская, Е.Е. Тювелева, С.М. Димитриев, Л.С. Шевченко // Микробиология. – 1999а. – Т. 68., № 1. – С. 107–113.

56. Дмитриева, Г.Ю. Планктонные и эпифитные микроорганизмы: индикация и стабилизация состояния прибрежных морских экосистем: дисс...док. биол. наук / Г.Ю. Дмитриева. – Владивосток, 1999б. – 408 с.

57. Доклад об экологической ситуации в Приморском крае в 2016 году. Доклад подготовлен во исполнение поручения Президента Российской Федерации от 06 декабря 2010 года №Пр–3534 по реализации Послания Президента Российской Федерации Федеральному Собранию Российской Федерации от 30 ноября 2010 года. – 2017. – 262 с.

58. Доклад об экологической ситуации в Приморском крае в 2019 году. Доклад подготовлен во исполнение поручения Президента Российской Федерации от 06 декабря 2010 года №Пр–3534 по реализации Послания Президента Российской Федерации Федеральному Собранию Российской Федерации от 30 ноября 2010 года. – 2019. – 269 с.

59. Дроздовская, О.А. Поиск микроорганизмов – индикаторов и деструкторов фенолов в прибрежных водах дальневосточных морей: дис.... канд. биол. наук / О.А. Дроздовская. – Владивосток, 2000. – 112 с.

60. Дулепова, Е.П. Современный статус биоты дальневосточных морей // Е.П. Дулепова, А.Ф. Волков, В.И. Чучукало и др./ Изв. ТИНРО. – 2004. – Т. 137. – С. 16–27.

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

62. Емцев, В.Т., Мишустин, Е.Н. Микробиология: учебник для вузов – 5-е изд. / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 445 с.

63. 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.

64. Еськова, А.И. Образование биопленок морскими микроорганизмами рода *Pseudomonas* и рода *Chryseobacterium* (ранее *Flavobacterium*) с *Listeria monocytogenes* / А.И. Еськова, Л.С. Бузолева, А.Л. Пономарева, Е.А. Богатыренко, Т.И. Дункай // Тезисы XII молодежной школа-конференции с международным участием «Актуальные аспекты современной микробиологии». – 2017а. – С. 37–40.

65. Еськова, А.И. Роль гидробионтов и бактериальных биопленок в выживаемости возбудителей сапрозоонозов в морских экосистемах (обзор литературы) / А.И. Еськова, Л.С. Бузолева, А.М. Кривошеева // Экология человека. – 2017б. – № 10. – С. 3–8.

66. Жариков, В.В. Комплексная оценка влияния дампинга на экологическое состояние залива находка (Залив Петра Великого, Японское море) / В.В. Жариков // Технические проблемы освоения Мирового Океана. – 2013. – Т.5. – С. 344–348.

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

68. Заварзин, Г.А., Колотилова Н.Н. Введение в природоведческую микробиологию / Г.А. Заварзин, Н.Н. Колотилова. – М.: Издательский Дом Университет, 2001. – 256 с.

69. Зайнитдинова, Л.И. Влияние пестицидов на микробиоценозы и ферментативную активность сероземов // Л.И. Зайнитдинова, Д.И.У. Косимов, Ж.Ж. Ташпулатов, С.И. Куканова / *Universum: химия и биология*. – 2019. – №11–1 (65). – С. 22–26.

70. Зуенко Ю.И., Рачков В.И. Основные черты гидрологического и гидрохимического режима вод бухты Киевка (Японское море) // Изв. ТИНРО. 2003. – Т. 133. – С. 303-312.

71. Иванов, Д.В., Егоров, А.М. Распространение и механизмы резистентности микроорганизмов штаммов бактерий / Д. В. Иванов, А. М. Егоров // Фарматека. – 2007. – № 8/9. – С. 159–168.
72. Израэль, Ю.А., Цыбань, А.В. Проблема мониторинга экологических последствий загрязнения океана / Ю.А. Израэль, А.В. Цыбань. – Л.: Гидрометиздат, 1981. – 50 с.
73. Израэль Ю.А., Цыбань А.В. Антропогенная экология океана.– Л.: Гидрометеиздат, 1989.– 528 с.
74. Калина, Г.П. Род *Pseudomonas aeruginosa* новые аспекты старой проблемы / Г. П. Калина // ЖМЭИ. – 1985. – № 5. – С. 91– 98.
75. Калитина, Е.Г. Влияние органического загрязнения на структуру и состояние микробных сообществ поверхностных вод бухты Золотой Рог: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Е.Г. Калитина. – Владивосток, 2006. – 191 с.
76. Калитина, Е.Г. Динамика численности гидролитически-активной микрофлоры в условиях комплексного загрязнения бухты Золотой Рог / Е.Г. Калитина, И.П. Безвербная, Л.С. Бузолева // Журнал «Исследовано в России», 2006. – № 7. – С. 56–66.
77. Качество морских вод по гидрохимическим показателям. Ежегодник 2015. — под ред. Коршенко А.Н.– Москва, «Наука», 2016. – 184 с.
78. Кашнер, Д. Жизнь микробов в экстремальных условиях. Пер. с англ. / Д. Кашнер. – М.: Мир, 1981. – 511 с.
79. Клесов, А.А. Ферментативный гидролиз целлюлозы. Влияние физико-химических и структурных факторов субстрата на эффективность ферментативного гидролиза / А.А. Клесов, А.П. Синицин // Биоорганическая химия. - 1981. - Т.7, №12. - С. 1801-1812.
80. Кобелева, Й.В. оценка влияния перспективного реагента VTA ВЮКАТ Р 500 на эффективность процесса биологической очистки сточных вод / Й.В. Кобелева, К.В. Шерстнева, Т.В. Кирилина, А.С. Сироткин, А. Буттингер, В. Лейнвебер // Вода: химия и экология.– 2014. – № 10 (76). – С. 95–100.

81. Кондратьева, Л.М. Морские бактерии и первичное почвообразование на вулканопластах / Л.М. Кондратьева. – Владивосток: Дальнаука, 1996. – 118 с.
82. Кондакова, Г.В. Санитарная микробиология: Текст лекций/ Г.В. Кондакова.– Ярославль: ЯрГУ, 2005.– 84 с.
83. Кондакова, Г.В. Биоиндикация. Микробиологические показатели. Учебное пособие/ Г.В. Кондакова. – Ярославль: ЯрГУ, 2007. – 136 с.
84. Киреева, Н.А. Влияние нефти и нефтепродуктов на активность липазы серой лесной почвы / Н.А. Киреева, Е.М. Тарасенко, А.А. Шамаева, Е.И. Новосёлова // Почвоведение. 2006. – № 8. – С. 1005–1011.
85. Куяров, А.В., Сайгушева, Л.А. Общая микробиология и иммунология: метод. указания / А.В. Куяров, Л.А. Сайгушева. – Сургут. гос. ун-т ХМАО – Югры. – Сургут: ИЦ СурГУ, 2012. – 77 с.
86. Лабинская, А.С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований: Учеб. пособие / А.С. Лабинская, Л.П. Блиникова, А.С. Ещина.– М.: Медицина, 2004. – 576 с.
87. Лабинская, А.С. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований: Учебное пособие / А.С. Лабинская, Л.П. Блиникова, А.С. Ещина и др. – М.: Медицина, 2005. – 600 с.
88. Логинова, Е.В. Гидроэкология: курс лекций. / Е.В. Логинова, П.С. Лопух.– Минск: БГУ, 2011. – 300 с.
89. Лукьянова, О.Н. Прикладная экология. Антропогенное воздействие на природные водные экосистемы: морская экотоксикология: учебное пособие / О.Н. Лукьянова – Владивосток: Изд-во Тихоокеанского экономического ун-та, 2010. – 130 с.
90. Лысак, В.В. Микробиология: учеб. Пособие для студентов биологических специальностей / В.В. Лысак. – Мн.: БГУ, 2005. – 261 с.
91. Малахов, В.М. Тепловое загрязнение окружающей среды промышленными предприятиями / В.М. Малахов, В.Н. Сенич // Аналитический обзор: серия «Экология». – 1996. – № 44. – С. 3– 69.

92. Малыгина, В.Ю., Кацев, А.М. Светящиеся бактерии Черного и Азовского морей / В.Ю. Малыгина, А.М. Кацев // Экология моря. – 2003. – Т. 64. – С. 18–23.
93. Щиробоков, В.П. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / В.П. Щиробоков – М.: «Новая книга». – 2015. – 896 с.
94. Меньшикова, Е.А. Гемолитическая активность токсигенных и нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* eltor и *V. cholerae* O139 серогруппы / Е.А. Меньшикова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2004. – № 5. – С. 106–108.
95. Методические рекомендации по определению дегидрогеназной активности при технологическом контроле за работой аэротенков. – Министерство жилищно-коммунального хозяйства РСФСР Ордена Трудового Красного знамени, Академия коммунального хозяйства им. К.Д. Памфилова. – Москва, 1978 – 15 с.
96. Мишустина, И.Е. Морская микробиология / И.Е. Мишустина, И.К. Щеглова, И.Н. Мицкевич. – Владивосток: Издательство Дальневосточного университета. – 1985. – 184 с.
97. Михайлов, В.В. Морские микроорганизмы и их ферменты / В.В. Михайлов, Л.Л. Терентьев, Н.А. Терентьева. – Владивосток: Дальнаука, 2004. – 230 с.
98. Михайлов, В.В. Прокариоты = Prokaryota: [определитель] / В.В. Михайлов; [Рос. акад. наук, Дальневост. отделение, Ин-т биологии моря]. – Владивосток: Дальнаука, Биота российских вод Японского моря; Т. 2, 2004. – 168 с.
99. Могильникова, Т.А. Микроводоросли и гетеротрофные бактерии льда и подледной воды: условия их развития в прибрежных акваториях острова Сахалин / Т.А. Могильникова, А.В. Полтева, Е.М. Латковская, А.В. Леонов, С.А. Покрашенко, В.М. Пищальник // Сборник РЭА №1 «Экологические аспекты освоения нефтегазовых месторождений» – Владивосток: изд-во Дальнаука, 2009. – С. 129–145.

100. Моисеев, П.А. Биологические ресурсы мирового океана / П.А. Моисеев. – М.: Агропромиздат, 1989. – 368 с.
101. Морозов, Н.В., Николаев, В.Н. Влияние условий среды на развитие нефтеокисляющих микроорганизмов / Н.В. Морозов, В.Н. Николаев // Гидробиологический журнал. – 1978. – Т. 14, № 4. – С.55–61.
102. Морозов, Н.В., Жукова, О.В. Бактериальные препараты – деструкторы углеводов, их разработка и использование для биоремедиации водоемов и почв от нефтяных загрязнений / Н.В. Морозов, О.В. Жукова // Глобальные проблемы экологизации в Европейском сообществе. – 2006. – С. 209–210.
103. МУК 4.2. 1890–04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (Официальное издание) / Н.А. Семина, С.В. Сидоренко. – Москва. – 2004. – С. 306–359.
104. Наливайко, Н.Г. Микробиология воды: учебное пособие / Н.Г. Наливайко. – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2006. – 139 с.
105. Намсараев, Б.Б. Экология микроорганизмов экстремальных водных систем: учебное пособие / Б.Б. Намсараев, Е.Ю. Абидуева, Е.В. Лаврентьева и др. – Улан-Удэ: Издательство Бурятского госуниверситета, 2008. – 92 с.
106. Нетрусов, А.И. Практикум по микробиологии: Учеб. Пособие для студентов высш. учеб. заведений / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук и др. – М.: Изд-во «Академия», 2005. – 608 с.
107. Нетрусов, А.И. Экология микроорганизмов: учебник для бакалавров / отв. ред. А. И. Нетрусов. – 2-е изд. – М.: Издательство Юрайт, 2015. – 267 с.
108. Новиков, В.Н. Экология. Урбанизация. Жизнь / В.Н. Новиков. – М.: Издательство Московского государственного технического университета, 2002. – 328 с.
109. Обжиров, А.И. Газогеохимическое районирование и минеральные ассоциации дна Охотского моря. / А.И. Обжиров, Н.В. Астахова, М.В. Липкина и др. // Газогеохимическое районирование и минеральные ассоциации дна Охотского моря. – Владивосток: Дальнаука, 1999. – 184 с.

110. Огородникова, А.А. Эколого-экономическая оценка воздействия береговых источников загрязнения на природную среду и биоресурсы залива Петра Великого / А.А. Огородникова. – Владивосток: ТИПРО–центр, 2001. – 193 с.
111. Океанология. Химия вод океана / Под ред. А.С. Моница. – М.: Наука, 1979. – Т. 1. – С. 133–164.
112. Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж. Хоулт, Н. Криг, П. Смит, в 2х томах: Т. 1, Т. 2. – М.: изд-во Мир, 1980. – 800 с.
113. 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.
114. Перечень рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействий (ОБУВ) вредных веществ для воды, водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: ВНИРО, 1999. – 304 с.
115. Поздеев, О.К. Медицинская микробиология: учебное пособие / Поздеев О.К.: Под ред. В.И. Покровского – 4-е изд., испр. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2010. – 768 с.
116. Правосудова, Н.А., Мельников, В.Л. Основы санитарной микробиологии. Учебно–методическое пособие для студентов медицинских вузов / Н.А. Правосудова, В.Л. Мельников. – Пенза: ИИЦ ПГУ, 2013. – 105 с.
117. Пушкарева, В.И. *Listeria monocytogenes* – взаимодействие с агрокультурами и стадии формирования биопленки / В.И. Пушкарева, Л.В. Диденко, Г.В. Годова // Эпидемиология и вакцинопрактика: Научно-практический журнал. – 2013. – № 1 (68) – С.42– 49.
118. Пяткин, К.Д., Кривошеин, Ю.С. Микробиология / К.Д. Пяткин, Ю.С. Кривошеин. – М.: Медицина, 1980. – 512 с.
119. Романова, Ю.М., Гинцбург, А.Л. Бактериальные биопленки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и организме

хозяина / Ю.М. Романова, А.Л. Гинцбург // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2011. – № 3. – С. 99–109.

120. Романкевич, Е.А., Айбулатов, Н.А. Геохимическое состояние морей России и здоровье человека / Е.А. Романкевич, Н.А. Айбулатов // Вестник отделения наук о земле РАН. – 2005. – № 1 (75). – С. 22–31.

121. Рощина, Е.К., Петров, Л.Н. Выделение белка во внеклеточное пространство как неспецифическая реакция *Escherichia coli* на стресс / Е.К. Рощина, Л.Н. Петров // Микробиология. – 1997. – Т. 66, № 2. – С. 179–184.

122. Рысакова, К.С. Обнаружение хитиноподобной активности в пищеварительных органах гидробионтов Баренцева моря / К.С. Рысакова, В.Ю. Новиков, В.А. Мухин, С.И. Овчинникова // Вестник Мурманского государственного технического университета. – 2006. – Т. 9, № 5. – С. 785–790.

123. Семенов, А.М. Микроорганизмы на поверхности морских макрофитов в северных морях России и их возможное практическое использование [Текст] / А.М. Семенов, В.Н. Федоренко, Е.В. Семенова // Биосфера. – 2014. – № 1. – С. 60–76.

124. Скрябин, К.Г. Хитин и хитозан: Получение, свойства и применение / К.Г. Скрябин, Г.А. Вихорева, В.П. Варламов. – М.: Наука, 2002. – 368 с.

125. Смирнов, В.В., Каприянова Е.А. Бактерии рода *Pseudomonas* / В.В. Смирнов, Е.А. Киприанова – Киев: Наук. думка, 1990. – 262 с.

126. Смирнова, Т.А. Структурно-функциональная характеристика бактериальных биопленок / Т.А. Смирнова, Л.В. Диденко, Р.Р. Азизбеян, Ю.М. Романова // Ж. Микробиология – 2010. – Т. 79, № 4. – С. 435–446.

127. Скрябин, К.Г. Хитин и хитозан: Получение, свойства и применение / Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. – М.: Наука, 2002. – 360 с.

128. Сомов, Г.П., Бузолева Л.С. Адаптация патогенных бактерий к абиотическим факторам окружающей среды / Г.П. Сомов, Л.С. Бузолева. – Владивосток: ОАО «Примполиграфкомбинат», 2004. – 167 с.

129. Страчунский Л.С., Козлов, С.Н. Современная антимикробная химиотерапия. Руководство для врачей / Л.С. Страчунский, С.Н. Козлов.– Изд–во: Боргес, 2002. – 432 с.

130. Супотницкий, М.В. Механизмы развития резистентности к антибиотикам у бактерий / М.В. Супотницкий // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2011. – № 2 (42). – С. 4–13

131. Сусллова, М.Ю. Распространение и разнообразие спорообразующих бактерий рода *Bacillus* в водных экосистемах: дис... канд. биол. наук: 03.00.16, 03.00.07 / М. Ю. Сусллова. – Рос. акад. наук, Сиб. отд–ние, Лимнол. ин–т. – Улан–Удэ, 2007. – 163 с.

132. Сусллова, М.Ю. Разнообразие культивируемых бактерий, выделенных из водной толщи и донных осадков шельфа Карского моря / М.Ю. Сусллова, И.А. Липко, Е.В. Мамаева, В.В. Парфенова // Микробиология. – 2012. – Т. 81, № 4. – С. 524–531.

133. Тартаковский, И.С. Листерии: роль в инфекционной патологии человека и лабораторная диагностика / И.С. Тартаковский, В.В. Малеев, С.А. Ермолаева. – М.: Медицина для всех, 2002. – Т. 6 – 200 с.

134. Теплинская, Н.Г. Процессы бактериальной продукции и деструкции органического вещества в северных морях/ Н.Г. Теплинская. – Апатиты: КНЦ АН СССР, 1990. – 105 с.

135. Техногенное загрязнение природных вод углеводородами и его экологические последствия / Под ред. В.М. Гольдберг, В.П. Зверев, А.И. Арбузов и др. – М.: Наука, 2001. – 125 с.

136. Тимченко, Н.Ф., Сомов, Г.П. Патогенетическое значение психрофильности *Y. pseudotuberculosis* / Н.Ф. Тимченко, Г.П. Сомов // Журн. Микробиол. – 1986. – № 3. – С 33–38.

137. Тимченко, Н.Ф. Моделирование инициации псевдотуберкулезной инфекции / Н.Ф. Тимченко, В.С. Венедиктов, Т.Н. Павлова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1988. – № 7. – С. 16–20.

138. Тимченко, Н.Ф. Патогенетическое значение психрофильности *Y. pseudotuberculosis*: Автореф. дис...докт. мед. наук / Н.Ф. Тимченко. – Владивосток, 1989. – 39 с.

139. Тихонович, И.А. Штамм бактерий *Salmonella enteritidis* var. *issatschenko* 32/3 в качестве средства для получения биологической приманки против мышевидных грызунов. Патент № RU 2520161 / И.А. Тихонович, С.Д. Денисова, Т.А. Романова, Г.Н. Минина, Е.В. Бологова, В.П. Ермолова.– 2013. – 8 с.

140. Тупин, П.А. Разработка нового метода оценки ферментативной окислительной способности активного ила / П.А. Тупин, Д.Г. Чухчин, Е.В. Новожилов, О.М. Соколов // ИВУЗ «Лесной журнал». – 2010. – № 3. – С. 119–124.

141. Христофорова, Н.К. Содержание детергентов и фенолов в поверхностных водах приустьевой зоны реки Туманной и сопредельных морских водах (залив Петра Великого Японского моря) / Н.К. Христофорова, Е.В. Журавель, И.Г. Недоросткова // Экологическое состояние и биота юго–западной части залива Петра Великого и устья реки Туманной. – Владивосток: Дальнаука, 2001. – Т.2. – С. 27– 40 .

142. Христофорова, Н.К., Соломай, М.С. Химико-экологическая оценка качества прибрежных вод города Владивостока / Н.К. Христофорова, М.С. Соломай // «Исследовано в России». – 2006. – № 147. – С. 1380–1386.

143. Христофорова, Н.К. Современное экологическое состояние залива Петра Великого Японского моря: монография / отв. ред. Н.К. Христофорова. – Владивосток: Издательский дом Дальневост. федерал. Ун-та, 2012. – 440 с.

144. Христофорова, Н.К. Оценка состояния вод залива Восток (залив Петра Великого, Японское море) по гидрохимическим и микробиологическим показателям / Н.К. Христофорова, Е.В. Журавель, О.А. Дроздовская, Т.Н. Токарчук // Изв. Самарского научного центра РАН. – 2012. – Т. 14, № 1 (9). – С. 2325–2329.

145. Христофорова, Н.К. Гидрохимическая и микробиологическая оценка современного состояния прибрежных вод залива Восток // Н.К. Христофорова

Т.В. Бойченко, А.Д. Кобзарь / Материалы международной научнопрактической конференции, посвященной 120-летию со дня образования Дальневосточного федерального университета (ДВФУ) «Морские особо охраняемые природные территории мира». – 2019. – С. 72–75.

146. Цыбань, А.В., Теплинская Н.Г. Эколого-физиологические свойства липолитической и протеолитической микрофлоры в море / А.В. Цыбань, Н.Г. Теплинская // Океанология. – 1982. – Т. 22, № 1. – С. 108– 114.

147. Цыбань, А.В. Индикаторная микрофлора в Балтийском море / А.В. Цыбань, Г.В. Панов, С.П. Барина // Исследование экосистемы Балтийского моря. – Л.: Гидрометеиздат. – 1990. – № 3. – С. 69– 83.

148. Цыбань, А.В. Экологические свойства и динамика гетеротрофных микроорганизмов / А.В. Цыбань, Г.В. Панов, С.П. Барина, И.В. Мошарова, В.А. Кнаб. – М: Наука, 2000. – 375 с.

149. Черников, В.А. Агроэкология. Модуль 15: Экологические основы качества воды и здоровье человека / В.А. Черников, О.А. Соколов, Р.Ф. Байбеков. – Пушино: ОНТИ ПНЦ, 2004. – 151 с.

150. Шлегель, Г. Общая микробиология / Г. Шлегель. – М: Изд-во Мир, 1987. – 567 с.

151. Шеламова, С.А. Индукция биосинтеза липаз микромицетом / С.А. Шеламова, Ю.А. Тырсин // ВЕСТНИК ОГУ. – 2012. – № 1 (137). – С. 172–176.

152. Шмидт, К.Н., Худайгулов, Г.Г. Выделение новых штаммов–деструкторов целлюлозы, их роль в снижении антропогенной нагрузки на экосистему / К.Н. Шмидт, Г.Г. Худайгулов // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». – 2016. – Т.4, №4. – С. 54–63.

153. Шустер, А.Г., Максимова, Н.П. Состав и активность хитинолитического комплекса бактерий рода *Bacillus* / А.Г. Шустер, Н.П. Максимова / Вестник БГУ, Сер. 2. – 2008. – № 2. – С. 69–73.

154. Щука, Т.А., Володкович, Ю.Л. 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.

155. 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.

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

157. Abram, F. Systems-based approaches to unravel multi-species microbial community functioning / F. Abram // Computational and structural biotechnology journal. – 2015. – Vol. 13. – С. 24–32.

158. Altschul, S.F. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs / S.F. Altschul, T.L. Madden, A.A. Schaffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller, D. J. Lipman // Nucleic acids research. – 1997. – Vol. 25, № 17. – Р. 3389–3402.

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

160. 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 // Environ. Monit. Assess. – 2014. – Vol. 186 (3). – Р. 1801–1814.

161. Aounallah, M. A. Enhancement of exochitinase production by *Bacillus licheniformis* AT6 strain and improvement of N-acetylglucosamine production / M.A. Aounallah, I.B. Slimene-Debez, K. Djebali, D. Gharbi, M. Hammami, S. Azaiez, F. Limam, O. Tabbene. // Applied biochemistry and biotechnology. – 2017. – Vol. 181, № 2. – Р. 650–666.

162. Av-Gay, Y. *Streptomyces* contains a 7.0 kDa cold shock like protein / Y. Av-Gay, Y. Aharonowilz, G. Cohen // Nucleic Acids Res. – 1992. – Vol. 20. – Р. 5478.

163. Barcina, I. Role of protozoa in the regulation of enteric bacteria populations in seawater / I. Barcina, J.M. Gonzalez, J. Iriberry et al. // *Mar. Microbiol. Food Webs.* – 1992. – № 5. – P. 179–188.
164. Bale, S.J. *Desulfovibrio profundus* sp. nov., a novel barophilic sulfate-reducing bacterium from deep sediment layers in the Japan Sea / S.J. Bale, K. Goodman, P.A. Rochelle, J.R. Marchesi, J.C. Fry, A.J. Weightman, R.J. Parkes // *Int. J. Syst. Bacterio.* – 1997. – № 47(2). – P. 515-521.
165. Barria, C. Bacterial adaptation to cold / C. Barria, M. Malecki, C.M. Arraiano // *Microbiology.* – 2013. – № 159. – P. 2437–2443.
166. Bassam, A.A. *Quorum sensing* in biofilms: why bacteria behave the way they do / A.A. Bassam, M.F. Pina, J.L. Smith // *Journal of Food Science.* – 2009. – Vol. 74 (1). – P. 24–37.
167. Berger, F. Cold shock and cold acclimation proteins in the psychrotrophic bacterium *Arthrobacter globiformis* SI55 / F. Berger, N. Moreller, F. Menu et al. // *Journal of Bacteriology.* – 1996. – Vol. 178, № 11. – C. 2999–3007.
168. Bharti, A. R. *Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance* / A.R. Bharti, J.E. Nally, J.N. Ricaldi, M.A. Matthias, M.M. Diaz, M.A. Lovett, P.N. Levett, R.H. Gilman, M.R. Willig, E. Gotuzzo, J.M. Vinetz // *The Lancet infectious diseases.* – 2003. – Vol. 3, № 12. – P. 757–771.
169. Brackman, G., Coenye, T. Quorum sensing inhibitors as anti-biofilm agents / G. Brackman, T. Coenye // *Current pharmaceutical design.* – 2015. – Vol.2, №1. – P. 5–11.
170. Bouzat, J.L., M.J. Hoostal, M.J. Evolutionary analysis and lateral gene transfer of two-component regulatory systems associated with heavy-metal tolerance in bacteria / J.L. Bouzat, M.J. Hoostal // *Journal of molecular evolution.* – 2013. – Vol. 76, № 5. – P. 267–279.
171. Burton, N.F. Distribution of bacterial plasmids in clean and polluted sites in South Wales river / N.F. Burton, M.J. Day, A.T. Bull // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1982. – Vol. 44, № 5. – P. 1026–1029.

172. Chaerun, S.K. Bioremediation of coastal areas 5 years after the Nakhodka oil spill in the Sea of Japan: isolation and characterization of hydrocarbon-degrading bacteria / S.K. Chaerun, K. Tazaki, R. Asada, K. Kogure // *Environ. Int.* – 2004. – Vol. 30 (7).– P. 911–922.

173. Cauchie, H–M. Chitin production by arthropods in the hydrosphere / H–M. Cauchie // *Hydrobiologia.* – 2002. – Vol. 470, № 1/3. – P. 63–95.

174. Cavicchioli, R. On the concept of a psychrophile / R. Cavicchioli // *The ISME journal.* – 2016. – Vol. 10. – №. 4. – P. 793–795.

175. Chaturvedi, A.D. Ecotoxic heavy metals transformation by bacteria and fungi in aquatic ecosystem / A.D. Chaturvedi, D. Pal, S. Penta, A. Kumar // *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* – 2015. – Vol. 31, № 10. – P. 1595–1603.

176. Chien, C.C. Characterization of a heavy metal translocating P–type ATPase gene from an environmental heavy metal resistance *Enterobacter* sp. Isolate / C.C. Chien, C.H. Huang, Y.W. Lin // *Applied biochemistry and biotechnology.* – 2013. – Vol. 169, № 6. – P. 1837–1846.

177. Davies, C.M. Survival of fecal microorganisms in marine and freshwater sediments / C.M. Davies, J.A. Long, M. Donald et al. // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1995. – Vol. 61, № 5. – P. 1888–1896.

178. Declaire, M. Determination of endo- and exochitinase activity of *Serratia marcescens* in relations to culture media composition and comparison of their antifungal properties / M. Declaire, W. De Cat, V.H. Tang // *Chitin Enzymology. Proc. of the 2nd Int. Symp. on Chitin Enzymology, May 8–11, 1996, Senigallia (Ancona), Italy.* – 1996. – Vol. 2. – P. 165–169.

179. De Maayer, P. Some like it cold: Understanding the survival strategies of psychrophiles / P. De Maayer, D. Anderson, C. Cary, D.A. Cowan // *EMBO reports.* – 2014. – Vol.15, № 5. – P. 508–517.

180. Doi, H., Osawa, I. Description of *Gelidibacter japonicus* sp. nov., isolated from the Inland Sea (Setonaikai) in Japan// H. Doi, I. Osawa / *Archives of Microbiology.*– 2019.– Vol. 201.– P. 1019–1024.

181. Drury B. Wastewater Treatment Effluent Reduces the Abundance and Diversity of Benthic Bacterial Communities in Urban and Suburban Rivers / B.Drury, E. Rosi-Marshall, J.J. Kellya. – Applied and Environmental Microbiology. – 2013. – Vol.79, № 6. – P. 1897–1905.

182. El Baz, S. Resistance to and accumulation of heavy metals by actinobacteria isolated from abandoned mining areas / S. El Baz, M. Baz, M. Barakate, L. Hassani, A. El Gharmali, B. Imziln // The Scientific World Journal. – 2015. – P. 1–15.

183. Farber, J.M. *Listeria monocytogenes* in fish products / J.M. Farber // Journal of Food Protection. – 1991a. – Vol.54, №12. – P. 922–924.

184. Farber, J.M. *Listeria monocytogenes* / J.M. Farber // J. Assoc. Off. Anal. Chem. – 1991b. – Vol.74. – P. 701–704.

185. Farber, J.M. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen / J.M. Farber, P.I. Peterkin // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 1991b. – Vol. 55, № 3. – P. 476–511.

186. Fisher, R.A. The relation between the number of species and the number of individuals in a random sample of an animal population // R.A. Fisher, A.S. Corbet, and C.B. Williams / J. Anim. Ecol. – 1943. – Vol. 12. – P. 42–58.

187. Galante, J. *Quorum sensing* and biofilms in the pathogen, *Streptococcus pneumoniae* / J. Galante, A.C. Ho, S. Tingey, B.M. Charalambous // Current pharmaceutical design. – 2015. – Vol. 21, № 1. – P. 25–30.

188. Garcia, E. Functional organization of the gene cluster involved in the synthesis of the pneumococcal capsule / E. Garcia, D. Llull, R. Lopez // International Microbiology. – 1999. – Vol. 2, № 3. – P. 169–176.

189. Hugenholtz P. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity / P. Hugenholtz, B. M. Goebel, N. R. Pace // J. Bacteriol. – 1998. – V. – 180. P. – 4765-4774.

190. Hecker, M., Richter, A. Physiological studies to the production of heat shock proteins in *Bacillus subtilis* / M. Hecker, A. Richter // J. Basic Microbiol. – 1987. – Vol. 27, № 5. – P. 253–261.

191. Herbert, S., Michael H. Pathogenicity Islands in Bacterial Pathogenesis / S. Herbert, H. Michael // Clin Microbiol Rev. – 2004. – Vol. 17 (1). – P. 14–56.
192. Holtkamp, A.D. Fucoidans and fucoidanases-focus on techniques for molecular structure elucidation and modification of marine polysaccharides/ A.D. Holtkamp, S. Kelly, R. Ulber, S. Lang // Appl. Microbiol. Biotechnol. – Vol. 82. –2009. – P. 1–11.
193. Javanbakht, V. Mechanisms of heavy metal removal using microorganisms as biosorbent / V. Javanbakht, S.A. Alavi, H. Zilouei // Water Science and Technology. – 2013. – Vol. 69, № 9. – С. 1775–1787.
194. Jordaan, K. An integrated insight into the response of bacterial communities to anthropogenic contaminants in a river: A case study of the Wonderfonteinspruit catchment area, South Africa [Электронный ресурс] / K. Jordaan, A.M. Comeau, D.P. Khasa, C.C. Bezuidenhout // PLoS ONE. – № 14(5). – Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216758>
195. Juhas, M. Genomic islands: tools of bacterial horizontal gene transfer and evolution / M. Juhas, J.R. van der Meer, M. Gaillard, R.M. Harding, D.W. Hood, D.W. Crook // FEMS Microbiol– Vol. 33.– 2009.– P. 376–393.
196. Jung, J. Complete genome sequence of *Bacillus oceanisediminis* 2691, a reservoir of heavy-metalresistance genes / J. Jung, H. Jeong, H.J. Kim, D.W. Lee, S.J. Lee // Marine genomics. – 2016. – Vol. 30. – P. 73–76.
197. Kawamoto, H. Cloning and sequencing analysis of alginate lyase genes from the marine bacterium *Vibrio* sp. O2 / H. Kawamoto, A. Horibe, Y. Miki, T. Kimura, K. Tanaka, T. Nakagawa, M. Kawamukai, H. Matsuda // Marine biotechnology. - 2006. - Vol. 8, №5. - P. 481-490.
198. Koh, H.Y. Proteomic and transcriptomic investigations on cold–responsive properties of the psychrophilic Antarctic bacterium *Psychrobacter* sp. 21119 at subzero temperatures. / H.Y. Koh, H. Park, J.H. Lee, S.J. Han, Y.C. Sohn, S.G. Lee // Environmental microbiology. – 2017. – Vol. 19, № 2. – P. 628–644.

199. Kralova, S. Role of fatty acids in cold adaptation of Antarctic psychrophilic *Flavobacterium* spp. / S. Kralova // Systematic and applied microbiology. – 2017. – Vol. 40, № 6. – C. 329–333.
200. Kusaykin, M.I. Fucoidanases / M.I. Kusaykin, A.S. Silchenko, A.M. Zakharenko, T.N. Zvyagintseva // Glycobiology. – 2016. – Vol. 26, № 1. – P.3–12
201. Lane, D.J. Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses / D.J. Lane, B. Pace, G.J. Olsen, D.A. Stahl, M.L. Sogin, N.R. Pace // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1985. – Vol. 82, № 20. – P. 6955–6959.
202. Levett, P.N. *Leptospirosis* / P.N. Levett // Clin Microbiol Rev. – 2001. – Vol. 14. – P. 296–326.
203. Li, P.S., Tao, H.C. Cell surface engineering of microorganisms towards adsorption of heavy metals / P.S. Li, H.C. Tao // Critical reviews in microbiology. – 2015. – Vol. 41, № 2. – P. 140–149.
204. Lipp, E.K. Assessment and impact of microbial fecal pollution and human enteric pathogens in a coastal community / E.K. Lipp, S.A. Farrah, J.B. Rose // Marine pollution bulletin. – 2001. – Vol. 42, № 4. – P. 286–293.
205. Ly, Th.M.Ch., Muller, H.E. Interactions of *Listeria monocytogenes*, *Listeria seeligeri*, and *Listeria innocua* with protozoans / Th. M. Ch. Ly, H.E. Muller // The Journal of General and Applied Microbiology. – 1990. – Vol. 36, №3. – C. 143–150.
206. Maravic, A. Prevalence and diversity of extended-spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae from marine beach waters / A. Maravic, M. Skocibusic, S. Cvjetan, I. Samanic, Z. Fredotovic, J. Puizina // Marine pollution bulletin. – 2015. – Vol. 90, № 1–2. – P. 60–67.
207. Munro, P.M. Influence of osmoregulation processes on starvation survival of *Escherichia coli* in seawater / P.M. Munro, M.J. Gauthier, V.A. Brettmayer et al. // Appl. Environ. Microbiol. – 1989. – № 55. – P. 2017–2024.
208. Muzzarelli, R.A.A. Chitin. / R.A.A Muzzarelli // Oxford: Pergamon Press, 1977. – 309 p.

209. Nedashkovskaya, O.I. *Flavimarina pacifica* gen. nov., sp. nov., a new marine bacterium of the family Flavobacteriaceae, and emended descriptions of the genus *Leeuwenhoekiella*, *Leeuwenhoekiella aequorea* and *Leeuwenhoekiella marinoflava* // O.I. Nedashkovskaya, A.D. Kukhlevskiy, N.V. Zhukova, S.B. Kim / Antonie Van Leeuwenhoek.– 2014.– Vol. 106 (3).– P. 421–429.

210. Noble, R.T. Comparison of total coliform, and *Enterococcus* bacterial indicator response for ocean recreational water quality testing / R.T. Noble, D.F. Moore, M.K. Leecaster // Water research. – 2003. – Vol. 37, № 7. – P. 1637–1643.

211. Nozhevnikova, A.N. Multi-species biofilms in ecology, medicine, and biotechnology / A.N. Nozhevnikova, E.A. Botchkova, V.K. Plakunov // Microbiology. – 2015. – Vol. 84, № 6. – P. 731–750.

212. Nogi, Y. Taxonomic studies of deep-sea barophilic *Shewanella* strains and description of *Shewanella violacea* sp. nov. / Y. Nogi, C. Kato, K. Horikoshi. – Arch Microbiol. – 1998. – № 170. – P. 331–338.

213. Ray, M.K. Occurrence and expression of *cspA*, a cold shock gene, in Antarctic psychrotrophic bacteria / M.K. Ray, T. Sitaramamma, S. Ghandhi et al. // FEMS microbiology letters. – 1994. – Vol. 116, № 1. – P. 55–60.

214. Romanenko, L.A. *Poseidonocella pacifica* gen. nov., sp. nov. and *Poseidonocella sedimentorum* sp. nov., novel alphaproteobacteria from the shallow sandy sediments of the Sea of Japan / L.A. Romanenko, N. Tanaka, V.I. Svetashev, N.I. Kalinovskaya // Arch. Microbiol. – 2012. – № 194. – P. 113–121.

215. Romanenko L.A. Antimicrobial potential of deep surface sediment associated bacteria from the Sea of Japan // L.A. Romanenko, N. Tanaka, N.I. Kalinovskaya, V.V. Mikhailov / World Journal of Microbiology and Biotechnology.– 2013.– Vol. 29.– P. 1169–1177.

216. Rozen, Y., Belkin, S. Survival of enteric bacteria in seawater / Y. Rozen, S. Belkin // FEMS microbiology reviews. – 2001. – Vol. 25, № 5. – P. 513–529.

217. Scullen, O.J. Effect of temperature, salt and pH on growth inhibition of *Listeria monocytogenes* by sodium polyphosphate / O.J. Scullen, L.L. Zaika // 18th general annual meeting of IAMFES, San Antonio, TX. – 1994. – Vol. 3. – P. 130.

218. Secades, P. Purification and characterization of a psychrophilic, calcium-induced, growth-phase-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.

219. Schirmer, B.C. Use of used vs. fresh cheese brines and the effect of pH and salt concentration on the survival of *Listeria monocytogenes* / B.C. Schirmer, E. Heir, B.A. Lindstedt, T. Moretro, S. Langsrud // Journal of Dairy Research. – 2014. – Vol. 81, № 1. – P. 113–119.

220. Solano, C. Biofilm dispersion and quorum sensing / C. Solano, M. Echeverz, I. Lasa // Current opinion in microbiology. – 2014. – Vol. 18. – P. 96–104.

221. Somkuti, G.A., Steinberg, D.H. Distribution of plasmid-borne stress protein genes in *Streptococcus thermophilus* and other lactic acid bacteria / G.A. Somkuti, D.H. Steinberg // Current microbiology. – 1999. – Vol. 38, № 1. – P. 43–47.

222. Tan E.L.C. Inhibition of SARS coronavirus infection in vitro with clinically approved antiviral drugs / E.L.C. Tan, E.E. Ooi, C.–Y. Lin et al. // Emerg. Inf. Dis. – 2004. – Vol. 10, № 4. – P. 581–586.

223. The Prokariotes. A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, application. Second ed. / Ed. Balows A. et. al. Baltimore: Springer-Verlag, 1992.

224. Top, E.M. Phenotypic traits conferred by plasmids. In: The horizontal gene pool: bacterial plasmids and gene spread ed. by Thomas C.M. / E.M. Top, Y. Moenne-Loccoz, T. Pembroke, C.M. Thomas // Amsterdam: Harwood Academic Publishers. – 2000. – P. 246–285.

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

226. Venosa, A.D. Bioremediation of an experimental oil spill on the shoreline of Delaware Bay / A.D. Venosa, M.T. Suidan, B.A. Wrenn // Environmental science & technology. – 1996. – Vol. 30, № 5. – P. 1764–1775.

227. White, S.J. Influence of pH on bile sensitivity amongst various strains of *Listeria monocytogenes* under aerobic and anaerobic conditions / S.J. White, D. M.

McClung, J. G. Wilson, B. N. Roberts, and J. R. Donaldson // Journal of medical microbiology. – 2015. – Vol. 64, № Pt 11. – P. 1287–1296.

228. Yun, J. Effects of lipid A acyltransferases on the pathogenesis of *F. novicida* / J. Yun, X. Wang, L. Zhang, Y. Li.// Microb Pathog.– 2017. – Vol. 109.– P. 313–318.

229. Zhang, Y. A stress response that monitors and regulates mRNA structure is central to cold shock adaptation / Y. Zhang, D.H. Burkhardt, S. Rouskin, G.W. Li, J.S. Weissman, C.A. Gross // Mol Cell. – 2018. – Vol. 70, № 2. – P. 274–286.

230. Zhu, B. Enzymatic hydrolysis of alginate to produce oligosaccharides by a new purified endo-type alginate lyase / Zhu B.W., Chen M.J., Yin H., Du Y.G., Ning L.M. //Marine drugs. - 2016a. - Vol.14, №6. - P. 108.

231. Zhu, Y. Characterization of an extracellular biofunctional alginate lyase from marine *Microbulbifer* sp. ALW1 and antioxidant activity of enzymatic hydrolysates / Zhu, Y., Wu, L., Chen, Y., Ni, H., Xiao, A., Cai, H. /Microbiological research. - 2016b. - Vol. 182. - P. 49-58.

Приложение 1

Нуклеотидные последовательности из базы данных, наиболее родственные последовательностям, полученным из чистых культур бактерий акваторий Приморского края

Место выделения	Штамм	Длина (п.н.)	Ближайший гомолог, № в NCBI	% сходства	Место выделения
Б. Золотой Рог	<i>Vibrio</i> sp. ЗР с 1 м	860	<i>Vibrio</i> sp. D51-S (LC487878)	98	Морская вода, Индия: побережье Диу
Б. Золотой Рог	<i>Vibrio</i> sp. 23 ЗР	700	<i>Vibrio</i> sp. PL1G11 (MN794189)	98	Морские губки, Бразилия
Б. Золотой Рог	<i>Pseudomonas psychrophila</i> 1 ЗР	985	<i>Pseudomonas psychrophila</i> Den-03 (JQ782901)	99	Активный ил, Китай
Б. Золотой Рог	<i>Pseudomonas fluorescence</i> 6 ЗР	837	<i>Pseudomonas fluorescens</i> hpt006 (KP783502)	99	Корневой узелок <i>Hedysarum pallidum</i> , Тунис
Б. Золотой Рог	<i>Pseudomonas fluorescence</i> 7 ЗР	863	<i>Pseudomonas fluorescens</i> Sample_114 (MK530314)	99	Почва, Паления
Б. Золотой Рог	<i>Pseudomonas fluorescence</i> 8 ЗР	755	<i>Pseudomonas fluorescens</i> Sample_111 (MK530313)	99	Почва, Испания
Б. Золотой Рог	<i>Pseudomonas fluorescence</i> 9 ЗР	674	<i>Pseudomonas fluorescens</i> P1 (KP241944)	99	Ризосферная почва, Пакистан
Б. Золотой Рог	<i>Staphylococcus pasteurii</i> 34 ЗР	790	<i>Staphylococcus pasteurii</i> SR1-60B (LN995460)	98	Ризосфера, Саудовская Аравия
Б. Золотой Рог	<i>Pseudomonas azotoformans</i> 5 ЗР	870	<i>Pseudomonas azotoformans</i> strain EB368 (MH127814)	99	Сосна, Южная Корея
Б. Золотой Рог	<i>Serratia liquefaciens</i> ЗР г 1 м	840	<i>Serratia liquefaciens</i> PF 14 (KY614356)	98	Коллекция, Италия
Б. Золотой Рог	<i>Ewingella americana</i> ЗР г 2 м	650	<i>Ewingella americana</i> CH4 (EU678360)	99	<i>Agaricus bisporus</i> , Южная Корея
Б. Золотой Рог	<i>Enterobacter cloacae</i> 24 ЗР	600	<i>Enterobacter cloacae</i> (LK391629)	98	Почва, Иран
Б. Золотой Рог	<i>Marinococcus</i> sp. Зрп9а	667	<i>Marinococcus</i> sp. MB-09 (KU352769)	98	Морская вода, Индия
Б. Золотой Рог	<i>Pseudomonas putida</i> 3 ЗР	897	<i>Pseudomonas putida</i> НКТ554 (AB543806)	98	Коллекция, Япония
Б. Находка	<i>Agrococcus boldri</i> Нп 15 м	827	<i>Agrococcus baldri</i> Kongs-42 (HF913436)	98	Морская вода, Шпицберген: остров Шпицберген, Конгсфьорден

Продолжение приложения 1

Б. Находка	<i>Bacillus subtilis</i> 18 Н	828	<i>Bacillus subtilis</i> NB1 (HF937219)	99	Ризосфера, Индия
Б. Находка	<i>Marinobacter</i> sp. Нп 4 а	760	<i>Marinobacter</i> sp. М6-53 (LT714149)	98	Соленая вода, Испания
Б. Находка	<i>Bacillus cereus</i> Нг ил 3	987	<i>Bacillus cereus</i> JMG-01 (KP984767)	98	Поча загрязненная НУ, Индия
Б. Находка	<i>Bacillus</i> sp. Нп 2 а	865	<i>Bacillus</i> sp. AB256D (FR821115)	98	<i>Delesseria sanguinea</i> , красные морские водоросли, Германия
Б Находка	<i>Arthrobacter</i> sp. Нс 4 а	885	<i>Arthrobacter</i> sp. SW199 (LR722941)	99	Прибрежные морские поверхностные воды, Испания
Б Находка	<i>Serratia fonticola</i> 27 Н	796	<i>Serratia fonticola</i> UTAD54 (AY236502)	99	Питьевая вода, Португалия
Б Находка	<i>Kocuria rosea</i> Нс 1 м	679	<i>Kocuria rosea</i> D40 (JN192402)	98	Загрязненная почва, Китай
Б Находка	<i>Arthrobacter</i> sp. Нг 2 а	832	<i>Arthrobacter</i> sp. PNP4 (EU876666)	99	Почва нефтяного месторождения, Китай
Зал. Восток	<i>Salinicoccus</i> sp. ВЛс 4 м	865	<i>Salinicoccus</i> sp. strain RP031 (MF716623)	98	Персидский залив, Иран
Зал. Восток	<i>Salinicoccus</i> sp. ВЛс 2 м	543	<i>Salinicoccus</i> sp. strain SP17 (KX885468)	98	Соленая вода, Южная Африка
Зал. Восток	<i>Salinicoccus</i> sp. ВЛс 3 м	865	<i>Salinicoccus</i> sp. H-148 (KF021828)	98	Морская вода, Индия
Зал. Восток	<i>Carnobacterium inhibens</i> ВЛп 4 м	733	<i>Carnobacterium inhibens</i> JCM 16168 (LC258160)	99	Коллекция, Япония
Зал. Восток	<i>Marinococcus</i> sp. ВЛс 4 с	593	<i>Marinococcus</i> sp. SSD53M31 (MW795813)	99	Морская вода, Индия
Зал. Восток	<i>Actinomyces</i> sp. Вп и 2	778	<i>Actinomyces</i> sp. LGM-17 (MF170644)	98	Коллекция, Китай
Зал. Восток	<i>Acinetobacter</i> sp. Вс и 4	676	<i>Acinetobacter</i> sp. 110 (KF306228)	98	Почва, Индия
Зал. Восток	<i>Micrococcus</i> sp. Вс и 5	765	<i>Micrococcus</i> sp. 141BM-2	98	Водоросли, Исландия
Зал. Восток	<i>Micrococcus</i> sp. Вг ил 1	790	<i>Micrococcus</i> sp. strain Z1-9 (MN369531)	99	Почва, Антарктика
Б. Киевка	<i>Pseudomonas putida</i> 1К	876	<i>Pseudomonas putida</i> PFF93 (KP418808)	99	Ризосфера, Индия
Б. Киевка	<i>Pseudomonas psychrophila</i> 2 К	700	<i>Pseudomonas psychrophila</i> IARI-DL14 (KJ475005)	98	Озеро Дашир, Индия
Б. Киевка	<i>Pseudomonas stutzeri</i> 7 К	632	<i>Pseudomonas stutzeri</i> LSMN2 (AJ633559)	99	Донные осадки, Испания
Б. Киевка	<i>Pseudomonas azotoformans</i> 8 К	890	<i>Pseudomonas azotoformans</i> P3 (KJ130485)	99	Стебель <i>Elymus repens</i> L., Польша

Окончание приложения 1

Б. Киевка	<i>Halomonas</i> sp. 4 К	849	<i>Halomonas</i> sp. 7В (LT990050)	99	Микробные маты, Китай, озеро Сумуджилин
Б. Киевка	<i>Pseudomonas</i> <i>panacis</i> 6 К	856	<i>Pseudomonas panacis</i> BHN1 (MT033062)	99	Озерная вода, Малайзия
Б. Киевка	<i>Pseudomonas</i> <i>putida</i> 3 К	689	<i>Pseudomonas putida</i> FPC951 (KJ410658)	99	Почва, Индия
Б. Киевка	<i>Pseudomonas</i> <i>putida</i> 4 К	888	<i>Pseudomonas putida</i> 207 (KF010312)	98	Почва, Иран
Б. Киевка	<i>Pseudomonas</i> <i>putida</i> 5 К	701	<i>Pseudomonas putida</i> AQ (JF751057)	99	Осадки аквакультуры, Китай
Б. Киевка	<i>Pseudomonas</i> <i>psychrophila</i> 9 К	808	<i>Pseudomonas</i> <i>psychrophila</i> JCM 13986 (LC508012)	99	Коллекция, Япония
Б. Киевка	<i>Rhodococcus</i> sp. 1 К	734	<i>Rhodococcus</i> sp. PN2- B08P5-12 (MK638437)	99	Морские донные осадки, Германия

Приложение 2

Таксономическое разнообразие культивируемых гетеротрофных бактерий,
выделенных из акваторий Приморского края с разной антропогенной нагрузкой

Таксон	Количество выделенных штаммов бактерий			
	Б. Золотой Рог	Б. Находка	Б. Киевка	Зал. Восток
Сем. Vibrionaceae				
Род <i>Vibrio</i>	3	8	3	1
Сем. Pseudomonadaceae				
Род <i>Pseudomonas</i>	11	11	10	5
Сем. Micrococcaceae				
Род <i>Micrococcus</i>	9	16	8	8
Род <i>Kocuria</i>	0	1	0	0
Род <i>Arthrobacter</i>	0	3	3	0
Сем. Bacillaceae				
Род <i>Bacillus</i>	10	9	8	5
Род <i>Marinococcus</i>	2	0	0	3
Сем. Flavobacteriaceae				
Род <i>Chryseobacterium</i>	4	14	2	10
Сем. Moraxellaceae				
Род <i>Acinetobacter</i>	3	5	1	1
Сем. Actinomycetaceae				
Род <i>Actinomyces</i>	3	7	2	4
Сем. Clostridiaceae				
Род <i>Sarcina</i>	1	0	0	0
Сем. Listeriaceae				
Род <i>Listeria</i>	2	0	0	0
Сем. Staphylococcaceae				
Род <i>Salinicoccus</i>	0	0	0	3
Род <i>Staphylococcus</i>	2	2	0	0
Сем. Alteromonadaceae				
Род <i>Marinobacter</i>	0	2	0	0
Сем. Enterococcaceae				
Род <i>Enterococcus</i>	1	0	0	0
Сем. Aeromonadaceae				
Род <i>Aeromonas</i>	0	1	0	0
Сем. Microbacteriaceae				
Род <i>Agrococcus</i>	0	1	0	0
Сем. Corynebacteriaceae				
Род <i>Corynebacterium</i>	0	1	0	0
Сем. Halomonadaceae				
Род <i>Halomonas</i>	0	0	2	0
Сем. Acetobacteraceae				
Род <i>Acetobacter</i>	0	0	1	0
Сем. Nocardiaceae				
Род <i>Rhodococcus</i>	0	0	1	0

Окончание приложения 2

Сем. Carnobacteriaceae				
Род <i>Carnobacterium</i>	0	0	0	1
Сем. Enterobacteriaceae				
Род <i>Ewingella</i>	2	1	0	0
Род <i>Hafnia</i>	2	1	0	0
Род <i>Klebsiella</i>	3	3	0	0
Род <i>Yersinia</i>	1	1	0	0
Род <i>Pantoea</i>	3	3	0	0
Род <i>Proteus</i>	1	1	0	0
Род <i>Salmonella</i>	1	0	0	0
Род <i>Serratia</i>	1	1	0	0
Род <i>Enterobacter</i>	1	0	0	0
Род <i>Escherihia</i>	11	7	0	0
Всего:	77	99	41	41

Приложение 3

Дегидрогеназная активность культивируемых бактерий, выделенных из районов с разной антропогенной нагрузкой

Штаммы бактерий	Оптическая плотность, при 454 нм	$D=(X+0,009)/0,044$, мг формазана/ л смеси
Б. НАХОДКА		
<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг 1 с	0,29±0,01	6,79±0,5
<i>Chryseobacterium</i> sp. Нс и 7	0,264±0,022	6,2±0,1
<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп 17 м	0,262±0,013	6,16±0,2
<i>Chryseobacterium</i> sp. Нс 1 м	0,219±0,015	5,18±0,7
<i>Pseudomonas</i> sp. Нг 9 м	0,25±0,011	5,89±0,2
<i>Chryseobacterium</i> sp. Нс ил 1	0,2±0,01	4,75±0,43
<i>Bacillus</i> sp. Нс 2 м	0,192±0,009	4,57±0,32
<i>Bacillus</i> sp. Нг 6 м	0,18±0,007	4,29±0,36
<i>Pseudomonas</i> sp. Нп 5 с	0,179±0,008	4,27±0,2
<i>Vibrio</i> sp Нг ил 6	0,17±0,01	4,07±0,4
<i>Escherichia coli</i> Нп ил 2	0,167±0,011	4±0,5
<i>Chryseobacterium</i> sp. Нн 11 с	0,158±0,015	3,79±0,21
<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг 18 м	0,155±0,01	3,73±0,1
<i>Escherichia coli</i> Нп ил 4	0,15±0,012	3,61±0,15
<i>Pseudomonas</i> sp. Нп 1 м	0,148±0,01	3,57±0,18
<i>Escherichia coli</i> Нг ил 1	0,143±0,014	3,45±0,23
<i>Pseudomonas</i> sp. Нп 1с	0,138±0,01	3,34±0,32
<i>Vibrio</i> sp. Нп 4 м	0,136±0,01	3,29±0,1
<i>Micrococcus</i> sp. Нс 8 м	0,133±0,017	3,23±0,11
<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг ил 7	0,132±0,012	3,20±0,39
<i>Pseudomonas</i> sp. Нп ил 8	0,129±0,011	3,14±0,26
<i>Micrococcus luteus</i> Нн 2 а	0,126±0,01	3,07±0,16
<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп и 5	0,124±0,01	3,02±0,17
<i>Vibrio</i> sp Нс 2 с	0,121±0,011	2,95±0,37
<i>Bacillus</i> sp. Нс ил 8	0,121±0,01	2,95±0,21
<i>Vibrio</i> sp. Нп 6 м	0,119±0,01	2,91±0,35
<i>Micrococcus</i> sp. Нп 3 а	0,118±0,01	2,89±0,37
Б. КИЕВКА		
<i>Pseudomonas putida</i> 1К	0,2±0,011	4,75±0,3
<i>Pseudomonas psychrophila</i> 2 К	0,187±0,017	4,45±0,51
<i>Rhodococcus</i> sp. 1 К	0,125±0,01	3,05±0,32
<i>Chryseobacterium</i> sp. Кс и 20	0,101±0,01	2,5±0,29
<i>Bacillus</i> sp. Кд и 24	0,088±0,01	2,2±0,36
<i>Pseudomonas putida</i> 3 К	0,073±0,01	1,87±0,25
<i>Arthrobacter</i> sp. 26 К	0,112±0,011	2,75±0,3
<i>Pseudomonas putida</i> 4 К	0,112±0,011	2,75±0,34
<i>Bacillus</i> sp. 20 К	0,105±0,01	2,59±0,12
<i>Vibrio</i> sp. 32 К	0,105±0,01	2,59±0,15
<i>Halomonas</i> sp. 10 К	0,104±0,012	2,57±0,17
<i>Acinetobacter</i> sp. 14 К	0,101±0,011	2,5±0,21
<i>Pseudomonas putida</i> 5 К	0,096±0,013	2,387±0,18
<i>Bacillus</i> sp. 7 К	0,094±0,011	2,34±0,22
<i>Bacillus</i> sp. 8 К	0,09±0,01	2,25±0,17
<i>Bacillus</i> sp. 33 К	0,088±0,01	2,20±0,13

Продолжение приложения 3

<i>Pseudomonas panacis</i> 6 К	0,083±0,01	2,1±0,15
<i>Chryseobacterium</i> sp. 2 К	0,081±0,009	2,05±0,11
<i>Bacillus</i> sp. 23 К	0,069±0,007	1,77±0,21
<i>Arthrobacter</i> sp. 21 К	0,064±0,008	1,66±0,1
<i>Micrococcus</i> sp. 28 К	0,062±0,009	1,61±0,14
<i>Pseudomonas stutzeri</i> 7 К	0,05±0,007	1,34±0,17
<i>Micrococcus</i> sp. 30 К.	0,049±0,003	1,32±0,12
<i>Bacillus</i> sp. 36	0,039±0,002	1,09±0,13
<i>Vibrio</i> sp. 15 К	0,02±0,002	0,66±0,05
<i>Actinomyces</i> sp. 19 К	0,02±0,001	0,66±0,02
<i>Micrococcus</i> sp. 12	0,02±0,002	0,66±0,04
Б. ЗОЛОТОЙ РОГ		
<i>Klebsiella</i> sp. 3Р п 5 а	0,345±0,017	8,05±0,9
<i>Bacillus</i> sp. 3Р г 7 м	0,284±0,014	6,66±0,6
<i>Klebsiella</i> sp. 3Р с 1 а	0,251±0,017	5,91±0,32
<i>Pseudomonas psychrophila</i> 1 3Р	0,225±0,02	5,32±0,45
<i>Pantoea</i> sp. 3Р с 9 м	0,221±0,01	5,23±0,24
<i>Salmonella</i> sp. 3Р с 2 с	0,187±0,012	4,45±0,57
<i>Bacillus</i> sp. 3Р с 9 с	0,184±0,01	4,39±0,43
<i>Hafnia</i> sp. 3Р п 5 а	0,186±0,011	4,45±0,55
<i>Bacillus</i> sp. 3Р п 4 а	0,171±0,015	4,09±0,2
<i>Enterobacter</i> sp. 3Р с 8 м	0,168±0,013	4,02±0,1
<i>Kosuria</i> sp. 3Р г 4 м	0,155±0,01	3,72±0,13
<i>Chryseobacterium</i> sp. 3Р п и 3	0,137±0,01	3,32±0,32
<i>Vibrio</i> sp. 3Р с 1 м	0,136±0,011	3,29±0,4
<i>Pantoea</i> sp. 3Р с 2 с	0,135±0,01	3,29±0,3
<i>Serratia</i> sp. 3Р г 1 м	0,12±0,007	2,93±0,21
<i>Micrococcus</i> sp. 3Р п 8 а	0,119±0,014	2,91±0,1
<i>Bacillus</i> sp. 3Р с 8 с	0,103±0,008	2,54±0,2
<i>Pseudomonas putida</i> 2 3Р	0,1±0,007	2,48±0,24
<i>Micrococcus</i> sp. 3Р г 6 м	0,1±0,005	2,48±0,1
<i>Micrococcus</i> sp. 3Р с 4 м	0,1±0,004	2,48±0,11
<i>Bacillus</i> sp. 3Р с ил 3	0,1±0,004	2,48±0,11
Зал. ВОСТОК		
<i>Actinomyces</i> sp. ВЛп 3 с	0,15±0,02	3,61±0,34
<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛп 1 м	0,13±0,016	3,16±0,38
<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛс 1 м	0,12±0,012	2,93±0,1
<i>Acinetobacter</i> sp. Вс и 4	0,118±0,015	2,89±0,17
<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛ п 3а	0,11±0,011	2,70±0,32
<i>Actinomyces</i> sp. ВЛс 11 с	0,105±0,01	2,59±0,35
<i>Marinococcus</i> sp. ВЛп 5 с	0,1±0,012	2,48±0,12
<i>Micrococcus</i> sp. ВЛс 7 с	0,1±0,011	2,48±0,28
<i>Micrococcus</i> sp. ВЛг ил 1	0,1±0,014	2,48±0,1
<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛ г 1 а	0,1±0,015	2,48±0,11
<i>Micrococcus</i> sp. Вс и 5	0,1±0,01	2,48±0,21
<i>Chryseobacterium</i> sp. Вг и 9	0,1±0,01	2,48±0,33
<i>Micrococcus</i> sp. ВЛг 6 а	0,093±0,006	2,32±0,23
<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛп 4 с	0,085±0,01	2,14±0,25
<i>Flavobacterium</i> sp. Вп и 3	0,079±0,01	2±0,1
<i>Micrococcus</i> sp. ВЛс 10 с	0,077±0,009	1,95±0,2
<i>Actinomyces</i> sp. Вп и 2	0,075±0,007	1,91±0,11

Окончание приложения 3

<i>Bacillus</i> sp. ВЛс 3с	0,068±0,006	1,75±0,21
<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛс 5 м	0,073±0,005	1,86±0,13
<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛг 5 а	0,065±0,004	1,68±0,17
<i>Chryseobacterium</i> sp. Вп и 1	0,063±0,07	1,64±0,1
<i>Marinococcus</i> sp. ВЛс 4 с	0,051±0,007	1,36±0,1
<i>Micrococcus</i> sp. ВЛп 3 а	0,035±0,002	1±0,12
<i>Marinococcus</i> sp. ВЛс 2 с	0,02±0,003	0,66±0,02

где X – оптическая плотность, при 454 нм

Приложение 4

Ферментативная активность культивируемых бактерий, выделенных из акваторий Приморского края с разной антропогенной нагрузкой

Место выделения	Штаммы бактерий	Липолитическая акт-ть (Твин 20)	Липолитическая акт-ть (Твин 60)	Липолитическая акт-ть (Твин 80)	Амилолитическая акт-ть (крахмал)	Протеолитическая акт-ть (обезжиренное молоко)
Б. Золотой Рог	<i>Vibrio</i> sp. ЗР с 1 м	–	–	–	+	+
	<i>Escherichia fergusonii</i> ЗР с 8 м	–	–	–	–	+
	<i>Pseudomonas psychrophila</i> 1 ЗР	–	+	–	+	–
	<i>Micrococcus</i> sp. Зрс4м	+	+	+	–	–
	<i>Pseudomonas japonica</i> ЗР с 9 м	–	–	–	–	+
	<i>Serratia liquefaciens</i> ЗР г 1 м	+	–	+	+	–
	<i>Ewingella 115mericana</i> ЗР г 2 м	–	–	–	–	–
	<i>Escherichia coli</i> 1 ЗР г 4 м	–	–	–	–	–
	<i>Pseudomonas putida</i> 2 ЗР	–	–	–	–	+
	<i>Staphylococcus lentus</i> Зрг6м	–	+	–	+	–
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР г 7 м	–	–	–	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ЗР г и 3	–	–	–	–	+
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР с ил 3	+	+	–	+	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ЗР г ил 1	–	–	+	+	–
	<i>Pseudomonas putida</i> 3 ЗР	–	–	–	–	+
	<i>Escherichia vulneris</i> ЗР г ил 3	+	–	–	–	–
	<i>Ewingella</i> sp. Зргил2	–	–	–	+	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ЗР г 4 ил	–	–	–	–	+
	<i>Pseudomonas fluorescense</i> 4 ЗР	–	–	+	–	–
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР п 4 а	–	+	–	+	–
	<i>Hafnia</i> sp. ЗР п 5 а	+	+	+	–	–
	<i>Klebsiella</i> sp. ЗР п 6 а	–	–	–	+	–
	<i>Micrococcus</i> sp. ЗР п 8 а	–	–	–	+	–
	<i>Escherichia</i> sp. ЗР п 7 а	–	–	–	+	–
	<i>Escherichia</i> sp. ЗР с 1 а	–	+	+	–	–
	<i>Marinococcus</i> sp. Зрп9а	–	+	+	–	–
	<i>Pseudomonas azotoformans</i> . 5 ЗР	–	–	–	+	+
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР п 4 а	–	+	–	+	–
	<i>Yersinia</i> sp. ЗР с 1 с	+	–	–	+	+
	<i>Pantoea</i> sp. ЗР с 2 с	+	+	+	–	–
	<i>Proteus</i> sp. ЗР с 4 с	+	+	+	+	–
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР с 6 с	–	–	–	–	–
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР с 8 с	+	+	+	–	–
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР с 9 с	+	+	+	+	+
<i>Pantoea</i> sp. 1 ЗР	–	–	–	–	–	
<i>Micrococcus</i> sp. 2 ЗР	+	+	+	–	–	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 3 ЗР	–	–	–	+	+	
<i>Micrococcus</i> sp. 4 ЗР	–	–	–	–	+	
<i>Escherichia</i> sp. 5 ЗР	–	+	–	–	+	
<i>Salmonella enterica</i> 6 ЗР	+	–	–	–	+	
<i>Escherichia</i> sp. 7 ЗР	+	–	+	–	–	
<i>Acinetobacter</i> sp. 8 ЗР	–	–	–	–	–	
<i>Actinomyces</i> sp. 9 ЗР	+	–	–	–	–	

Продолжение приложения 4

Б. Золотой Рог	<i>Bacillus</i> sp. 10 3P	–	+	+	+	+
	<i>Bacillus</i> sp. 11 3P	–	–	+	–	–
	<i>Micrococcus</i> sp. 12 3P	+	+	+	+	–
	<i>Klebsiella</i> sp. 13 3P	–	–	–	+	–
	<i>Escherichia</i> sp. 14 3P	+	+	–	+	+
	<i>Acinetobacter</i> sp. 15	+	–	–	+	+
	<i>Escherichia</i> sp. 16 3P	–	–	–	–	+
	<i>Enterococcus</i> sp. 17 3P	–	–	–	–	+
	<i>Escherichia</i> sp. 18 3P	–	–	–	–	–
	<i>Sarcina</i> sp. 19 3P	–	+	–	+	–
	<i>Micrococcus</i> sp. 20 3P	–	–	–	–	+
	<i>Micrococcus</i> sp. 21 3P	–	–	–	–	–
	<i>Actinomyces</i> sp. 22 3P	+	–	–	–	+
	<i>Vibrio</i> sp. 23 3P	–	–	–	+	–
	<i>Enterobacter cloacae</i> 24 3P	+	–	+	+	–
	<i>Micrococcus</i> sp. 25 3P	–	–	–	–	+
	<i>Vibrio</i> sp. 26 3P	–	–	–	–	+
	<i>Escherichia</i> sp. 27 3P	–	–	–	+	+
	<i>Marinococcus</i> sp. 28 3P	–	–	–	–	–
	<i>Listeria monocytogenes</i> 29 3P	+	+	+	+	–
	<i>Micrococcus</i> sp. 30 3P	–	–	–	–	+
	<i>Listeria ivanovii</i> 31 3P	+	+	+	+	–
	<i>Bacillus</i> sp. 32 3P	–	–	–	–	+
	<i>Actinomyces</i> sp. 33 3P	–	–	–	+	+
	<i>Bacillus subtilis</i> 15 3P	–	–	–	–	+
	<i>Staphylococcus pasteurii</i> 34 3P	+	+	+	+	+
	<i>Pseudomonas fluorescence</i> 6 3P	–	–	–	–	+
	<i>Pseudomonas fluorescence</i> 8 3P	+	–	–	+	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. 10 3P	+	–	+	–	+
	<i>Pseudomonas fluorescence</i> 9 3P	+	+	+	–	+
	<i>Pseudomonas fluorescence</i> 10 3P	–	+	–	–	+
	<i>Pantoea</i> sp. 12 3P	–	–	–	+	+
	<i>Acinetobacter</i> sp. 18 3P	–	–	–	+	+
<i>Acinetobacter</i> sp. 37 3P	+	+	+	–	+	
<i>Hafnia</i> sp. 13 3P	–	–	–	–	–	
Б. Находка	<i>Pseudomonas</i> sp. Нп 1м	+	+	+	–	–
	<i>Staphylococcus xylosus</i> Нп 3 м	–	–	+	+	–
	<i>Vibrio</i> sp. Нп 4 м	+	–	–	–	+
	<i>Vibrio</i> sp. Нп 6 м	+	+	+	–	+
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп 12 м	–	+	–	–	+
	<i>Staphylococcus pasteurii</i> Нп 14 м	+	+	+	–	+
	<i>Agrococcus boldri</i> Нп 15 м	–	–	–	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп 17 м	–	–	–	–	–
	<i>Pantoea</i> sp. Нп 20 м	+	–	+	–	–
	<i>Vibrio</i> sp. Нп 23 м	–	–	–	+	–
	<i>Kocuria rosea</i> Нс 1 м	+	+	+	–	–
	<i>Bacillus</i> sp. Нс 2 м	–	–	–	+	–

Б. Находка	<i>Hafnia</i> sp. Нг 1 м	–	–	–	+	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг 3 м	–	–	–	+	+
	<i>Actinomyces</i> sp. Нг 4 м	–	+	+	–	+
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нг 5 м	–	–	–	+	–
	<i>Bacillus</i> sp. Нг 6 м	–	–	–	+	–
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нг 9 м	–	–	–	+	+
	<i>Micrococcus</i> sp. Нг 12 м	–	–	–	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг 18 м	–	+	+	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп и 1	+	–	–	–	+
	<i>Bacillus</i> sp. Нп и 2	–	–	–	–	+
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп и 3	+	+	–	–	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп и 5	+	+	+	–	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нс и 7	–	–	–	–	+
	<i>Vibrio</i> sp. Нс и 8	+	–	–	–	–
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нс и 11	+	–	+	–	–
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нг и 12	+	+	+	–	+
	<i>Actinomyces</i> sp. Нп ил 1	+	–	+	–	–
	<i>Klebsiella</i> sp. Нп ил 2	+	–	+	+	+
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп ил 3	–	–	–	+	+
	<i>Ewingella</i> sp. Нп ил 4	–	+	–	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп ил 6	–	–	–	–	–
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нг ил 8	+	+	+	+	–
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп ил 7	+	–	+	–	+
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нп ил 8	–	+	–	+	+
	<i>Vibrio</i> sp. Нп ил 9	+	+	+	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нс ил 1	–	–	–	+	–
	<i>Bacillus</i> sp. Нс ил 8	+	+	+	+	–
	<i>Klebsiella</i> sp. Нг ил 1	+	–	–	–	–
	<i>Escherihia</i> sp. Нг ил 2	–	+	–	–	+
	<i>Bacillus cereus</i> Нг ил 3	+	–	–	+	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг ил 4	–	–	+	–	–
	<i>Escherihia</i> sp. Нг ил 5	+	–	–	–	–
	<i>Vibrio</i> sp. Нг ил 6	–	+	+	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг ил 7	–	–	–	+	+
	<i>Proteus</i> sp. Нг ил 9	+	+	–	–	–
	<i>Bacillus</i> sp. Нп 2 а	+	+	+	+	+
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп 3 а	–	+	–	+	+
	<i>Micrococcus luteus</i> Нп 2 а	–	+	+	+	+
	<i>Bacillus</i> sp. Нп 3 а	–	+	+	–	–
	<i>Micrococcus luteus</i> Нс 3 а	–	+	–	–	+
	<i>Arthrobacter</i> sp. Нс 4 а	–	–	+	+	–
	<i>Micrococcus</i> sp. Нг 1 а	–	+	+	+	+
	<i>Arthrobacter</i> sp. Нг 2 а	+	+	+	+	+
<i>Actinomyces</i> sp. Нп 5 а	+	+	+	+	+	
<i>Micrococcus</i> sp. Нп 6 а	–	+	–	+	+	
<i>Actinomyces</i> sp. Нп3с	–	+	+	+	+	
<i>Pantoea</i> sp. Нп2с	–	+	+	–	–	
<i>Chryseobacterium</i> sp. Нс 3 а	–	+	–	–	+	
<i>Marinobacter</i> sp. Нп 4 а	–	–	+	+	–	
<i>Micrococcus</i> sp. Нп 20 с	–	+	+	+	+	
<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп11с	+	+	+	+	+	

Продолжение приложения 4

Б. Находка	<i>Pseudomonas</i> sp. Нп 1с	–	–	–	+	+
	<i>Marinobacter</i> sp. Нп 2 с	–	–	–	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп 3 с	–	+	+	+	–
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нп 5 с	–	–	–	+	+
	<i>Escherihia</i> sp. Нп 6 с	+	–	+	–	–
	<i>Escherichia coli</i> 1 Нс 1 с	–	–	–	+	–
	<i>Vibrio</i> sp. Нс 2 с	–	–	–	+	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг 1с	–	–	–	+	+
	<i>Escherihia</i> sp. Нг 2 с	–	–	–	+	–
	<i>Arthrobacter</i> sp. 1 Н	–	–	–	–	–
	<i>Acinetobacter</i> sp. 2 Н	–	–	–	–	+
	<i>Micrococcus</i> sp. 3 Н	–	–	–	–	–
	<i>Micrococcus</i> sp. 4 Н	–	–	+	–	+
	<i>Acinetobacter</i> sp. 5 Н	–	–	–	–	–
	<i>Actinomyces</i> sp. 6 Н	–	–	–	–	–
	<i>Acinetobacter</i> sp. 7 Н	–	–	–	–	–
	<i>Actinomyces</i> sp. 8 Н	+	–	+	+	+
	<i>Acinetobacter</i> sp. 9 Н	–	–	–	–	–
	<i>Aeromonas</i> sp. 10 Н	–	–	–	+	–
	<i>Acinetobacter</i> sp. 11 Н	–	–	–	–	–
	<i>Escherichia</i> sp. 12 Н	–	–	–	–	+
	<i>Escherichia</i> sp. 13 Н	–	+	–	–	–
	<i>Vibrio</i> sp. 14 Н	–	–	–	–	+
	<i>Klebsiella</i> sp. 15 Н	+	–	–	+	+
	<i>Pantoea</i> sp. 16 Н	+	+	+	+	–
	<i>Corynebacterium</i> sp. 17 Н	–	–	–	–	+
	<i>Bacillus subtilis</i> 18 Н	+	+	–	–	–
<i>Yersinia pestis</i> 19 Н	–	+	+	+	–	
<i>Micrococcus</i> sp. 20 Н	–	–	–	–	–	
<i>Micrococcus</i> sp. 21 Н	+	+	+	+	–	
<i>Pseudomonas</i> sp. 22 Н	–	–	–	–	–	
<i>Bacillus</i> sp. 23 Н	–	+	+	–	–	
<i>Actinomyces</i> sp. 24 Н	–	–	–	–	+	
<i>Micrococcus</i> sp. 25 Н	+	+	+	+	+	
<i>Pseudomonas</i> sp. 26 Н	+	–	–	+	–	
<i>Serratia fonticola</i> 27 Н	–	–	–	–	–	
Зал. Восток	<i>Salinicoccus</i> sp. ВЛс 4 м	+	–	–	+	–
	<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛс 5 м	–	–	–	+	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Вп и 1	+	–	–	+	+
	<i>Actinomyces</i> sp. Вп и 2	–	–	–	–	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Вп и 3	–	–	–	–	–
	<i>Acinetobacter</i> sp. Вс и 4	+	+	+	+	+
	<i>Micrococcus</i> sp. Вс и 5		–	–	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Вг и 9	+	–	–	+	+
	<i>Micrococcus</i> sp. Вг ил 1	+	–	+	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛ п 3 а	+	+	–	+	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛ г 1 а	+	+	+	–	+
	<i>Micrococcus</i> sp. ВЛ г 5 а	+	+	+	–	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛ н 1 а	–	+	–	+	–
	<i>Micrococcus</i> sp. ВЛ г 6 а	–	–	+	+	–
<i>Micrococcus</i> sp. ВЛ п 3 а	–	+	–	+	+	

Продолжение приложения 4

Зал. Восток	<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛ г 1 а	+	+	+	–	+
	<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛ г 5 а	+	+	+	+	+
	<i>Vibrio</i> sp. ВЛ н 1 а	+	–	–	+	–
	<i>Bacillus</i> sp. ВЛ г 6 а	–	–	+	+	–
	<i>Actinomyces</i> sp. ВЛп 3с	–	–	–	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛп 6с	–	+	–	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛп 4с	–	–	–	–	+
	<i>Marinococcus</i> sp. ВЛп 5с	–	+	+	–	–
	<i>Bacillus</i> sp. ВЛс 1с	–	–	–	+	+
	<i>Marinococcus</i> sp. ВЛс 2с	–	–	–	–	+
	<i>Bacillus</i> sp. ВЛс 3с	–	+	–	+	+
	<i>Marinococcus</i> sp. ВЛс 4 с	–	–	+	–	+
	<i>Bacillus</i> sp. ВЛ с 6 с	+	–	–	+	–
	<i>Micrococcus</i> sp. ВЛс 7 с	–	+	+	+	–
	<i>Micrococcus</i> sp. ВЛс 10 с	–	–	–	+	–
	<i>Actinomyces</i> sp. ВЛс 11с	–	–	+	–	+
	<i>Carnobacterium inhibens</i> ВЛп 4 м	–	–	–	–	–
	<i>Pseudomonas</i> sp. В 1	–	–	–	–	–
	<i>Micrococcus</i> sp. В 2	–	–	–	–	–
	Б. Киевка	<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛп 1 м	+	+	+	–
<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛп 2 м		–	–	+	–	–
<i>Actinomyces</i> sp. ВЛп 3м		–	–	–	+	–
<i>Bacillus</i> sp ВЛп 6м		–	–	+	–	–
<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛс 1 м		–	–	–	–	–
<i>Vibrio</i> sp. 9 К		–	–	–	–	–
<i>Salinicoccus</i> sp. ВЛс 2 м		–	–	–	–	–
<i>Salinicoccus</i> sp. ВЛс 3 м		+	–	–	+	+
<i>Pseudomonas putida</i> 1К		–	–	–	–	+
<i>Pseudomonas psychrophila</i> 2 К		+	–	–	–	–
<i>Chryseobacterium</i> sp. Кс и 20		+	–	–	+	–
<i>Corynebacterium</i> sp. Кд и 23		–	+	+	–	+
<i>Bacillus</i> sp. Кд и 24		–	–	–	–	+
<i>Rhodococcus</i> sp. 1 К		–	–	–	+	–
<i>Chryseobacterium</i> sp. 2 К			+	–	–	+
<i>Pseudomonas putida</i> 3 К		+	+	+	–	+
<i>Halomonas</i> sp. 4 К			+	+	–	–
<i>Pseudomonas putida</i> 4 К		–	–	–	–	–
<i>Micrococcus</i> sp. 6 К	–	–	–	–	+	
<i>Bacillus</i> sp. 7 К	–	–	–	–	–	
<i>Bacillus</i> sp. 8 К	–		+	+	+	
<i>Halomonas</i> sp. 10 К	+	–	–	+	+	
<i>Pseudomonas putida</i> 5 К	+	+	–	+	+	
<i>Micrococcus</i> sp. 12 К	–	–	–	+	+	
<i>Acetobacter</i> sp. 13 К	+	–	–	–	+	
<i>Acinetobacter</i> sp. 14 К	+		+	–	+	
<i>Vibrio</i> sp. 15 К	–	–	–	+	–	
<i>Pseudomonas panacis</i> 6 К	–	+	–	–	+	
<i>Micrococcus</i> sp. 17 К	–	–	–	–	+	
<i>Actinomyces</i> sp. 18 К	+	–	–	+	–	

Окончание приложения 4

<i>Actinomyces</i> sp. 19 К	–	+	–	–	–
<i>Bacillus</i> sp. 20 К	+	–	+	+	+
<i>Arthrobacter</i> sp. 21 К	+	+	–	–	+
<i>Pseudomonas stutzeri</i> 7 К	–	–	+	–	+
<i>Bacillus</i> sp. 23 К	+	+	+	+	–
<i>Arthrobacter</i> sp. 24 К	+	–	–	–	+
<i>Pseudomonas azotoformans</i> 8 К	–	+	+	+	+
<i>Arthrobacter</i> sp. 26 К	–	–	–	+	+
<i>Pseudomonas psychrophila</i> 9 К	–	+	+	+	+
<i>Micrococcus</i> sp. 28 К	+	+	–	–	–
<i>Bacillus</i> sp. 29 К	+	+	+	+	+
<i>Micrococcus</i> sp. 30 К	+	+	+	+	+
<i>Vibrio</i> sp. 32 К	+	–	+	+	–
<i>Bacillus</i> sp. 33 К	–	+	+	–	+
<i>Micrococcus</i> sp. 34 К	+	+	–	+	+
<i>Micrococcus</i> sp. 35 К	–	–	+	+	–
<i>Bacillus</i> sp. 36 К	–	–	–	–	+
<i>Micrococcus</i> sp. 31 К	+	+	–	+	+

Примечание: + есть активность, – нет активности

Приложение 5

Ферментативная активность культивируемых бактерий, выделенных из акваторий с разной антропогенной нагрузкой, по отношению к: хитину, хитозану, фукоидану, клетчатке, ХГК

Место выделения	Номер штамма	Ферментативная активность по отношению к субстратам					
		Альгинат натрия	Клетчатка	Фукоидан	Хитин	Хитозан	ХГК
Б. Зологой Рог	<i>Vibrio</i> sp. ЗР с 1 м	–	+	+	+	–	+
	<i>Escherichia fergusonii</i> ЗР с 8 м	–	+	–	+	–	+
	<i>Pseudomonas psychrophila</i> 1 ЗР	+	+	+	+	+	+
	<i>Micrococcus</i> sp. Зрс4м	–	+	+	–	+	–
	<i>Pseudomonas japonica</i> ЗР с 9 м	–	+	+	+	+	+
	<i>Serratia liquefaciens</i> ЗР г 1 м	–	–	–	–	–	–
	<i>Ewingella americana</i> ЗР г 2 м	+	+	–	+	+	–
	<i>Escherichia coli</i> 1 ЗР г 4 м	–	–	–	–	+	–
	<i>Pseudomonas putida</i> 2 ЗР	+	–	+	+	–	–
	<i>Staphylococcus lentus</i> Зрг6м	–	+	–	–	–	+
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР г 7 м			+	+	–	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ЗР г и 3	–	–	+	+	–	+
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР с ил 3	+	–	+	+	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ЗР г ил 1	–	–	–	–	–	–
	<i>Pseudomonas putida</i> 3 ЗР	–	+	–	+	–	+
	<i>Escherichia vulneris</i> ЗР г ил 3	–	–	–	–	–	–
	<i>Ewingella</i> sp. Зргил2	–	+	–	–	+	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ЗР г 4 ил	+	+	+	–	+	–
	<i>Pseudomonas fluorescence</i> 4 ЗР	–	–	+	–	–	–
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР п 4 а	–	+	+	+	+	+
	<i>Hafnia</i> sp. ЗР п 5 а	+	+	+	+	–	+
	<i>Klebsiella</i> sp. ЗР п 6 а	–	+	–	–	+	–
	<i>Micrococcus</i> sp. ЗР п 8 а	–	–	+	–	+	–
	<i>Escherichia</i> sp. ЗР п 7 а	–	–	–	–	–	–
	<i>Escherichia</i> sp. ЗР с 1 а	–	–	–	–	–	–
	<i>Marinococcus</i> sp. Зрп9а	–	+	+	+	+	+
	<i>Pseudomonas azotoformans</i> 5 ЗР	–	–	+	+	+	+
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР п 4 а	–	+	+	–	+	–
	<i>Yersinia</i> sp. ЗР с 1 с	–	+	–	–	+	–
	<i>Pantoea</i> sp. ЗР с 2 с	–	+	–	–	+	–
	<i>Proteus</i> sp. ЗР с 4 с		–	+	–	–	–
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР с 6 с	–	+	+	–	–	–
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР с 8 с	–	–	+	–	–	–
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР с 9 с	+	+	+	–	–	–
	<i>Pantoea</i> sp. 1 ЗР	–	–	–	–	–	–
<i>Micrococcus</i> sp. 2 ЗР		–	+	–	+	–	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 3 ЗР	–	+	–	+	+	+	
<i>Micrococcus</i> sp. 4 ЗР		+	+	+	–	+	
<i>Escherichia</i> sp. 5 ЗР	–	–	–	–	+	–	
<i>Salmonella enterica</i> 6 ЗР	–	+	–	+	+	+	
<i>Escherichia</i> sp. 7 ЗР	–	–	+	–	+	–	

Продолжение приложения 5

Б. Зологой Рог	<i>Acinetobacter</i> sp. 8 ЗР	-	-	+	-	+	-
	<i>Actinomyces</i> sp. 9 ЗР	-	+	-	+	+	+
	<i>Bacillus</i> sp. 10 ЗР	+	+	+	-	+	-
	<i>Bacillus</i> sp. 11 ЗР	-	+	+	+	+	+
	<i>Micrococcus</i> sp. 12 ЗР	-	+	+	-	+	-
	<i>Klebsiella</i> sp. 13 ЗР	-	-	+	-	+	-
	<i>Escherichia</i> sp. 14 ЗР	-	+	+	+	+	+
	<i>Acinetobacter</i> sp. 15	-	+	+	-	+	-
	<i>Escherichia</i> sp. 16 ЗР	+	+	+	+	+	+
	<i>Enterococcus</i> sp. 17 ЗР	-	+	-	-	+	-
	<i>Escherichia</i> sp. 18 ЗР	-	+	-	-	+	-
	<i>Sarcina</i> sp. 19 ЗР	+	+	+	+	-	+
	<i>Micrococcus</i> sp. 20 ЗР	+	+	+	-	-	-
	<i>Micrococcus</i> sp. 21 ЗР	-	-	+	-	-	-
	<i>Actinomyces</i> sp. 22 ЗР	-	+	+	-	-	-
	<i>Vibrio</i> sp. 23 ЗР	+	+	+	+	-	+
	<i>Enterobacter cloacae</i> 24 ЗР	-	-	-	-	-	-
	<i>Micrococcus</i> sp. 25 ЗР	-	+	+	-	+	-
	<i>Vibrio</i> sp. 26 ЗР	-	+	-	-	-	-
	<i>Escherichia</i> sp. 27 ЗР	-	-	+	-	-	-
	<i>Marinococcus</i> sp. 28 ЗР	+	+	-	-	+	-
	<i>Listeria monocytogenes</i> 29 ЗР	-	-	-	-	-	-
	<i>Micrococcus</i> sp. 30 ЗР		+	+	+	-	+
	<i>Listeria ivanovii</i> 31 ЗР	+	-	-	+	-	-
	<i>Bacillus</i> sp. 32 ЗР	-	+	-	-	+	+
	<i>Actinomyces</i> sp. 33 ЗР	-	+	+	-	-	-
	<i>Bacillus subtilis</i> 15 ЗР	-	+	-	-	-	-
	<i>Staphylococcus pasteurii</i> 34 ЗР	-	-	-	-	-	-
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 6 ЗР	-	-	+	-	-	-
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 7 ЗР	-	-	-	-	-	-
	<i>Chryseobacterium</i> sp. 10 ЗР	-	-	+	+	-	+
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 8 ЗР	-	-	-	-	-	-
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 9 ЗР	-	-	-	+	-	+
	<i>Pantoea</i> sp. 12 ЗР	-	+	+	+	+	-
<i>Acinetobacter</i> sp. 18 ЗР	-	-	+	-	-	-	
<i>Acinetobacter</i> sp. 37 ЗР	-	-	-	-	-	-	
<i>Hafnia</i> sp. 13 ЗР	-	-	-	-	-	-	
Б. Находка	<i>Pseudomonas</i> sp. Нп 1м	-	+	+	+	-	+
	<i>Staphylococcus xylosum</i> Нп 3 м	+	-	-	-	-	-
	<i>Vibrio</i> sp. Нп 4 м	-	-	-	-	-	-
	<i>Vibrio</i> sp. Нп 6 м	-	+	+	+	+	+
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп 12 м	+	-	-	-	-	-
	<i>Staphylococcus pasteurii</i> Нп 14 м	-	+	-	-	-	-
	<i>Agrococcus boldri</i> Нп 15 м	-	+	+	-	+	-
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп 17 м	-	+	-	-	+	-
	<i>Pantoea</i> sp. Нп 20 м	-	+	-	+	+	+
	<i>Vibrio</i> sp. Нп 23 м	-	-	-	+	-	+
	<i>Kocuria rosea</i> Нс 1 м	-	-	-	-	+	-
	<i>Bacillus</i> sp. Нс 2 м	+	+	+	-	+	-

Б. Находка	<i>Hafnia</i> sp. Нг 1 м	–	+	–	–	–	–
	<i>Actinomyces</i> sp. Нг 4 м	–	+	+	–	+	–
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нг 5 м	–	–	–	–	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг 3 м	–	+	–	+	+	+
	<i>Bacillus</i> sp. Нг 6 м	–	+	+	–	+	–
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нг 9 м	+	–	+	+	+	+
	<i>Micrococcus</i> sp. Нг 12 м	–	–	–	–	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг 18 м	–	+	–	+	–	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп и 1	–	–	+	–	+	–
	<i>Bacillus</i> sp. Нп и 2	–	+	+	+	+	+
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп и 3	–	+	–	–	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп и 5	+	+	–	+	–	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нс и 7	–	+	+	–	+	–
	<i>Vibrio</i> sp. Нс и 8	–	+	–	–	+	–
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нс и 11	–	+	+	–	+	–
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нг и 12	–	+	+	+	–	+
	<i>Actinomyces</i> sp. Нп ил 1	–	+	+	–	+	–
	<i>Klebsiella</i> sp. Нп ил 2	–	–	–	–	–	–
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп ил 3	–	+	–	–	–	–
	<i>Ewingella</i> sp. Нп ил 4	+	+	–	+	+	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп ил 6	+	+	+	–	+	
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нг ил 8	–	+	+	+	+	+
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп ил 7	–	–	+	+	–	+
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нп ил 8	–	–	+	–	–	–
	<i>Vibrio</i> sp. Нп ил 9	–	+	+	+	+	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нс ил 1	–	–	+	–	–	–
	<i>Bacillus</i> sp. Нс ил 8	+	+	+	+	+	+
	<i>Klebsiella</i> sp. Нг ил 1	–	–	–	+	+	+
	<i>Escherichia</i> sp. Нг ил 2	–	–	–	–	–	–
	<i>Bacillus cereus</i> Нг ил 3	+	–	–	+	+	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг ил 4	–	–	+	+	–	+
	<i>Escherichia</i> sp. Нг ил 5	+	+	–	–	–	–
	<i>Vibrio</i> sp. Нг ил 6	+	+	+	–	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг ил 7	–	–	–	+	+	+
	<i>Proteus</i> sp. Нг ил 9	–	+	–	–	–	–
	<i>Bacillus</i> sp. Нп 2 а	–	–	–	+	+	+
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп 3 а	–	+	+	+	+	–
	<i>Micrococcus luteus</i> Нп 2 а	–	+	+	+	+	+
	<i>Bacillus</i> sp. Нп 3 а	–	+	+	–	+	–
	<i>Micrococcus luteus</i> Нс 3 а	–	+	+	+	+	+
	<i>Arthrobacter</i> sp. Нс 4 а	–	+	–	+	–	+
	<i>Micrococcus</i> sp. Нг 1 а	–	–	–	–	+	–
	<i>Arthrobacter</i> sp. Нг 2 а	–	–	+	–	+	–
	<i>Actinomyces</i> sp. Нп 5 а	–	+	+	–	–	–
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп 6 а	–	+	–	–	–	–
<i>Actinomyces</i> sp. Нп3с	–	–	+	+	–	+	
<i>Pantoea</i> sp. Нп2с	+	+	+	–	–	–	
<i>Chryseobacterium</i> sp. Нс 3 а	–	–	–	+	–	–	
<i>Marinobacter</i> sp. Нп 4 а	–	–	–	–	–	–	
<i>Micrococcus</i> sp. Нп 20 с	–	–	+	–	+	–	
<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп11с	–	–	–	–	–	–	

Продолжение приложения 5

Б. Находка	<i>Pseudomonas</i> sp. Нп 1с	–	–	–	–	+	–
	<i>Marinobacter</i> sp. Нп 2 с	–	+	–	–	+	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп 3 с	+	–	+	+	–	+
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нп 5 с		+	+	–	–	–
	<i>Escherihia</i> sp. Нп 6 с	+	+	–	+	–	+
	<i>Escherichia coli</i> 1 Нс 1 с	–	–	–	+	+	+
	<i>Vibrio</i> sp. Нс 2 с	–	+	–	–	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг 1с	–	–	+	+	–	+
	<i>Escherihia</i> sp. Нг 2 с	–	–	–	–	–	–
	<i>Arthrobacter</i> sp. 1 Н	–	–	–	–	–	–
	<i>Acinetobacter</i> sp. 2 Н	–	–	–	–	–	–
	<i>Micrococcus</i> sp. 3 Н		–	–	–	–	–
	<i>Micrococcus</i> sp. 4 Н	+	+	–	–	–	–
	<i>Acinetobacter</i> sp. 5 Н	–	+	–	–	–	–
	<i>Actinomyces</i> sp. 6 Н	–	–	–	–	–	–
	<i>Acinetobacter</i> sp. 7 Н	–	–	–	+	–	+
	<i>Actinomyces</i> sp. 8 Н	–	+	–	–	–	–
	<i>Acinetobacter</i> sp. 9 Н	–	+	–	–	–	–
	<i>Aeromonas</i> sp. 10 Н	+	–	+	–	–	–
	<i>Acinetobacter</i> sp. 11 Н	–	–	–	–	–	–
	<i>Escherichia</i> sp. 12 Н	–	–	–	–	–	–
	<i>Escherichia</i> sp. 13 Н	+	+	–	–	–	–
	<i>Vibrio</i> sp. 14 Н	–	–	–	+	–	+
	<i>Klebsiella</i> sp. 15 Н	–	–	–	–	–	–
	<i>Pantoea</i> sp. 16 Н	–	–	–	+	–	+
	<i>Corynebacterium</i> sp. 17 Н	–	–	–	–	–	–
	<i>Bacillus subtilis</i> 18 Н	+	+	+	–	–	–
<i>Yersinia enterocolitica</i> 19 Н	–	–	–	–	–	–	
<i>Micrococcus</i> sp. 20 Н	–	–	–	–	–	–	
<i>Micrococcus</i> sp. 21 Н	–	+	–	–	–	–	
<i>Pseudomonas</i> sp. 22 Н	+	+	+	+	–	–	
<i>Bacillus</i> sp. 23 Н	+	+	+	–	–	–	
<i>Actinomyces</i> sp. 24 Н	–	+	+	–	–	–	
<i>Micrococcus</i> sp. 25 Н	–	+	+	–	–	–	
<i>Pseudomonas</i> sp. 26 Н	–	+	–	+	–	–	
<i>Serratia fonticola</i> 27 Н	–	–	–	–	–	–	
Зал. Восток	<i>Salinicoccus</i> sp. ВЛс 3 м	–	–	+	+	–	+
	<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛп 1 м	–	+	–	–	+	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛп 2 м	+	+	+	–	+	–
	<i>Actinomyces</i> sp. ВЛп 3м	–	+	+	+	+	+
	<i>Bacillus</i> sp. ВЛп 6м	–	+	–	–	+	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛс 1 м	–	+	+	–	+	–
	<i>Salinicoccus</i> sp. ВЛс 2 м	–	+	–	–	–	–
	<i>Salinicoccus</i> sp. ВЛс 4 м	–	+	+	+	+	+
	<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛс 5 м	+	–	+	+	+	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Вп и 1	–	–	–	–	–	–
	<i>Actinomyces</i> sp. Вп и 2	+	+	+	–	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Вп и 3	+	+	+	–	–	–
	<i>Acinetobacter</i> sp. Вс и 4	+	+	+	+	+	+
	<i>Micrococcus</i> sp. Вс и 5	–	+	+	–	+	–
<i>Chryseobacterium</i> sp. Вг и 9	+	+	+	+	+	+	

Продолжение приложения 5

Зал. Восток	<i>Micrococcus</i> sp. Вг ил 1	–	–	–	+	–	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛп 3 а	+	+	+	+	+	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛг 1 а	–	–	–	–	–	–
	<i>Micrococcus</i> sp. ВЛг 5 а	–	+	+	+	+	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛн 1 а	–	–	+	+	–	+
	<i>Micrococcus</i> sp. ВЛг 6 а	+	+	+	+	+	+
	<i>Micrococcus</i> sp. ВЛп 3 а	–	+	+	+	–	+
	<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛг 1 а	+	+	+	+	+	+
	<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛг 5 а	+	+	+	+	+	+
	<i>Vibrio</i> sp. ВЛн 1 а	–	–	+	–	+	–
	<i>Bacillus</i> sp. ВЛг 6 а	+	+	+	–	+	–
	<i>Actinomyces</i> sp. ВЛп 3с	+	+	+	–	+	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛп 4с	–	+	–	–	–	–
	<i>Marinococcus</i> sp. ВЛп 5с	–	+	+	+	–	–
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛп 6с	–	–	+	–	–	–
	<i>Bacillus</i> sp. ВЛс 1с	–	–	+	–	–	–
	<i>Marinococcus</i> sp. ВЛс 2с	–	+	+	–	–	–
	<i>Bacillus</i> sp. ВЛс 3с	–	–	–	–	–	–
	<i>Marinococcus</i> sp. ВЛс 4 с	+	+	+	+	–	+
	<i>Bacillus</i> sp. ВЛс 6 с	+	–	+	–	–	–
<i>Micrococcus</i> sp. ВЛс 7 с	+	+	–	+	–	+	
<i>Micrococcus</i> sp. ВЛс 10 с	+	–	–	+	+	+	
<i>Actinomyces</i> sp. ВЛс 11с	–	+	–	–	–	–	
<i>Carnobacterium inhibens</i> ВЛп 4 м	–	–	+	–	+	–	
<i>Pseudomonas</i> sp. В 1	–	–	+	–	–	–	
<i>Micrococcus</i> sp. В 2	–	–	+	–	+	–	
Б. Киевка	<i>Pseudomonas putida</i> 1К	+	+	–	+	–	–
	<i>Pseudomonas psychrophila</i> 2 К	–	+	+	+	–	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Кс и 20	–	–	+	+	+	+
	<i>Corynebacterium</i> sp. Кд и 23	–	–	+	–	+	–
	<i>Bacillus</i> sp. Кд и 24	+	–	–	–	–	–
	<i>Rhodococcus</i> sp. 1 К	–	+	–	+	+	+
	<i>Chryseobacterium</i> sp. 2 К	+	–	+	+	–	+
	<i>Pseudomonas putida</i> 4 К	+	+	+	+	+	+
	<i>Halomonas</i> sp. 4 К	+	–	+	+	+	+
	<i>Pseudomonas putida</i> 3 К	+	+	+	+	–	+
	<i>Micrococcus</i> sp. 6 К	+	+	+	+	+	+
	<i>Bacillus</i> sp. 7 К	+	+	–	+	–	–
	<i>Bacillus</i> sp. 8 К	–	–	+	+	+	+
	<i>Vibrio</i> sp. 9 К	–	+	+	–	+	–
	<i>Halomonas</i> sp. 10 К	+	+	+	–	+	–
	<i>Pseudomonas putida</i> 5 К	–	+	+	–	+	–
	<i>Micrococcus</i> sp. 12 К	+	+	+	+	+	–
	<i>Acetobacter</i> sp. 13 К	–	+	+	–	+	–
	<i>Acinetobacter</i> sp. 14 К	–	+	+	+	+	–
	<i>Vibrio</i> sp. 15 К	–	–	+	–	+	–
<i>Pseudomonas panacis</i> 6 К	–	+	+	–	+	–	
<i>Micrococcus</i> sp. 17 К	+	+	+	–	+	–	
<i>Actinomyces</i> sp. 18 К	+	+	+	+	–	+	
<i>Actinomyces</i> sp. 19 К	+	+	–	+	–	+	

Окончание приложения 5

Б. Киевка	<i>Bacillus</i> sp. 20 К	+	+	+	+	–	–
	<i>Arthrobacter</i> sp. 21 К	–	+	+	–	+	–
	<i>Pseudomonas stutzeri</i> 7 К	–	+	+	–	+	–
	<i>Bacillus</i> sp. 23 К	+	+	+	–	+	–
	<i>Arthrobacter</i> sp. 24 К	+	+	+	+	–	+
	<i>Pseudomonas azotoformans</i> 8 К	+	+	+	+	+	+
	<i>Arthrobacter</i> sp. 26 К	–	+	+	–	+	–
	<i>Pseudomonas psychrophila</i> 9 К	–	–	+	–	+	–
	<i>Micrococcus</i> sp. 28 К	–	+	+	–	+	–
	<i>Bacillus</i> sp. 29 К	–	+	+	–	–	–
	<i>Micrococcus</i> sp. 30 К	+	+	+	+	+	–
	<i>Micrococcus</i> sp. 31 К	+	–	–	–	–	–
	<i>Vibrio</i> sp. 32 К	–	+	–	–	–	–
	<i>Bacillus</i> sp. 33 К	–	–	–	+	+	+
	<i>Micrococcus</i> sp. 34 К	–	–	–	–	–	–
	<i>Micrococcus</i> sp. 35 К	–	+	+	–	–	–
<i>Bacillus</i> sp. 36 К	+	+	+	+	+	–	

Примчание: + есть рост бактерий на среде с субстратом; – нет роста бактерий на среде с субстратом

Приложение 6

Хитиная активность культивируемых гетеротрофных бактерий, выделенных из акваторий Приморского края с разной антропогенной нагрузкой

Место выделения	Штаммы бактерий	U, E/г	U, E/г	U, E/г	Ucp, E/г
Б. Золотой Рог	<i>Vibrio</i> sp. ЗР с 1 м	1,87	1,86	1,9	1,88±0,02
	<i>Escherichia fergusonii</i> ЗР с 8 м	2,49	2,5	2,46	2,48±0,02
	<i>Pseudomonas psychrophila</i> 1 ЗР	2,49	2,52	2,43	2,48±0,04
	<i>Pseudomonas japonica</i> ЗР с 9 м	2,87	2,84	2,85	2,85±0,01
	<i>Ewingella americana</i> ЗР Г 2 м	3,25	3,22	3,28	3,25±0,03
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ЗР Г и 3	1,87	1,88	1,9	1,88±0,02
	<i>Pseudomonas putida</i> 2 ЗР	1,25	1,22	1,23	1,23±0,02
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР п 4 а	1,25	1,19	1,34	1,26 ±0,07
	<i>Hafnia</i> sp. ЗР п 5 а	2,49	2,39	2,5	2,46±0,06
	<i>Marinococcus</i> sp. Зрп9а	4,99	5	4,93	4,97±0,03
	<i>Pseudomonas putida</i> 3 ЗР	2,49	2,43	2,48	2,47±0,03
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 3 ЗР	5,62	5,6	5,66	5,63±0,03
	<i>Micrococcus</i> sp. 4 ЗР	0,62	0,7	0,65	0,66±0,04
	<i>Salmonella enterica</i> 6 ЗР	0,62	0,59	0,7	0,64±0,05
	<i>Actinomyces</i> sp. 9 ЗР	1,87	1,88	1,83	1,86±0,02
	<i>Bacillus</i> sp. 11 ЗР	1,87	1,9	1,89	1,89±0,01
	<i>Escherichia</i> sp. 14 ЗР	0,62	0,7	0,71	0,68±0,04
	<i>Escherichia</i> sp. 16 ЗР	3,12	3,15	3,1	3,12±0,02
	<i>Sarcina</i> sp. 19 ЗР	8,12	8,1	8,18	8,13±0,04
	<i>Vibrio</i> sp. 23 ЗР	1,25	1,28	1,23	1,25±0,02
	<i>Micrococcus</i> sp. 30 ЗР	1,87	1,88	1,9	1,88±0,01
	<i>Listeria ivanovii</i> 31 ЗР	4,37	4,29	4,3	4,32±0,04
	<i>Chryseobacterium</i> sp. 10 ЗР	6,49	6,48	6,49	6,49±0,00
<i>Pseudomonas fluorescence</i> 4 ЗР	6,87	6,87	6,8	6,85±0,04	
<i>Pantoea</i> sp. 12 ЗР	1,25	1,27	1,18	1,23±0,04	
Б. Находка	<i>Pseudomonas</i> sp. Нп 1м	3,75	3,79	3,69	3,74±0,05
	<i>Vibrio</i> sp. Нп 6 м	1,87	1,88	1,89	1,88±0,01
	<i>Pantoea</i> sp. Нп 20 м	3,12	3,17	3,15	3,15±0,02
	<i>Vibrio</i> sp. Нп 23 м	2,49	2,48	2,42	2,46±0,03
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг 3 м	2,49	2,43	2,48	2,47±0,03
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нг 9 м	0,6	0,6	0,68	0,64±0,05
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг 18 м	4,37	4,39	4,32	4,36±0,03
	<i>Bacillus</i> sp. Нп и 2	4,37	4,37	4,39	4,38±0,01
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп и 5	3,75	3,73	3,69	3,72±0,03
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нг и 12	4,37	4,39	4,4	4,39±0,01
	<i>Ewingella</i> sp. Нп ил 4	4,37	4,39	4,32	4,36±0,03
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нг ил 8	2,49	2,45	2,43	2,46±0,03
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп ил 7	2,49	2,5	2,52	2,50±0,01
	<i>Vibrio</i> sp. Нп ил 9	2,49	2,43	2,48	2,47±0,03
	<i>Bacillus</i> sp. Нс ил 8	4,37	4,33	4,39	4,36±0,03
	<i>Klebsiella</i> sp. Нг ил 1	4,37	4,36	4,38	4,37±0,01

Б. Назодка	<i>Bacillus cereus</i> Нг ил 3	2,12	2,15	2,18	2,15±0,03
	<i>Chryseobacterium</i> sp, Нг ил 4	4,37	4,38	4,36	4,37±0,01
	<i>Chryseobacterium</i> sp, Нг ил 7	2,75	2,8	2,65	2,73±0,07
	<i>Bacillus</i> sp, Нп 2 а	4,99	4,98	5,1	5,02±0,06
	<i>Micrococcus luteus</i> Нн 2 а	4,37	4,29	4,39	4,35±0,05
	<i>Micrococcus luteus</i> Нс 3 а	0,62	0,73	0,64	0,67±0,05
	<i>Arthrobacter</i> sp, Нс 4 а	1,87	1,9	1,82	1,86±0,04
	<i>Actinomyces</i> sp, НнЗс	5,12	5,1	5,17	5,13±0,03
	<i>Chryseobacterium</i> sp, Нп 3 с	3,75	3,8	3,73	3,76±0,03
	<i>Escherichia</i> sp, Нп 6 с	14,91	14,91	14,89	10±0,04
	<i>Escherichia coli 1</i> Нс 1 с	1,87	1,88	1,88	1,88±0,005
	<i>Chryseobacterium</i> sp, Нг 1с	10,49	10,54	10,43	10,5±0,05
	<i>Acinetobacter</i> sp, 7 Н	4,99	4,93	5,13	5,02±0,10
	<i>Vibrio</i> sp, 14 Н	1,87	1,93	1,84	1,88±0,04
<i>Pantoea</i> sp, 16 Н	0,62	0,77	0,82	0,76±0,06	
Зал. Восток	<i>Actinomyces</i> sp. ВЛп 3м	30,6	30,69	30,62	30,64±0,04
	<i>Salinicoccus</i> sp. ВЛс 3 м	6,87	6,88	6,9	6,88±0,01
	<i>Salinicoccus</i> sp. ВЛс 4 м	1,25	1,28	1,3	1,28±0,02
	<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛс 5 м	1,87	1,95	1,84	1,89±0,05
	<i>Acinetobacter</i> sp. Вс и 4	21,83	21,9	21,76	21,83±0,07
	<i>Chryseobacterium</i> sp, Вг и 9	1,25	1,31	1,4	1,35±0,04
	<i>Micrococcus</i> sp. Вг ил 1	21,21	21,22	21,3	21,24±0,04
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛ п 3 а	8,12	8,17	8,1	8,13±0,03
	<i>Micrococcus</i> sp. ВЛ г 5 а	6,87	6,94	6,91	6,91±0,03
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛ н 1 а	2,49	2,39	2,46	2,45±0,05
	<i>Micrococcus</i> sp. ВЛ г 6 а	15,59	15,59	15,63	15,6±0,02
	<i>Micrococcus</i> sp. ВЛ п 3 а	3,12	3,14	3,19	3,15±0,03
	<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛ г 1 а	21,23	21,27	21,24	21,25±0,02
	<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛ г 5 а	8,74	8,75	8,76	8,75±0,01
	<i>Marinococcus</i> sp. ВЛс 4 с	8,74	8,77	8,69	8,73±0,04
	<i>Micrococcus</i> sp. ВЛс 7 с	2,49	2,53	2,54	2,52±0,02
<i>Micrococcus</i> sp. ВЛс 10 с	18,7	18,92	18,77	18,81±0,09	
Б. Киевка	<i>Pseudomonas</i> sp. Кв и 5	9,37	9,38	9,38	9,38±0,005
	<i>Pseudomonas</i> sp. Кв и 8	0,62	0,83	0,76	0,77±0,06
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Кс и 20	1,87	1,92	1,85	1,88±0,03
	<i>Rhodococcus</i> sp. 1 К	4,99	5,12	4,95	5,02±0,08
	<i>Chryseobacterium</i> sp. 2 К	1,87	1,76	1,88	1,84±0,06
	<i>Pseudomonas</i> sp. 3 К	7,49	7,46	7,53	7,49±0,03
	<i>Halomonas</i> sp. 4 К	2,49	2,54	2,5	2,51±0,02
	<i>Pseudomonas</i> sp. 5 К	8,74	8,75	8,77	8,75±0,01
	<i>Micrococcus</i> sp. 6 К	2,49	2,49	2,48	2,49±0,005
	<i>Bacillus</i> sp. 7 К	11,86	11,9	11,88	11,88±0,02
	<i>Bacillus</i> sp. 8 К	1,25	1,28	1,25	1,26±0,01
	<i>Micrococcus</i> sp. 12 К	15,59	15,65	15,59	15,61±0,03
	<i>Acinetobacter</i> sp. 14 К	13,10	13,1	13,12	13,11±0,01
	<i>Actinomyces</i> sp. 18 К	8,74	8,7	8,81	8,75±0,05
	<i>Actinomyces</i> sp. 19 К	5,62	5,66	5,67	5,65±0,02
	<i>Bacillus</i> sp. 20 К	7,49	7,46	7,48	7,48±0,01
	<i>Arthrobacter</i> sp. 24 К	12,49	12,43	12,49	12,47±0,03
	<i>Pseudomonas</i> sp. 25 К	23,1	23,12	23,13	23,12±0,01
<i>Micrococcus</i> sp. 30 К	8,12	8,15	8,15	8,14±0,01	
<i>Bacillus</i> sp. 33 К	9,37	9,37	9,39	9,38±0,01	
<i>Bacillus</i> sp. 36 К	12,49	12,43	12,48	12,47±0,03	

Приложение 7

Факторы патогенности культивируемых бактерий, выделенных из акваторий Приморского края с разной антропогенной нагрузкой

Место выделения	Номер штамма	Плазмок оагулаза активно	Гемолитическая активность	Гиалуронидазная активность	Адгезивные свойства (ИАМ)
Б. Золотой Рог	<i>Vibrio</i> sp. ЗР с 1 м	–	–	–	1,2
	<i>Escherichia fergusonii</i> ЗР с 8 м	–	–	+	3,5
	<i>Pseudomonas psychrophila</i> 1 ЗР	+		+	3,1
	<i>Micrococcus</i> sp. Зрс4м	–	–	–	1
	<i>Pseudomonas putida</i> 2 ЗР	+	–	–	4,1
	<i>Serratia liquefaciens</i> ЗР г 1 м	–	+	+	2,6
	<i>Ewingella americana</i> ЗР г 2 м	–	+	+	2,6
	<i>Escherichia coli</i> 1 ЗР г 4 м	+	–	+	3,6
	<i>Pseudomonas japonica</i> ЗР с 9 м	–	–	–	0,9
	<i>Staphylococcus lentus</i> Зрг6м	–	–	+	2,6
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР г 7 м	+	–	+	4,1
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ЗР г и 3	–	–	+	2,8
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР с ил 3	+	–	+	4,9
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ЗР г ил 1	–	–	–	1,3
	<i>Pseudomonas putida</i> 3 ЗР	+	–	–	4,3
	<i>Escherichia vulneris</i> ЗР г ил 3	–	–	–	2,2
	<i>Ewingella</i> sp. Зргил2	–	–	–	1
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ЗР г 4 ил	–	–	–	1
	<i>Pseudomonas fluorescense</i> 4 ЗР	–	–	–	1,5
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР п 4 а	–	–	–	2,9
	<i>Hafnia</i> sp. ЗР п 5 а	–	–	–	2
	<i>Klebsiella</i> sp. ЗР п 6 а	–	–	–	1,4
	<i>Micrococcus</i> sp. ЗР п 8 а	–	–	+	4,1
	<i>Escherichia</i> sp. ЗР п 7 а	+	–	–	3,2
	<i>Escherichia</i> sp. ЗР с 1 а	+	–	–	2,5
	<i>Marinococcus</i> sp. Зрп9а	–	–	+	0,8
	<i>Pseudomonas azotoformans</i> . 5 ЗР	–	–	–	3,6
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР п 4 а	–	–	+	1
	<i>Yersinia</i> sp. ЗР с 1 с	+	–	–	1
	<i>Pantoea</i> sp. ЗР с 2 с	–	+	–	1,4
	<i>Proteus</i> sp. ЗР с 4 с	–	–	–	1,5
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР с 6 с	+	+	–	5,6
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР с 8 с	–	–	+	4,2
	<i>Bacillus</i> sp. ЗР с 9 с	+	+	–	1,2
<i>Pantoea</i> sp. 1 ЗР	+	–	+	6,1	
<i>Micrococcus</i> sp. 2 ЗР	–	–	–	1,3	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 3 ЗР	+	–	–	8,3	
<i>Micrococcus</i> sp. 4 ЗР	+	–	–	2,6	
<i>Escherichia</i> sp. 5 ЗР	–	–	–	1,5	
<i>Salmonella enterica</i> 6 ЗР	–	+	–	6,6	
<i>Escherichia</i> sp. 7 ЗР	–	–	–	1,2	
<i>Acinetobacter</i> sp. 8 ЗР	–	–	–	1,4	
<i>Actinomyces</i> sp. 9 ЗР	–	+	–	2,9	

Продолжение приложения 7

Б. Золотой Рог	<i>Bacillus</i> sp. 10 3P	+	–	–	1
	<i>Bacillus</i> sp. 11 3P	–	–	+	2,8
	<i>Micrococcus</i> sp. 12 3P	–	–	–	1,1
	<i>Klebsiella</i> sp. 13 3P	–	+	–	4,6
	<i>Escherichia</i> sp. 14 3P	–	–	–	3,4
	<i>Acinetobacter</i> 15 sp.	+	+	+	3,9
	<i>Escherichia</i> sp. 16 3P	+	+	+	2,7
	<i>Enterococcus</i> sp. 17 3P	–	–	–	2,6
	<i>Escherichia</i> sp. 18 3P	–	–	–	1,2
	<i>Sarcina</i> sp. 19 3P	–	–	–	1,4
	<i>Micrococcus</i> sp. 20 3P	–	–	–	3
	<i>Micrococcus</i> sp. 21 3P	–	–	–	2,1
	<i>Actinomyces</i> sp. 22 3P	–	–	–	1
	<i>Vibrio</i> sp. 23 3P	–	+	–	1
	<i>Enterobacter cloacae</i> 24 3P	–	–	+	2,2
	<i>Micrococcus</i> sp. 25 3P	–	–	–	1,2
	<i>Vibrio</i> sp. 26 3P	–	+	–	1,4
	<i>Escherichia</i> sp. 27 3P	–	–	–	1,9
	<i>Marinococcus</i> sp. 28 3P	–	–	–	1,1
	<i>Listeria monocytogenes</i> 29 3P	–	+	–	5,2
	<i>Micrococcus</i> sp. 30 3P	–	–	–	1,5
	<i>Listeria ivanovii</i> 31 3P	–	+	–	4,2
	<i>Bacillus</i> sp. 32 3P	+	+	+	3,9
	<i>Actinomyces</i> sp. 33 3P	–	–	–	2,4
	<i>Bacillus subtilis</i> 15 3P	–	–	–	1,9
	<i>Staphylococcus pasteurii</i> 34 3P		–	–	1,4
	<i>Pseudomonas fluorescence</i> 6 3P	+	+	+	4,86
	<i>Pseudomonas fluorescence</i> 9 3P	+	+	–	4,39
	<i>Chryseobacterium</i> sp. 10 3P	–	–	–	2,1
	<i>Pseudomonas fluorescence</i> 7 3P	+	+	+	5,31
	<i>Pseudomonas fluorescence</i> 8 3P	–	–	+	2,1
	<i>Pantoea</i> sp. 12 3P	–	–	–	1,2
	<i>Acinetobacter</i> sp. 18 3P	+	–	–	1
<i>Acinetobacter</i> sp. 37 3P	+	+	–	1	
<i>Hafnia</i> sp. 13 3P	–	–	–	4,33	
Б. Находка	<i>Pseudomonas</i> sp. Нп 1 м	–	–	+	2,8
	<i>Staphylococcus xylosus</i> Нп 3 м	+	–	–	2,6
	<i>Vibrio</i> sp. Нп 4 м	–	+	–	0,9
	<i>Vibrio</i> sp. Нп 6 м	–	–	–	2
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп 12 м	–	–	+	4,2
	<i>Staphylococcus pasteurii</i> Нп 14 м	+	+	–	2,4
	<i>Agrococcus boldri</i> Нп 15 м	–	+	+	2,6
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп 17 м	–	+	–	1,2
	<i>Pantoea</i> sp. Нп 20 м	–	–	+	3,4
	<i>Vibrio</i> sp. Нп 23 м	–	–	–	1,4
	<i>Kocuria rosea</i> Нс 1 м	+	+	–	8,2
	<i>Bacillus</i> sp. Нс 2 м	–	–	–	5,9
	<i>Hafnia</i> sp. Нг 1 м		+	–	3,5
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг 3 м	–	–	–	1,3
	<i>Actinomycetes</i> sp. Нг 4 м	–	+	–	1,1
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нг 5 м	–	–	+	2,8

Продолжение приложения 7

Б. Находка	<i>Bacillus</i> sp. Нг 6 м	–	–	+	4,7
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нг 9 м	+	–	+	4
	<i>Micrococcus</i> sp. Нг 12 м	–	–	–	3,8
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг 18 м	+	+	–	2,6
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп и 1	–	–	–	1,5
	<i>Bacillus</i> sp. Нп и 2	+	–	–	3,6
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп и 3		–	–	1,3
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп и 5	–	–	+	2,1
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нс и 7	+	–	–	2,7
	<i>Vibrio</i> sp. Нс и 8	+	–	–	1,1
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нс и 11	–	+	–	4,1
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нг и 12	–	–	+	2,9
	<i>Actinomyces</i> sp. Нп ил 1	–	–	–	1,2
	<i>Klebsiella</i> sp. Нп ил 2	–	–	+	4,8
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп ил 3	–	–	–	1
	<i>Ewingella</i> sp. Нп ил 4	+	+	+	2,6
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп ил 6	+	–	–	1
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нг ил 8	+	+	+	2,1
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп ил 7	–	–	–	1
	<i>Pseudomonas</i> sp. Нп ил 8	–	–	+	5
	<i>Vibrio</i> sp. Нп ил 9	–	–	–	1,1
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нс ил 1	+	–	–	1,2
	<i>Bacillus</i> sp. Нс ил 8	+	–	–	2,6
	<i>Klebsiella</i> sp. Нг ил 1	–	–	+	3,5
	<i>Escherihia</i> sp. Нг ил 2	–	–	+	3,4
	<i>Bacillus cereus</i> Нг ил 3	+	–	–	6,3
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг ил 4	+	–	–	1,3
	<i>Escherihia</i> sp. Нг ил 5	–	+	–	5,1
	<i>Vibrio</i> sp. Нг ил 6	+	–	–	1,4
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг ил 7	–	–	–	1,5
	<i>Proteus</i> sp. Нг ил 9	–	–	–	1,1
	<i>Bacillus</i> sp. Нп 2 а	+	–	+	2,1
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп 3 а	–	–		2,8
	<i>Micrococcus luteus</i> Нн 2 а		+	+	1,8
	<i>Bacillus</i> sp. Нн 3 а	–	–	–	1,8
	<i>Micrococcus luteus</i> Нс 3 а	–	–	+	1,1
	<i>Arthrobacter</i> sp. Нс 4 а	–	–	+	6,3
	<i>Micrococcus</i> sp. Нг 1 а	–	–	+	1,1
	<i>Arthrobacter</i> sp. Нг 2 а	–	+	–	1,5
	<i>Actinomyces</i> sp. Нп 5 а	–	–	–	1
	<i>Micrococcus</i> sp. Нп 6 а	–	–	+	1
	<i>Actinomyces</i> sp. Нн3с	–	–	–	2,1
	<i>Pantoea</i> sp. Нн2с	–	–	–	1
<i>Chryseobacterium</i> sp. Нс 3 а	–	–	–	1,8	
<i>Marinobacter</i> sp. Нп 4 а	–	–	–	2,1	
<i>Micrococcus</i> sp. Нп 20 с	–	–	–	1,2	
<i>Chryseobacterium</i> sp. Нн11с	–	–	+	4,3	
<i>Pseudomonas</i> sp. Нп 1с	+	–	–	2,8	
<i>Marinobacter</i> sp. Нп 2 с	–	–	–	1,5	
<i>Chryseobacterium</i> sp. Нп 3 с	–	+	–	4,2	
<i>Pseudomonas</i> sp. Нп 5 с	–	–	–	1,8	

Продолжение приложения 7

Б. Находка	<i>Escherichia</i> sp. Нп 6 с	–	+	–	1,3
	<i>Escherichia coli</i> 1 Нс 1 с	–	–	–	2
	<i>Vibrio</i> sp. Нс 2 с	–	–	–	1,8
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Нг 1с	–	–	–	1,5
	<i>Escherichia</i> sp. Нг 2 с	–	–	–	1,2
	<i>Arthrobacter</i> sp. 1 Н	–	–	–	1,3
	<i>Acinetobacter</i> sp. 2 Н	–	–	–	1,2
	<i>Micrococcus</i> sp. 3 Н	–	–	–	2,7
	<i>Micrococcus</i> sp. 4 Н	–	–	–	1
	<i>Acinetobacter</i> sp. 5 Н	–	–	–	1
	<i>Actinomyces</i> sp. 6 Н	–	–	–	1
	<i>Acinetobacter</i> sp. 7 Н	–	–	–	1
	<i>Actinomyces</i> sp. 8 Н	+	–	–	3,9
	<i>Acinetobacter</i> sp. 9 Н	–	–	–	1,4
	<i>Aeromonas</i> sp. 10 Н	+	+	+	3,6
	<i>Acinetobacter</i> sp. 11 Н	+	+	+	3
	<i>Escherichia</i> sp. 12 Н	–	–	–	4,3
	<i>Escherichia</i> sp. 13 Н	+	–	–	0,9
	<i>Vibrio</i> sp. 14 Н	–	–	–	1,2
	<i>Klebsiella</i> sp. 15 Н	+	–	–	2
	<i>Pantoea</i> sp. 16 Н	–	–	–	2,6
	<i>Corynebacterium</i> sp. 17 Н	–	–	–	1,1
	<i>Bacillus subtilis</i> 18 Н	+	–	+	4,9
	<i>Yersinia pestis</i> 19 Н	–	–	–	1,4
	<i>Micrococcus</i> sp. 20 Н	+	–	+	4,5
	<i>Micrococcus</i> sp. 21 Н	–	–	–	2,6
	<i>Pseudomonas</i> sp. 22 Н	–	–	–	1,5
<i>Bacillus</i> sp. 23 Н	–	–	–	2,9	
<i>Actinomyces</i> sp. 24 Н	–	–	–	1,1	
<i>Micrococcus</i> sp. 25 Н	+	–	–	4,3	
<i>Pseudomonas</i> sp. 26 Н	–	–	+	3,8	
<i>Serratia fonticola</i> 27 Н	–	–	–	1,3	
Зал. Восток	<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛп 1 м	+	–	–	2,6
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛп 2 м	–	–	–	1,5
	<i>Actinomyces</i> sp. ВЛп 3м	–	–	–	1
	<i>Bacillus</i> sp. ВЛп 6м	–	–	–	1,8
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛс 1 м	–	–	–	1
	<i>Salinicoccus</i> sp. ВЛс 2 м	–	–	–	1,6
	<i>Salinicoccus</i> sp. ВЛс 3 м	–	–	+	1,5
	<i>Salinicoccus</i> sp. ВЛс 4 м	+	–	–	1
	<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛс 5 м	–	–	+	2,1
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Вп и 1	–	–	–	1
	<i>Actinomyces</i> sp. Вп и 2	–	–	–	0,9
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Вп и 3	–	–	–	2,3
	<i>Acinetobacter</i> sp. Вс и 4	–	–	–	1
	<i>Micrococcus</i> sp. Вс и 5	–	–	–	2,8
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Вг и 9	–	–	–	1,1
	<i>Micrococcus</i> sp. Вг ил 1	–	–	–	0,9
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛ п 3 а	–	–	–	1,8
<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛ г 1 а	–	–	–	1	

Продолжение приложения 7

Зал. Восток	<i>Micrococcus</i> sp. ВЛ г 5 а	+	–	–	1,2
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛ н 1 а	–	–	–	1
	<i>Micrococcus</i> sp. ВЛ г 6 а	–	–	–	0,8
	<i>Micrococcus</i> sp. ВЛ п 3 а	+	–	–	1
	<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛ г 1 а	–	–	–	1,5
	<i>Pseudomonas</i> sp. ВЛ г 5 а	–	–	–	1,2
	<i>Vibrio</i> sp. ВЛ н 1 а	–	–	–	1
	<i>Bacillus</i> sp. ВЛ г 6 а	–	–	–	2,9
	<i>Actinomyces</i> sp. ВЛп 3с	–	–	–	1,2
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛп 4с	–	–	–	1,4
	<i>Marinococcus</i> sp. ВЛп 5с	–	–	–	1,5
	<i>Chryseobacterium</i> sp. ВЛп 6с	–	–	–	1
	<i>Bacillus</i> sp. ВЛс 1с	–	–	–	1
	<i>Marinococcus</i> sp. ВЛс 2с	–	–	–	1
	<i>Bacillus</i> sp. ВЛс 3с	–	–	–	1,2
	<i>Marinococcus</i> sp. ВЛс 4 с	–	–	–	1
	<i>Bacillus</i> sp. ВЛ с 6 с	–	–	+	1
	<i>Micrococcus</i> sp. ВЛс 7 с	–	–	–	3,2
	<i>Micrococcus</i> sp. ВЛс 10 с	–	–	–	1
	<i>Actinomyces</i> sp. ВЛс 11с	–	–	–	1
	<i>Carnobacterium inhibens</i> ВЛп 4 м	–	–	–	1
<i>Pseudomonas</i> sp. В 1	–	–	–	1,3	
<i>Micrococcus</i> sp. В 2	–	–	–	1,5	
Б. Киевка	<i>Pseudomonas putida</i> 1К	–	–	–	1
	<i>Pseudomonas psychrophila</i> 2 К	+	–	–	4,3
	<i>Chryseobacterium</i> sp. Кс и 20	–	–	–	1,1
	<i>Corynebacterium</i> sp. Кд и 23	–	–	–	1,4
	<i>Bacillus</i> sp. Кд и 24	–	–	–	2,9
	<i>Rhodococcus</i> sp. 1 К	–	–	–	1,6
	<i>Chryseobacterium</i> sp. 2 К	–	–	–	1,3
	<i>Pseudomonas putida</i> 3 К	–	–	–	2,7
	<i>Halomonas</i> sp. 4 К	–	–	–	1
	<i>Pseudomonas putida</i> 4 К	–	–	+	2,3
	<i>Micrococcus</i> sp. 6 К	–	–	–	1,2
	<i>Bacillus</i> sp. 7 К	–	–	–	1,5
	<i>Bacillus</i> sp. 8 К	–	–	–	1,7
	<i>Vibrio</i> sp. 9 К	–	–	–	1,3
	<i>Halomonas</i> sp. 10 К	–	–	–	2,2
	<i>Pseudomonas putida</i> 5 К	+	–	+	3
	<i>Micrococcus</i> sp. 12 К	–	–	–	1,2
	<i>Acetobacter</i> sp. 13 К	–	–	–	1
	<i>Acinetobacter</i> sp. 14 К	–	–	–	1
	<i>Vibrio</i> sp. 15 К	–	–	–	1,4
	<i>Pseudomonas panacis</i> 6 К	–	–	–	1,2
	<i>Micrococcus</i> sp. 17 К	–	–	–	1,5
	<i>Actinomyces</i> sp. 18 К	–	–	–	1,2
	<i>Actinomyces</i> sp. 19 К	–	–	–	1,8
	<i>Bacillus</i> sp. 20 К	–	–	+	3,3
	<i>Arthrobacter</i> sp. 21 К	–	–	–	1,4
	<i>Pseudomonas stutzeri</i> 7 К	–	–	–	1,2

Окончание приложения 7

Б. Киевка	<i>Bacillus</i> sp. 23 К	+	–	–	1,3
	<i>Arthrobacter</i> sp. 24 К	–	–	–	1,6
	<i>Pseudomonas azotoformans</i> 8 К	–	–	–	1,4
	<i>Arthrobacter</i> sp. 26 К	–	–	–	1,2
	<i>Pseudomonas psychrophila</i> 9 К	–	–	+	1
	<i>Micrococcus</i> sp. 28 К	–	–	–	1
	<i>Bacillus</i> sp. 29 К	+	–	–	1,9
	<i>Micrococcus</i> sp. 30 К	–	–	–	1,8
	<i>Micrococcus</i> sp. 31 К	–	–	–	1
	<i>Vibrio</i> sp. 32 К	–	–	–	1,2
	<i>Bacillus</i> sp. 33 К	+	–	–	1,1
	<i>Micrococcus</i> sp. 34 К	–	–	–	3,1
	<i>Micrococcus</i> sp. 35 К	–	–	+	1

Примечание: + есть реакция; – нет реакции