УДК 579.68:[579.222.2(98:282.256.341)

Е.В. Мамаева[1], П.С. Губарев[2], А.Г. Горшков[3], О.Н. Павлова[4], М.Ю. Суслова[5], О.Н. Изосимова[6], Т.В. Ходжер[7], Т.И. Земская[8]

ДЕГРАДАЦИЯ НЕФТИ БАКТЕРИЯМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ ДОННЫХ ОСАДКОВ КАРСКОГО МОРЯ И ОЗЕРА БАЙКАЛ

В модельном эксперименте оценена активность микроорганизмов, изолированных из донных осадков шельфа Карского моря и оз. Байкал в процессе деградации нефти. В условиях низкой температуры (+10°С) и солености среды от 0 до 30 г/л (хлорида натрия) установлена низкая степень конверсии фракции н-алканов при культивировании бактерий из Карского моря (не более 30%) и более высокая активность сообщества байкальских микроорганизмов (степень конверсии до 95%). Отмечен избирательный отклик бактериальных сообществ на изменение уровня минерализации среды: незначимый результат влияния на деградацию н-алканов при культивировании штаммов из Карского моря. Резкое ускорение процесса конверсии алкановой фракции нефти происходит при культивировании байкальскими микроорганизмами в среде хлорида натрия от 7,0 до 15 г/л. Эффект синергизма при деградации нефти в условиях совместного культивирования штаммов из озера Байкал и Карского моря весьма незначителен.

Ключевые слова: бактерии-нефтедеструторы, Карское море, оз. Байкал, н-алканы, нефть.

Введение. На шельфе Карского моря разведаны многочисленные нефтегазоносные структуры (до 100 млрд т условного топлива), на которые приходится более трети суммарных запасов углеводородов в экономической зоне России [Грамберг с соавт., 1993; Грамберг, Супруненко, 2000; Hirisch et al., 2006]. Очевидно, что в связи с освоением запасов углеводородов шельфовой зоны Арктики, возрастает вероятность техногенных угроз, способных нанести необратимый ущерб арктическим экосистемам. Изучение микроорганизмов арктической зоны показало, что темпы разложения нефтяных углеводородов в загрязненных почвах и водных объектах в высокоширотных районах Арктики проходят очень медленно вследствие низких температур и продолжительного ледового периода [Atlas, 1985; Rike et al., 2001; Whyte et al., 2001]. В условиях повышенной солености вод отмечено ингибирование деградации нефти [Haines et al., 1993; McMillen et al., 1995], уменьшение скорости роста и синтеза биомассы, задержка фазы роста микроорганизмов [Harris, 1981; Walworth et al., 2001]. Особые климатические и гидрологические условия Карского моря определяют различную соленость водных масс и уровень минерализации поровых вод донных осадков, что в свою очередь влияет на состав микробных сообществ [Мамаева с соавт., 2016]. Вопрос, насколько уровень минерализации поровых вод донных осадков Карского моря влияет на углеводородокисляющую активность микроорганизмов в настоящее время остается открытым. Озеро Байкал, так же, как и Карское море, характеризуется длительным ледовым периодом, низкими среднегодовыми температурами, наличием природных выходов нефти. По данным мониторинга поверхностных вод оз. Байкал установлено, что загрязнение нефтяными углеводородами имеет место только в районе природных нефтепроявлений [Горшков с соавт., 2010]. Ограниченная площадь этих участков свидетельствует об активных процессах биодеградации поступающей нефти микроорганизмами, адаптированными к специфическим условиям оз. Байкал [Павлова с соавт., 2008а; Павлова с соавт., 2012]. Влияние солености на процессы биодеградации нефти байкальскими микроорганизмами не изучалось, поскольку вода оз. Байкал характеризуется низкой минерализацией, в то время как донные осадки – неравномерным пространственным распределением поровых вод различного ионного состава [Атлас Байкала, 1993; Погодаева с соавт., 2007].

Основная задача работы – в условиях лабораторного эксперимента оценить углеводородокисляющую активность микроорганизмов, изолированных из донных осадков Карского моря и озера Байкал, в условиях низкой положительной температуры (+10°С) и разной солености среды (0–30 г/л).

[1] Лимнологический институт СО РАН, лаборатория микробиологии углеводородов, науч. с., канд. биол. н.; *e-mail*: vaynilllka@gmail.com

[2] Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, географический факультет, кафедра рационального природопользования, студент; *e-mail*: gubarevps@gmail.com

[3] Лимнологический институт СО РАН, лаборатория хроматографии, зав. лаб., доцент, канд. хим. н.; *e-mail*: gorshkov_ag@gmail.com

[4] Лимнологический институт СО РАН, лаборатория микробиологии углеводородов, ст. науч. с., канд. биол. н.; *e-mail*: pavlova@lin.irk.ru

[5] Лимнологический институт СО РАН, лаборатория водной микробиологии, науч. с., канд. биол. н.; *e-mail:* suslova@lin.irk.ru

[6] Лимнологический институт СО РАН, лаборатория хроматографии, аспирант; *e-mail*: smileoc@mail.ru

[7] Лимнологический институт СО РАН, лаборатория гидрохимии и химии атмосферы, зав. лаб., профессор, докт. хим. н.; *e-mail*: khodzher@lin.irk.ru

[8] Лимнологический институт СО РАН, лаборатория микробиологии углеводородов, зав. лаб., докт. биол. н.; *e-mail*: tzema@lin.irk.ru

Материалы и методы исследования. Для исследования были взяты чистые культуры бактерий, изолированные из донных отложений районов шельфа Карского моря в 2009 г. и из донных отложений двух районов оз. Байкал в 2013 г. Их филогенетический статус был определен по структуре нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК (**табл.**). Выделение ДНК из чистых культур и филогенетический анализ полученных последовательностей проводили по методу П.А. Рошель [1992]. Амплификацию генов 16S рРНК и *alk*-генов группы В осуществляли с использованием универсальных бактериальных праймеров 500l/1350r и alkB3f/alkB3r, соответственно [Lane, 1991; Sei et al., 2003]. ПЦР выполняли по методике, описанной ранее [Sambrook et al., 1989]. Полученные в ходе работы нуклеотидные последовательности чистых культур депонированы в базе данных GenBank под номерами: JN203043–JN203049, JN203014–JN203042, JN133442–JN133497, JX413060–JX413100, JX441119–JX441299, KT220707–KT220732.

Для оценки роли микроорганизмов в процессе биодеградации[9] нефти в психрофильных условиях и условиях различной солености были созданы три ассоциации микроорганизмов. Первая ассоциация (№ 1) была представлена бактериями родов: *Bacillus* sp., *Brevibacillus laterosporus*, *Aeromonas piscicola* и *Plantibacter* sp., изолированных из поверхностного слоя донных осадков шельфа Карского моря и Енисейского залива. Ассоциация № 2 – микроорганизмами, изолированными из донных осадков оз. Байкал района естественного нефтепроявления, расположенного у м. Горевой Утес и района грязевых вулканов Кукуйского каньона К2 (*Microbacterium* sp., *Paenibacillus* sp., *Rhodococcus* sp., *Rhodococcus* sp.). Бактериальная ассоциация № 3 включала штаммы сообществ № 1 и № 2. Активность созданных сообществ оценивали путем их культивирования на минеральной среде следующего состава (г/л): KH_2PO_4 – 2; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ – 0,01; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2; $FeSO_4$ – 0,01; NH_4NO_3 – 2; $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ – 0,02; Na_2HPO_4 – 3; Na_2CO_3 – 0,1, pH 7,2 с добавлением 0,05 мл сырой нефти (Ангарский нефтехимический завод, Россия) к 100 мл среды. Соленость обеспечивали добавлением в среду NaCl в концентрации: 0, 7, 15 и 30 г/л.

Односуточные культуры бактерий ($1 \cdot 10^7$ кл/мл) разных видов в равных количествах суспендировали в пробирке со стерильной водой, затем по 1 мл взвеси помещали в экспериментальные флаконы объемом 250 мл. Флаконы помещали на орбитальный шейкер «BioSan OS-10» (Латвия) и культивировали в течение 30 сут. при 10°С, 90 об/мин.

Хроматографический анализ экстрактов экспериментальных сред проводили с применением метода хроматомасс-спектрометрии, по методике описанной ранее, через 3, 8, 15 и 30 суток [Павлова с соавт., 2008б]. Количество н-алканов и ПАУ в экспериментальных смесях после культивирования микробного сообщества в течение фиксированного интервала времени рассчитывали, как среднее значение для двух параллельных экспериментов. Суммарная погрешность определения н-алканов и ПАУ оценена значением 24%, погрешность измерения площади пиков – 5%, погрешность измерения соотношения площадей – 7%. Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения пакета Microsoft Excel 2010.

Результаты исследований и их обсуждение. Эксперименты по биодеградации нефти в психрофильных условиях и различной солености показали, что среди использованных ассоциаций нефтеокисляющих штаммов менее активными деструкторами н-алканов являлась ассоциация штаммов, изолированных из донных осадков Карского моря (№ 1). Максимальная конверсия фракции н-алканов до 30% выявлена при культивировании бактерий из Карского моря в среде без добавления NaCl (рис. 1, А). С увеличением в среде концентрации NaCl процесс конверсии замедлялся. При содержании соли 7, 15 и 30 г/л количество н-алканов в нефти снижалось на 27, 22 и 15% за 30 суток соответственно.

Во второй серии экспериментальных образцов (№ 2) с байкальскими микроорганизмами максимальная степень деградации обнаружена после 30 сут. культивирования, в результате которого суммарное количество н-алканов в конце эксперимента не превышало 1,5‰ от их содержания в добавленной нефти (рис. 1, Б). За первые 8 сут. культивирования отмечено уменьшение концентрации н-алканов в 20 раз, причем за счет окисления низкомолекулярных гомологов. Доля н-алканов, имеющих 10–16 атомов углерода в цепи, во фракции н-алканов за этот интервал времени уменьшилась в 2,5 раза. При этом увеличилась доля высокомолекулярных углеводородов (рис. 2). Максимальная конверсия н-алканов за 8 сут. отмечалась на средах, содержащих 7 г/л NaCl, в то время как отсутствие NaCl в среде или повышение концентрации до 30 г/л сопровождалось увеличением времени (до 30 сут.), необходимым для максимальной конверсии (рис. 1, Б). Полная деградация н-алканов была зафиксирована на хроматограммах экстрактов при сохранении пиков изопреноидов и нафтено-ароматического «горба». На всех уровнях деградации фракция н-углеводородов характеризовалась монотонным гомологическим рядом и отношением четных к нечетным гомологам, близким к 1 (CPI=0,93–1,08). Во второй серии экспериментальных образцов за 15 сут. культивирования в добавленной нефти соотношение C_{17}/Pr уменьшилось от 1,13 до 0,34, соотношение C_{18}/Ph – от 1,38 до 0,46, в то время как соотношение изопреноидов Pr/Ph=1,41±0,1 сохранялось в интервале погрешности измерения. Уменьшение этих показателей также свидетельству-

[9] Под деградацией в настоящей работе понимается уменьшение концентрации н-алканов в модельной системе, обусловленное присутствием микроорганизмов.

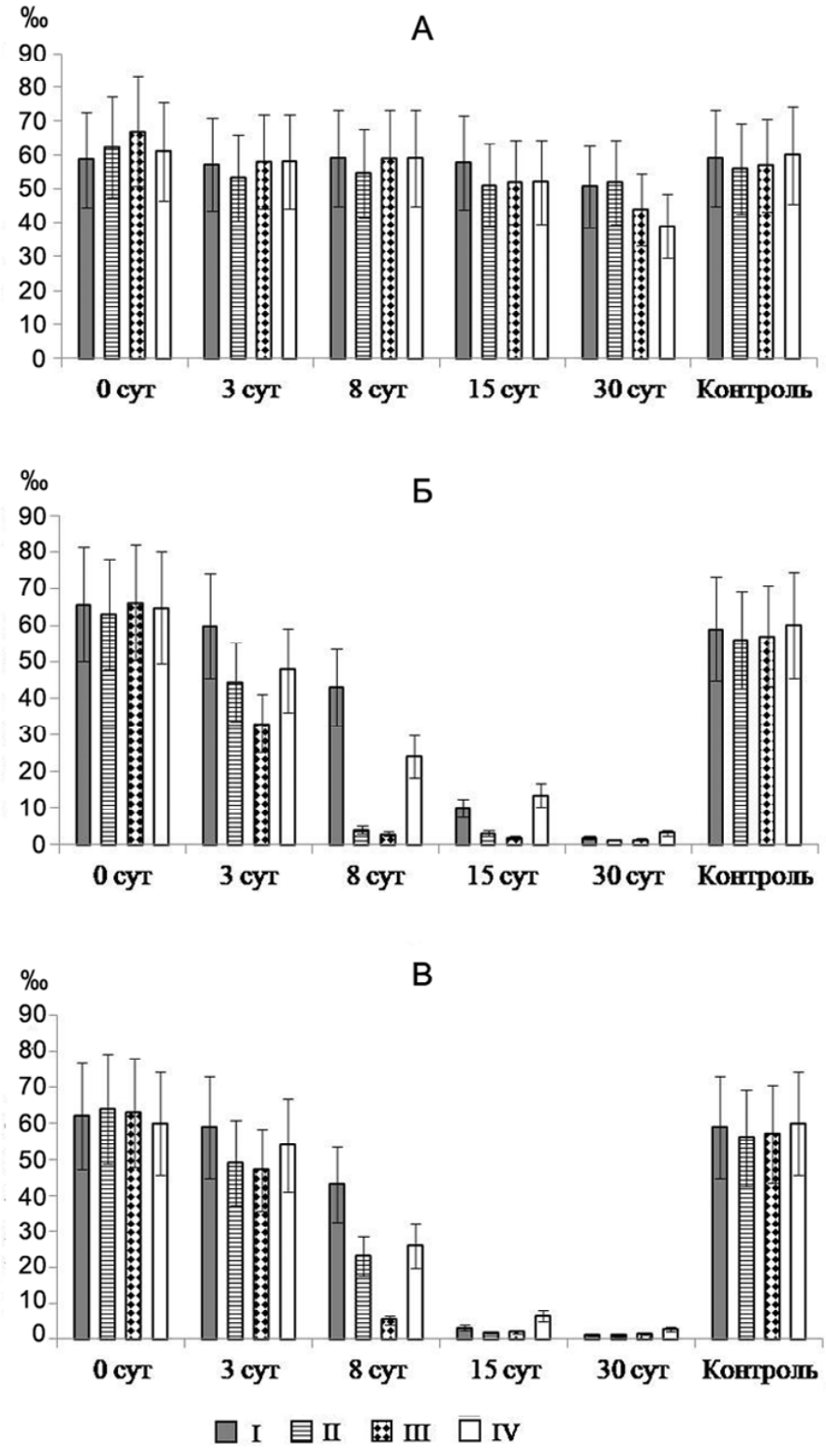

Рис. 1. Изменение суммарного содержания н-алканов при культивировании смеси штаммов микроорганизмов: А – изолированных из донных осадков Карского моря (№ 1); Б – из донных осадков оз. Байкал (№ 2); В – смесь № 1 и 2 на питательных средах с разной соленостью. Концентрация NaCl (г/л): I–30, II–15, III–7, IV–0

Fig. 1. Change in the total content of *n*-alkanes during the cultivation of a mixture with the strains of microorganisms: A – isolated from the bottom sediments of the Kara Sea (№ 1); Б – from the bottom sediments of the Baikal Lake (№ 2); B – mixture № 1 and № 2 on nutrient media with different salinity. Concentrations of NaCl (g/L): I–30, II–15, III–7, IV–0

ют о более интенсивном процессе окисления н-алканов ассоциацией байкальских бактерий. Следует отметить, что во всех сериях модельного эксперимента через 30 сут. культивирования количество ПАУ не изменялось, в том числе и доминирующих аренов – нафталинов и фенантренов. Это может быть обусловлено тем, что микроорганизмы наиболее легко разлагают н-алканы, затем изо-алканы и ароматические соединения [Michel, Hayes, 1999].

Аналогичная картина наблюдалась при совместном культивировании микроорганизмов, изолированных из донных осадков Карского моря и озера Байкал (рис. 1, В). Начало процесса конверсии н-алканов было зафиксировано на 8 сут. в экспериментальных флаконах, содержащих 7 или 15 г/л хлорида натрия. Необходимо отметить, что при культивировании бактериальной ассоциации № 3, результаты определения н-алканов в параллельных опытах отличались значительным разбросом от среднего значения конверсии алкановой фракции – от 0 до 90% (рис. 3), тогда как в сериях с ассоциациями микроорганизмов № 1 и 2 (рис. 1) полученные результаты характеризовались достаточно высокой сходимостью, относительное стандартное отклонение не превышает 17%. Отмеченный разброс результатов конверсии мог быть связан с антагонизмом в развитии микроорганизмов и, как следствие, торможения или ускорения процесса деградации н-алканов в зависимости от доминирования одного из микробных сообществ в среде культивирования. Очевидно, по этой причине не отмечен эффект синергизма в деградации нефти при совместном культивировании штаммов Карского моря и озера Байкал.

Наиболее распространенный механизм деструкции н-алканов прокариотами включает деградацию *alk*-системами. Установлено, что у 60% микроорганизмов наиболее часто выявляются алкангидроксилазы III группы (*alkB3*), обеспечивающие деградацию как короткоцепочечных, так длинноцепочечных н-алканов (имеющих более 20 атомов углерода в цепи) [Smits et al., 2002; van Beilen, Funhoff, 2007; Rojo, 2009; Piccolo et al., 2011]. Поэтому, для чистых культур микроорганизмов, используемых в эксперименте, проведен скрининг на наличие *alkB3* генов. Положительную ПЦР-реакцию с праймерами на *alk*-гены показали два штамма микроорганизмов, изолированные из донных осадков южной части Енисейского залива – штамм *Bacillus* sp. (Ар. 47–09) и *Aeromonas piscicola* (Ар. 46–09) и один штамм, изолированный из донных осадков оз. Байкал, отнесенный к роду *Rhodococcus* (BJC16-A50) (табл.).

Таким образом, в ассоциациях сообществ № 1 и 2 присутствовали штаммы, в геномах которых выявлены *alkB3* – гены, обеспечивающие деструкцию н-алканов в природных условиях. Можно предполагать, что более высокая активность штаммов байкальских микроорганизмов, выделенных из рай-

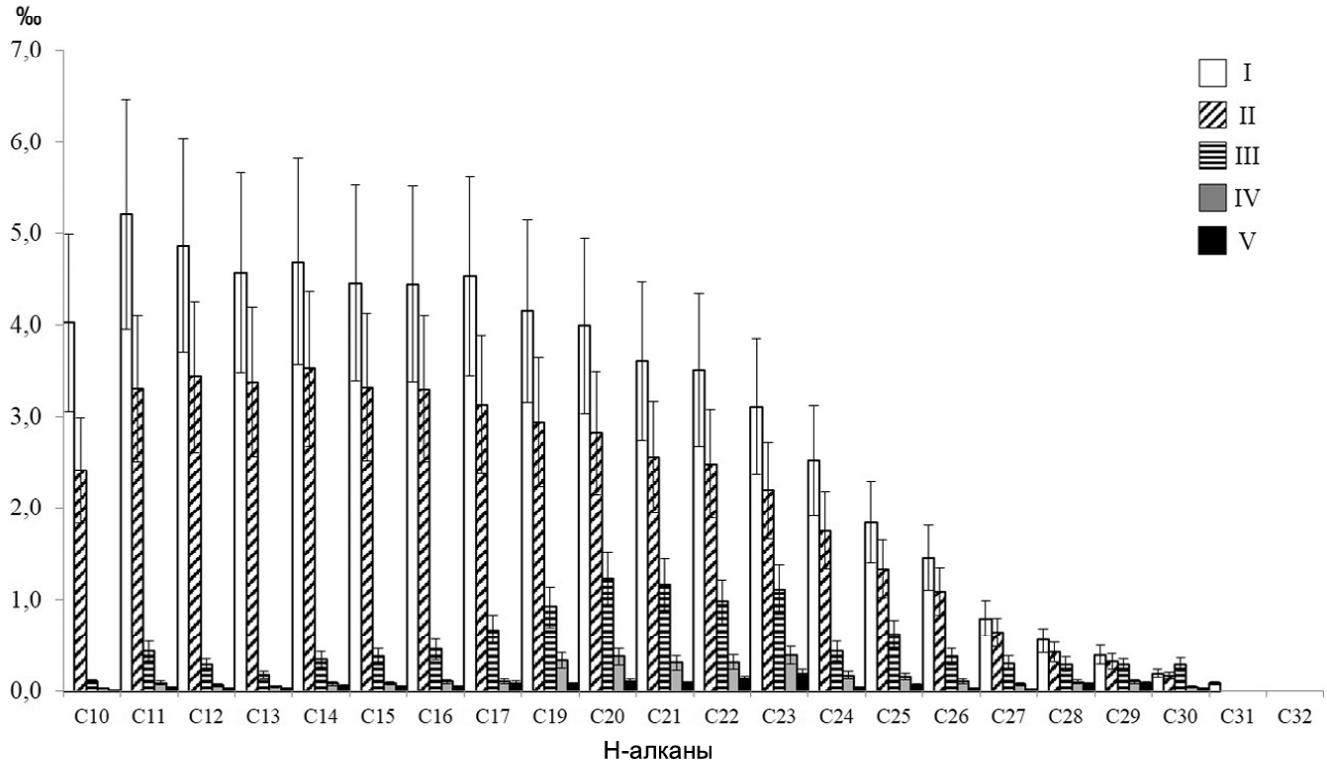

Рис. 2. Соотношение гомологов во фракции н-алканов при культивировании смеси штаммов микроорганизмов № 2 через: I–0 сут., II–3 сут., III–8 сут., IV–15 сут., V–30 сут. Концентрация NaCl 15 г/л

Fig. 2. The ratio of homologues in the fraction of *n*-alkanes during the cultivation of the strains mixture of microorganisms № 2 after: I–0 days, II–3 days, III–8 days, IV–15 days, V–30 days. Concentration of NaCl – 15 g/L

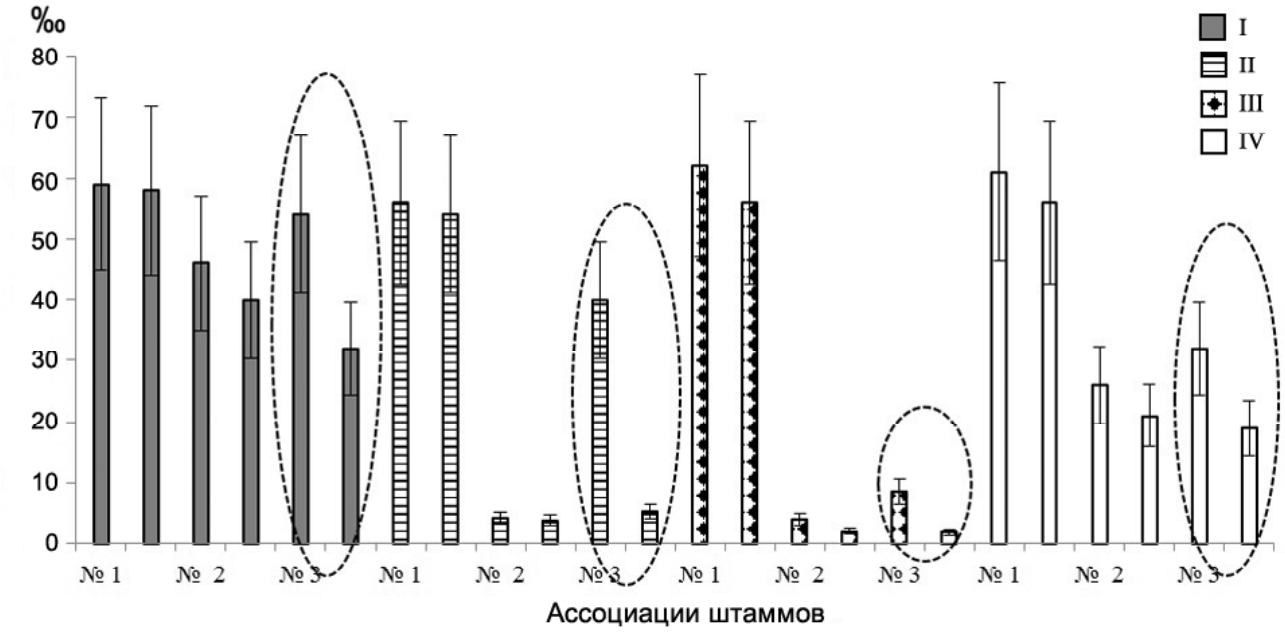

Рис. 3. Результаты определения суммарного содержания н-алканов в параллельных опытах через 8 сут. культивирования смеси штаммов № 1–3. Концентрация NaCl (г/л): I–30, II–15, III–7, IV–0. Овалом отмечены результаты определения в опытах со смесями штаммов № 3

Fig. 3. The total content of *n*-alkanes during the parallel experiments after 8 days of cultivation of the strains mixture № 1–3. NaCl concentrations (g/L): I–30, II–15, III–7, IV–0. The oval shows the results of the determination during the experiments with the mixtures of strains № 3

она естественного нефтепроявления, обеспечивается наличием в их геномах более широкого спектра генов, отвечающих за использование н-алканов. Аналогично галофильным прокариотическим популяциям [McGenity, 2010], способность деградировать углеводороды могла быть эволюционно закреплена в геномах байкальских микроорганизмов, обитающих в районе естественного выхода нефти. Вследствие геологических процессов нефть и продукты ее преобразования относятся к постоянным

Анализ штаммов чистых культур бактерий, выделенных из донных осадков шельфа Карского моря и оз. Байкал

Район выделения	№ станции	№ штамма	Длина, п. н.	Сходство, %	Ближайшая последовательность в NSBI и место ее выделения	ПЦР-анализ с праймерами на ген *alkB3*
Карское море						
Шельф Карского моря	Ст. 9	Ар. 16–09	1258	100	*Brevibacillus laterosporus* (DQ371289), Китай	–
Енисейский залив	Ст. 25	Ар. 46–09	1311	99	*Aeromonas piscicola* (HQ832417), коллекция типовых штаммов	+
		Ар. 47–09	1310	99	*Bacillus* sp. (EU308307), солеварня, Греция	+
	Ст. 26	Ар. 55–09	1262	99	*Plantibacter* sp. (AM396918), Антарктика	–
Озеро Байкал						
Грязевой вулкан «К-2»		Б–1	550	99	*Rhodococcus* sp. BJC16-A50 (JX483773), вечная мерзлота	–
		Б–15	550	99	*Rhodococcus* sp. BJC16-A50 (JX483773), вечная мерзлота	+
Нефтяной сип «Горевой Утес»		Б–11	550	99	*Microbacterium* sp. OSS 27 (EU124562), почва, загрязненная металлами	–
		Б–12	550	95	*Paenibacillus* sp. EWF52 (GU120640), почва с минеральными шпатами	–

компонентам экосистемы восточного побережья центральной котловины озера, образование которых произошло в олигоцен – миоцене [Конторович с соавт., 2007]. Метаболизм штаммов из Карского моря, скорее всего, ориентирован на другие субстраты, и, как следствие, они являются минорными участниками в процессах деструкции н-алканов нефти.

Экспериментальные исследования с природным бактериальным сообществом из района разлива нефти в 2010 г. в Мексиканском заливе свидетельствовали об определяющем влиянии температурного фактора на развитие и активность разных таксонов микроорганизмов – деструкторов углеводородов [Liu et al., 2017]. В нашем случае более низкая активность бактерий из Карского моря не может быть объяснена влиянием этого фактора, поскольку эксперимент проводился при температуре, приближенной к природным условиям исследованных водоемов.

Выводы:

– процесс биодеградации нефти наиболее интенсивно протекал под воздействием микроорганизмов, изолированных из донных осадков оз. Байкал. Более высокая углеводородокисляющая активность байкальских микроорганизмов обусловлена постоянным присутствием нефти и продуктов ее преобразования в экосистеме восточного побережья центральной котловины озера;

– концентрация соли в диапазоне от 7,0 до 15 г/л оказывает положительное влияние на углеводородокисляющую активность микроорганизмов, изолированных из оз. Байкал. В то время как отсутствие NaCl в среде для культивирования или ее высокие концентрации вызывают замедление процесса конверсии н-алканов;

– штаммы микроорганизмов, выделенные из шельфа Карского моря, оказались менее активными деструкторами нефти по сравнению с байкальскими штаммами. С увеличением в среде концентрации NaCl процесс конверсии замедляется;

– при оценке эффективности микробных сообществ в процессах биоремедиации на шельфе Карского моря необходимо учитывать значительные флуктуации солености вод, которые определяются привносом пресных вод реками Обь и Енисей (от 3–5 PSU в районе о. Диксон, до 34 PSU в открытом море).

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания по теме 0345–2016–0007 и Комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН II.1 № 0345–2018–0002.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Атлас Байкала / Под ред. Г.И. Галазия. М.: Сибирское отделение АН СССР, Межведомственный совет программы «Сибирь», Федеральная служба геодезии и картографии, 1993. 160 с.

Горшков А.Г., Маринайте И.И., Земская Т.И., Ходжер Т.В. Современный уровень нефтепродуктов в воде озера Байкал и его притоков // Химия в интересах устойчивого развития. 2010. Т. 18. С. 711–718.

Грамберг И.С., Сороков Д.С., Супруненко О.И. Нефтегазовые ресурсы российского шельфа // Разведка и охрана недр. 1993. № 8. С. 8–11.

Грамберг И.С., Супруненко О.И. Арктический шельф – будущее нефтегазовой промышленности России // Арктика на пороге третьего тысячелетия (ресурсный потенциал и проблемы экологии) / Под ред. И.С. Грамберга, Н.П. Лаверова СПб.: Наука, 2000. С. 133–144.

Конторович А.Э., Каширцев В.А., Москвин В.И., Бурштейн Л.М., Земская Т.И., Костырева Е.А., Калмычков Г.В., Хлыстов О.М. Нефтегазоносность отложений оз. Байкал // Геология и геофизика. 2007. Т. 48. № 12. С. 1346–1356.

Мамаева Е.В., Галачьянц Ю.П., Хабудаев К.В., Петрова Д.П., Погодаева Т.В., Ходжер Т.В., Земская Т.И. Метагеномный анализ микробных сообществ донных осадков шельфа Карского моря и Енисейского залива // Микробиология. 2016. Т. 85. № 2. С. 187–198.

Павлова О.Н., Земская Т.И., Горшков А.Г., Косторнова Т.Я., Хлыстов О.М., Парфенова В.В. Сравнительная характеристика микробных сообществ двух районов естественных нефтепроявлений озера Байкал // Изв. РАН. Сер. биол. 2008а. Т. 3. С. 333–340.

Павлова О.Н., Земская Т.И., Горшков А.Г., Парфенова В.В., Суслова М.Ю., Хлыстов О.М. Исследование микробного сообщества озера Байкал в районе естественных нефтепроявлений // Прикладная биохимия и микробиология. 2008б. Т. 2. № 3. С. 319–323.

Павлова О.Н., Ломакина А.В., Горшков А.Г., Суслова М.Ю., Лихошвай А.В., Земская Т.И. Микробные сообщества и их способность окислять n-алканы в районе разгрузки газонефтесодержащих флюидов в Среднем Байкале (мыс Горевой Утес) // Изв. РАН. Сер. биол. 2012. Т. 5. С. 540–545.

Погодаева Т.В., Земская Т.И., Голобокова Л.П., Хлыстов О.М., Минами Х., Сакагами Х. Особенности химического состава поровых вод донных отложений различных районов озера Байкал // Геология и геофизика. 2007. Т. 48. № 11. С. 1144–1160.

Atlas R.M. Effects of hydrocarbons on microorganisms and biodegradation in Arctic ecosystems in Petroleum Effects in the Arctic Environment / Ed. F.R. Engelhardt. UK, London: Elsevier, 1985. P. 63–99.

Haines J.R., Kadkhodayan M., Mocsny D.J., Jones C.A., Islam M., Venosa A.D. Effect of salinity, oil type, and incubation temperature on oil degradation. International symposium on in situ and on-site bioreclamation. USA: San Diego, 1993. P. 75–83.

Harris R.F. Effect of water potential on microbial growth and activity / Eds J.F. Parr, W.R. Gardner, L.F. Elliott. Madison: Soil Science Society of America, 1981. P. 23–95.

Hirsch R., Bezdek R., Wendling R. Peaking of world oil production and its mitigation // American Institute of Chemical Engineers Journal. 2006. V. 52. № 1. P. 1–7.

Lane D. J. 16S/23S rRNA sequencing. Wiley: New York, 1991. P. 115–175.

Liu J., Bacosa H.P., Liu Z. Potential environmental factors affecting oil-degrading bacterial populations in deep and surface waters of the Northern Gulf of Mexico // Front. Microbiol. 2017. V. 7. 2131 p.

McGenity T.J. Halophilic hydrocarbon degraders / Ed. K.N. Timmis. Berlin: Springer-Verlag, 2010. P. 1939–1951.

McMillen S.J., Requejo A.G., Young G.N., Davis P.S., Cook P.D., Kerr J.M., Gray N.R. Bioremediation potential of crude oil spilled on soil / Eds. R.E. Hinchee, C.M. Vogel, F.J. Brockman. San Diego: Battelle Press, 1995. P. 91–99.

Michel J., Hayes M.O. Weathering patterns of oil residues eight years after the Exxon Valdez oil spill // Mar. Poll. Bull. 1999. V. 38. № 10. P. 855–863.

Piccolo L.L., Pasquale C.D., Fodale R., Puglia A.M., Quatrini P. Involvement of an alkane hydroxylase system of Gordonia sp. Strain SoCg in degradation of solidn-alkanes // Appl. Environ. Microbiol. 2011. V. 77. № 4. P. 1204–1213.

Rike A.G., Burresen M., Instanes A. Response of cold-adapted microbial populations in a permafrost profile to hydrocarbon contaminants // Polar Record. 2001. V. 37. № 202. P. 239–248.

Rochelle P.A. DNA extraction for 16S rRNA gene analysis to determine genetic diversity in deep sediment communities // FEMS Microbiol. Lett. 1992. V. 100. P. 59–66.

Rojo F. Degradation of alkanes by bacteria // Environ. Microbiol. 2009. V. 11. № 10. P. 2477–2490.

Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular Cloning. New York: Cold Spring Harbor, 1989. 545 p.

Sei K., Mori K., Kohno T., Maki H. Development and application of PCR primers for monitoring alkane-degrading bacteria in seawater microcosm during crude oil degradation process // Journal of Chemical Engineering of Japan. 2003. V. 36. № 10. P. 1185–1193.

Smits T.H.M., Balada S.B., Witholt B., van Beilen J.B. Functional analysis of alkane hydroxylases from gram-negative and gram-positive bacteria // J. Bacteriol. 2002. V. 184. P. 1733–1742.

van Beilen J.B., Funhoff E.G. Alkane hydroxylses involved in microbial alkane degradation // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2007. V. 74. № 1. P. 13–21.

Walworth J., Braddock J.F., Woolard C. Nutrient and temperature interactions in bioremediation of cryic soils // Cold Regions Science and Technology. 2001. V. 32, № 2–3. P. 85–91.

Whyte L.G., Goalen B., Hawari J., Labbe D., Greer C.W., Nahir M. Bioremediation treatability assessment of hydrocarbon-contaminated soils from Eureka, Nunavut // Cold Reg. Sci. Technol. 2001. V. 32. P. 121–132.

Поступила в редакцию 26.02.2018
Принята к публикации 20.07.2018

E.V. Mamaeva[1], P.S. Gubarev[2], A.G. Gorshkov[3], O.N. Pavlova[4], M.Yu. Suslova[5], O.N. Izosimova[6], T.V. Khodzher[7], T.I. Zemskaya[8]

OIL DEGRADATION BY BACTERIA ISOLATED FROM BOTTOM SEDIMENTS OF THE KARA SEA SHELF AND THE BAIKAL LAKE

The activity of microorganisms isolated from the bottom sediments of the Kara Sea shelf and Lake Baikal in the process of oil degradation was evaluated in a model experiment. Under low temperature (+10°C) and mineralization from 0 to 30 g/L (sodium chloride) the reduced conversion of *n*-alkanes in the cultivation of bacteria from the Kara Sea (less than 30%) and higher activity of Baikal microorganisms community (conversion up to 95%) were revealed. The response of bacterial communities to the change in the mineralization of the medium is selective: nonsignificant result of the influence on *n*-alkanes degradation in the cultivation of the Kara Sea strains, and a sharp acceleration of conversion of the oil alkane fraction in the cultivation of Baikal microorganisms under 7,0 to 15 g/L of sodium chloride in the medium. The effect of synergism during oil degradation under conditions of co-cultivation of the strains from Lake Baikal and the Kara Sea is inappreciable.

Key words: oil-oxidizing microorganisms, the Kara Sea, the Baikal Lake, *n*-alkanes, oil.

Acknowledgements. The study was carried out under the state research theme 0345–2016–0007 and the Complex Program of Basic Research of the SB RAS II.1 № 0345–2018–0002.

[1] Limnological Institute SB RAS, Laboratory of Hydrocarbon Microbiology, Scientific Researcher, PhD. in Biology; *e-mail*: vaynilllka@gmail.com

[2] Lomonosov Moscow State University, Faculty of Geography, Department of Nature Management, student, *e-mail*: gubarevps@gmail.com

[3] Limnological Institute SB RAS, Laboratory of Chromatography, Associate Professor, Head of the Laboratory, PhD. in Chemistry; *e-mail*: gorshkov_ag@gmail.com

[4] Limnological Institute SB RAS, Laboratory of Hydrocarbon Microbiology, Senior Scientific Researcher, PhD. in Biology; *e-mail*: pavlova@lin.irk.ru

[5] Limnological Institute SB RAS, Laboratory of Aquatic Microbiology, Senior Scientific Researcher, PhD. in Biology; *e-mail*: suslova@lin.irk.ru

[6] Limnological Institute SB RAS, Laboratory of Chromatography, post-graduate student; *e-mail*: smileoc@mail.ru

[7] Limnological Institute SB RAS, Laboratory of Hydrochemistry and Atmosphere Chemistry, Professor, Head of the Laboratory, D.Sc. in Chemistry; *e-mail*: khodzher@lin.irk.ru

[8] Limnological Institute SB RAS, Laboratory of Hydrocarbon Microbiology, Head of the Laboratory, D.Sc. in Biology; *e-mail*: tzema@lin.irk.ru

REFERENCES

Atlas Bajkala [Atlas of the Baikal Lake] / Pod red. G.I. Galaziya. Moskva: Sibirskoe otdelenie AN SSSR, Mezhvedomstvennyj sovet programmy «Sibir», Federal'naya sluzhba geodezii i kartografii, 1993. 160 c. (in Russian).

Atlas R.M. Effects of hydrocarbons on microorganisms and biodegradation in Arctic ecosystems in Petroleum Effects in the Arctic Environment / Ed. F.R. Engelhardt. UK, London: Elsevier, 1985. P. 63–99.

Gorshkov A.G., Marinayte I.I., Zemskaya T.I., Khodzher T.V. Sovremennyj uroven' nefteproduktov v vode ozera Bajkal i ego pritokov [Actual concentrations of oil products in water of the Baikal Lake and its tributaries] // Himiya v interesah ustojchivogo razvitiya. 2010. V. 18. P. 711–718 (in Russian).

Gramberg I.S. Arkticheskij shel'f – budushchee neftegazovoj promyshlennosti Rossii [The Arctic shelf as a future of the oil and gas industry of Russia] / I.S. Gramberg, O.I. Suprunenko // Arktika na poroge tret'ego tysyacheletiya (resursnyj potencial i problemy ehkologii). SPb.: Nauka, 2000. P. 133–144 (in Russian).

Gramberg I.S., Sorokov D.S., Suprunenko O.I. Neftegazovye resursy Rossijskogo shel'fa [Oil and gas resources of the Russian shelf] // Prospect and protection of mineral resources. 1993. № 8. P. 8–11 (in Russian).

Haines J.R., Kadkhodayan M., Mocsny D.J., Jones C.A., Islam M., Venosa A.D. Effect of salinity, oil type, and incubation temperature on oil degradation. International symposium on in situ and on-site bioreclamation. USA: San Diego, 1993. P. 75–83.

Harris R.F. Effect of water potential on microbial growth and activity / Eds J.F. Parr, W.R. Gardner, L.F. Elliott. Madison: Soil Science Society of America, 1981. P. 23–95.

Hirsch R., Bezdek R., Wendling R. Peaking of world oil production and its mitigation // American Institute of Chemical Engineers Journal. 2006. V. 52. № 1. P. 1–7.

Kontorovich A.E., Kashirtsev V.A., Moskvin V.I., Burshtein L.M., Zemskaya T.I., Kostyreva E.A., Kalmychkov G.V., Khlystov O.M. Neftegazonosnost otlozhenij ozera Bajkal [Petroleum potential of the Baikal Lake] // Russian Geol. Geophys. 2007. V. 48. P. 1046–1053 (in Russian).

Lane D. J. 16S/23S rRNA sequencing. Wiley: New York, 1991. P. 115–175.

Liu J., Bacosa H.P., Liu Z. Potential environmental factors affecting oil-degrading bacterial populations in deep and surface waters of the Northern Gulf of Mexico // Front. Microbiol. 2017. V. 7. 2131 p.

Mamaeva E.V., Galach'yants Y.P., Khabudaev K.V., Petrova D.P., Pogodaeva T.V., Khodzher T.B., Zemskaya T.I. Metagenomnyj analiz mikrobialnyh soobschestv donnyh osadkov shelfa Karskogo moray i Enisejskogo zaliva [Metagenomic analysis of microbial communities of bottom sediments of the Kara Sea Shelf and the Yenisei Bay] // Microbiology. 2016. V. 85. № 2. P. 187–198 (in Russian).

McGenity T.J. Halophilic hydrocarbon degraders / Ed. K.N. Timmis. Berlin: Springer-Verlag, 2010. P. 1939–1951.

McMillen S.J., Requejo A.G., Young G.N., Davis P.S., Cook P.D., Kerr J.M., Gray N.R. Bioremediation potential of crude oil spilled on soil / Eds. R.E. Hinchee, C.M. Vogel, F.J. Brockman. San Diego: Battelle Press, 1995. P. 91–99.

Michel J., Hayes M.O. Weathering patterns of oil residues eight years after the Exxon Valdez oil spill // Mar. Poll. Bull. 1999. V. 38. № 10. P. 855–863.

Pavlova O.N., Lomakina A.V., Gorshkov A.G., Suslova M.Y., Likhoshvai A.V., Zemskaya T.I. Mikrobnye soobschestva i ih sposobnost okislyat n-alkany v rajone razgruzki gazoneftesoderzhaschih fluidov v Srednem Baikale (mys Gorevoj Utes) [Microbial communities and their ability to oxidize n-alkanes in the area of release of gas- and oil-containing fluids in mid-Baikal (Cape Gorevoi Utes)] // Biol. Bull. 2012. V. 39. № 5. P. 458–463 (in Russian).

Pavlova O.N., Zemskaya T.I., Gorshkov A.G., Kostornova T.Y., Parfenova V.V. Sravnitelnaya harakteristika mikrobnyh soobschestv dvuh rajonov estestvennyh nefteproyavlenij ozera Baikal [Comparative characterization of microbial communities in two regions of natural oil seepage in the Baikal Lake] // Biol. Bull. 2008a. V. 35. № 3. P. 287–293 (in Russian).

Pavlova O.N., Zemskaya T.I., Gorshkov A.G., Parfenova V.V., Suslova M.Y., Khlystov O.M. Issledovanie mikrobnogo soobschestva ozera Baikal v rajone estestvennyh nefteproyavlenij [Study on the Lake Baikal microbial community in the areas of the natural oil seeps] // Appl. Biochem. Microbiol. 2008b. V. 44. № 3. P. 287–291 (in Russian).

Piccolo L.L., Pasquale C.D., Fodale R., Puglia A.M., Quatrini P. Involvement of an alkane hydroxylase system of *Gordonia* sp. Strain SoCg in degradation of solidn-alkanes // Appl. Environ. Microbiol. 2011. V. 77. № 4. P. 1204–1213.

Pogodaeva T.V. Zemskaya T.I., Golobokova L.P., Khlystov O.M., Minami H., Sakagami H. Osobennosti himicheskogo sostava porovyh vod donnyh otlozhenij razlichnyh rajonov ozera Baikal [Specific features of the chemical composition of pore waters of bottom sediments in different Baikal basins] // Russ. Geol. Geophys. 2007. V. 48. P. 886–900 (in Russian).

Rike A.G., Burresen M., Instanes A. Response of cold-adapted microbial populations in a permafrost profile to hydrocarbon contaminants // Polar Record. 2001. V. 37. № 202. P. 239–248.

Rochelle P.A. DNA extraction for 16S rRNA gene analysis to determine genetic diversity in deep sediment communities // FEMS Microbiol. Lett. 1992. V. 100. P. 59–66.

Rojo F. Degradation of alkanes by bacteria // Environ. Microbiol. 2009. V. 11. № 10. P. 2477–2490.

Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular Cloning. New York: Cold Spring Harbor, 1989. 545 p.

Sei K., Mori K., Kohno T., Maki H. Development and application of PCR primers for monitoring alkane-degrading bacteria in seawater microcosm during crude oil degradation process // Journal of Chemical Engineering of Japan. 2003. V. 36. № 10. P. 1185–1193.

Smits T.H.M., Balada S.B., Witholt B., van Beilen J.B. Functional analysis of alkane hydroxylases from gram-negative and gram-positive bacteria // J. Bacteriol. 2002. V. 184. P. 1733–1742.

van Beilen J.B., Funhoff E.G. Alkane hydroxylses involved in microbial alkane degradation // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2007. V. 74. № 1. P. 13–21.

Walworth J., Braddock J.F., Woolard C. Nutrient and temperature interactions in bioremediation of cryic soils // Cold Regions Science and Technology. 2001. V. 32. № 2–3. P. 85–91.

Whyte L.G., Goalen B., Hawari J., Labbe D., Greer C.W., Nahir M. Bioremediation treatability assessment of hydrocarbon-contaminated soils from Eureka, Nunavut // Cold Reg. Sci. Technol. 2001. V. 32. P. 121–132.

Received 26.02.2018
Accepted 20.07.2018