

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «АСТРАХАНСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. Н. ТАТИЩЕВА»

*На правах рукописи*

БАТАЕВА  
Юлия Викторовна

**ОСОБЕННОСТИ МИКРОБНЫХ КОМПЛЕКСОВ АРИДНОЙ  
ЗОНЫ В УСЛОВИЯХ АГРО- И ТЕХНОГЕНЕЗА И ИХ  
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ**

1.5.11. – микробиология

1.5.6. – биотехнология

Диссертация на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

Научный консультант:  
доктор биологических наук, профессор  
Ирина Станиславовна Держинская

Астрахань – 2022

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	14
ВВЕДЕНИЕ.....	15
ГЛАВА 1. МИКРООРГАНИЗМЫ В ЭКОСИСТЕМАХ АРИДНОЙ ЗОНЫ.....	30
1.1. Природные территории аридной зоны.....	30
1.2. Экологические особенности природных территорий региона исследований.....	31
1.3. Экологические особенности техногенно и агрогенно преобразованных территорий.....	34
1.4. Микроорганизмы в жизнедеятельности экосистем аридной зоны.....	36
1.5. Экологические особенности цианобактерий в природных и техногенных экосистемах.....	39
1.5.1. Физиолого-биохимические особенности и адаптационные возможности цианобактерий.....	39
1.5.2. Циано-бактериальные симбиозы.....	45
1.5.2.1. Симбиоз цианобактерий и растений.....	45
1.5.2.2. Симбиоз цианобактерий с микроорганизмами.....	48
1.5.3. Антагонистическое действие цианобактерий на другие организмы.....	55
1.5.4. Цианобактерии в эволюции биосферы.....	56
1.5.5. Циано-бактериальные маты экстремальных местообитаний.....	59
1.5.6. Цианобактерии техногенных территорий.....	66
1.5.7. Участие цианобактерий в цветении водоемов и почв.....	71
1.6. Экологические особенности актиномицетов.....	74
1.6.1. Морфологические, физиологические и биохимические свойства актиномицетов.....	74
1.6.2. Развитие и роль актиномицетов в почвенных экосистемах.....	77
1.6.3. Положительное и антагонистическое воздействие актиномицетов на микроорганизмы.....	82
1.6.4. Симбиоз актиномицетов с растениями.....	87

1.7. Особенности метаболитов цианобактерий и актиномицетов с биологической активностью.....	88
1.7.1. Метаболиты цианобактерий и их биологическая активность.....	88
1.7.2. Особенности и синтез метаболитов актиномицетов.....	96
1.8. Биотехнологические возможности цианобактерий и актиномицетов.....	100
1.8.1. Биотехнологические возможности цианобактерий.....	100
1.8.2. Биотехнологические возможности актиномицетов и биопрепараты на их основе для агробиотехнологий.....	103
<b>ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ</b>	
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....</b>	<b>108</b>
2.1. Объекты исследований.....	108
2.2. Отбор проб.....	108
2.3. Химический анализ воды и почвы.....	110
2.4. Фиксация и концентрирование проб воды для изучения цианобактерий в составе фитопланктона.....	110
2.5. Получение накопительных культур водных цианобактерий.....	111
2.6. Получение накопительных культур почвенных цианобактерий.....	111
2.7. Расчет индексов сходства числа видов в почве.....	112
2.8. Идентификация цианобактерий и водорослей.....	112
2.9. Исследование физиологических групп микроорганизмов – спутников водных техногенных циано-бактериальных сообществ.....	113
2.9.1. Количественный учет бактерий круговорота серы.....	113
2.9.2. Количественный учет бактерий круговорота азота.....	114
2.9.3. Выделение сапротрофов из галофильного сообщества.....	115
2.10. Исследование актиномицетов в составе спутников почвенных циано-бактериальных сообществ.....	116
2.11. Выделение и количественный учет актиномицетов в составе почвенных микробных комплексов.....	116
2.12. Штаммы <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 и среды культивирования.....	117

2.13. Получение экстрактов штаммов актиномицетов.....	118
2.14. Получение экстрактов и фракции цианобактерий.....	119
2.15. Идентификация цианобактерий молекулярно-генетическими методами.....	120
2.16. Определение фитотоксичности изолятов актиномицетов на семенах томата.....	121
2.17. Определение культурально-морфологических и биохимических свойств и идентификация штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 молекулярно-генетическими методами.....	121
2.18. Проведение полногеномного анализа штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697.....	124
2.19. Получение ультратонких срезов клеток штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697.....	124
2.20. Определение влияния экстремальных значений гидрохимических факторов среды на цианобактерии.....	125
2.20.1. Определение влияния pH.....	126
2.20.2. Определение влияния температуры.....	126
2.20.3. Определение влияния концентраций фосфатов.....	126
2.20.4. Влияние концентрации солей.....	127
2.21. Определение фитотоксичности цианобактерий и их сообществ.....	127
2.21.1. Определение фитотоксичности в опыте с кресс-салатом.....	127
2.21.2. Определение фитотоксичности в опыте с пыреем бескорневищным.....	128
2.21.3. Определение влияния циано-бактериальных сообществ на рост томатов в ранней фазе развития растений.....	129
2.21.4. Определение эффективной концентрации циано-бактериальных сообществ для обработки растений.....	130
2.21.5. Определение влияния циано-бактериальных сообществ на рост хлопчатника.....	131

2.22. Определение фунгицидной активности культур цианобактерий и штаммов актиномицетов.....	133
2.23. Определение антиоксидантной активности цианобактерий и актиномицетов.....	134
2.24. Определение антибактериальной активности цианобактерий.....	135
2.25. Определение колонизирующей способности цианобактерий.....	136
2.26. Определение влияния пестицидов на цианобактерии.....	137
2.27. Определение ингибирования роста корня редиса штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883.....	138
2.28. Определение активности штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 в отношении вирусных патогенов растений.....	139
2.28.1. Создание инфекционного фона для определения противовирусной активности.....	139
2.28.2. Метод растений-индикаторов.....	140
2.28.3. Иммунохроматографический метод на иммунострипах.....	141
2.28.4. Метод ПЦР-диагностики в режиме реального времени.....	141
2.29. Определение трансформации экзогенных метаболитов (НОС) альгоцианобактериального комплекса в накопительной культуре.....	142
2.30. Определение компонентного состава метаболитов цианобактерий и актиномицетов методами ТСХ и ВЭТСХ.....	144
2.31. Определение синтезируемых органических кислот цианобактерий и актиномицетов методом ВЭЖХ.....	146
2.32. Методы исследования биологически активных веществ биомассы цианобактерий.....	147
2.33. Спектрофотометрический анализ цианобактерий.....	148
2.34. Газохроматографическое определение активных метаболитов (НОС) цианобактерий.....	148
2.35. Установление основных групп веществ метаболитов штаммов <i>S. carpaticus</i>	

RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 методом качественных реакций.....	149
2.36. Газохроматографическое определение активных метаболитов (НОС) штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697.....	150
2.37. Методы определения эффективности применения цианобактерии в биодegradации компонентов высокоминерализованных загрязненных вод.....	150
2.37.1. Методы определения физических показателей воды при биодegradации.....	151
2.37.2. Методы определения химических показателей воды при биодegradации.....	152
2.38. Определение физиологических групп микроорганизмов-спутников в составе циано-бактериальных сообществ, участвующих в биодegradации.....	153
2.38.1. Методы исследования гетеротрофных спутников.....	153
2.38.2. Методы исследования спутников, участвующих в круговороте азота..	154
2.38.3. Методы выделения спутников на модифицированных средах.....	155
2.38.4. Определение протеолитической и липолитической активностей микроорганизмов.....	155
2.39. Методы получения и применения экспериментальных образцов препаратов на основе цианобактерий и актиномицетов.....	156
2.39.1. Разработка технологии получения и применения экспериментальных образцов на основе <i>Anabaena constricta</i> IPPASB-2020....	156
2.39.2. Периодическое культивирование штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 в биореакторе с целью получения биомассы и антимикробных метаболитов.....	157
2.39.3. Методы получения экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883.....	158
2.40. Методы изучения безопасности цианобактерий и актиномицетов.....	159

2.40.1. Оценка безвредности цианобактерий и актиномицетов в отношении дафний.....	159
2.40.2. Методы изучения патогенности штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697....	160
2.41. Методики полевых экспериментов по проверке эффективности экспериментальных образцов биопрепаратов на основе цианобактерий и актиномицетов.....	161
2.41.1. Методы химического и микробиологического исследования почв.....	161
2.41.2. Методика полевых испытаний по влиянию цианобактерий на развитие хлопчатника (семейство Мальвовые).....	162
2.41.3. Методика полевых испытаний по влиянию цианобактерий на развитие перца (семейство Пасленовые).....	163
2.41.4. Методика полевых испытаний по влиянию цианобактерий на развитие томатов (семейство Пасленовые).....	164
2.41.5. Деляночные полевые испытания экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 на томате.....	165
2.41.6. Деляночные полевые испытания экспериментального образца биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697 на картофеле.....	167
2.42. Методы статистики.....	169

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ГЛАВА 3. АРИДНОСТЬ И АГРО И ТЕХНОГЕНЕЗ КАК ФАКТОРЫ ОБРАЗОВАНИЯ АДАПТИРОВАННЫХ К ЭКСТРЕМАЛЬНЫМ УСЛОВИЯМ СООБЩЕСТВ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ВОДНЫХ И ПОЧВЕННЫХ ТЕРРИТОРИЯХ.....	170
3.1. Аридность и техногенез как факторы формирования экстремальных условий в водоемах и почвах.....	170
3.2. Гидрохимическая характеристика и экстремальные условия в исследуемых техногенных водоёмах.....	175
3.3. Особенности основных типов почв региона исследований.....	182

ГЛАВА 4. ЦИАНОБАКТЕРИИ И АКТИНОМИЦЕТЫ КАК ОСНОВА МИКРОБНЫХ КОМПЛЕКСОВ ВОДОЕМОВ И ПОЧВ НИЖНЕЙ ВОЛГИ.....	186
4.1. Видовой состав цианобактерий водоемов аридной зоны.....	186
4.1.1. Видовой состав цианобактерий природных водоемов.....	186
4.1.2. Видовой состав цианобактерий техногенных водоемов.....	188
4.2. Исследование разнообразия видов цианобактерий в составе водных накопительных культур циано-бактериальных сообществ.....	190
4.2.1. Особенности накопительных культур природных водоемов.....	190
4.2.2. Особенности накопительных культур техногенных водоемов.....	192
4.2.3. Физиологические группы микроорганизмов-спутников в составе техногенных сообществ.....	201
4.2.3.1. Бактерии – спутники круговорота серы.....	201
4.2.3.2. Бактерии – спутники круговорота азота.....	205
4.2.3.3. Сапротрофы галофильного сообщества.....	207
4.3. Исследование видового состава цианобактерий и циано-бактериальных сообществ в почвенных экосистемах.....	209
4.3.1. Видовой состав цианобактерий почвенных экосистем.....	209
4.3.2. Актиномицеты – спутники циано-бактериальных сообществ.....	221
4.4. Актиномицеты как основа микробных комплексов почв аридной зоны...222	
ГЛАВА 5. ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ.....	229
5.1. Культурально-морфологическая характеристика почвенных циано-бактериальных сообществ и генотипическая характеристика <i>Anabaena constricta</i> IPPAS B-2020.....	229
5.2. Культурально-морфологическая характеристика водных циано-бактериальных сообществ и генотипическая характеристика <i>Phormidium ramosum</i> IPPAS B-2022.....	232
5.3. Выделение изолятов актиномицетов и характеристика их фитотоксических	



свойств.....	235
5.4. Описание штаммов актиномицетов.....	237
5.4.1. Культурально-морфологические и физиолого-биохимические свойства штамма <i>Streptomyces carpaticus</i> RCAM04697.....	237
5.4.2. Генотипическая характеристика штамма <i>Streptomyces carpaticus</i> RCAM04697.....	239
5.4.2.1. Анализ нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК.....	239
5.4.2.2. Полногеномный анализ.....	241
5.4.3. Культурально-морфологические и физиолого-биохимические свойства штаммов <i>Nocardiopsis umidischolae</i> RCAM04882 и <i>Nocardiopsis umidischolae</i> RCAM04883.....	241
5.4.4. Генотипическая характеристика штаммов <i>Nocardiopsis umidischolae</i> RCAM04882 и <i>Nocardiopsis umidischolae</i> RCAM04883.....	244
ГЛАВА 6. СВОЙСТВА ЦИАНОБАКТЕРИЙ И ЦИАНО-БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ.....	246
6.1. Трансформация видов и устойчивость водных цианобактерий к экстремальным значениям гидрохимических факторов.....	246
6.1.1. Отношение цианобактерий к рН среды.....	247
6.1.2. Отношение цианобактерий к температурному режиму.....	250
6.1.3. Отношение цианобактерий к количеству фосфатов.....	252
6.1.4. Отношение цианобактерий к степени солености.....	266
6.2. Исследование фитотоксичности цианобактерий и их сообществ в лабораторных условиях.....	269
6.2.1. Исследование фитотоксичности цианобактерий в опыте с кресс-салатом (семейство Капустные).....	269
6.2.2. Исследование фитотоксичности сообществ цианобактерий в опыте с пыреем бескорневищным (семейство Злаковые).....	271
6.2.3. Исследование влияния сообществ цианобактерий на рост томатов в ранней фазе развития растений (семейство Пасленовые).....	273

6.2.4. Определение эффективной концентрации цианобактерий для обработки растений (семейство Пасленовые).....	276
6.2.5. Исследование фитотоксичности цианобактерий в опыте с хлопчатником (семейство Мальвовые).....	281
6.3. Антагонистическая активность цианобактерий по отношению к фитопатогенным грибам родов <i>Fusarium</i> , <i>Phythium</i> , <i>Alternaria</i> .....	286
6.4. Антиоксидантная активность цианобактерий .....	297
6.4.1. Исследование антиоксидантной активности почвенных культур цианобактерий.....	297
6.4.2. Исследование антиоксидантной активности водных техногенных культур цианобактерий.....	299
6.5. Исследование антибактериальной активности водных культур цианобактерий.....	300
6.6. Исследование колонизирующей способности почвенных цианобактерий.	301
6.7. Исследование устойчивости цианобактерий к пестицидам.....	304
ГЛАВА 7 СВОЙСТВА ШТАММОВ АКТИНОМИЦЕТОВ.....	307
7.1. Исследование фитотоксичности штаммов актиномицетов в опыте с редисом (семейство Капустные).....	307
7.2. Исследование активности штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 в отношении вирусных патогенов растений.....	310
7.3. Антагонистическая активность штаммов актиномицетов по отношению к фитопатогенным грибам родов <i>Fusarium</i> , <i>Phythium</i> , <i>Alternaria</i> .....	312
7.4. Антиоксидантные свойства штаммов актиномицетов.....	313
ГЛАВА 8. ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА МЕТАБОЛИТОВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ И АКТИНОМИЦЕТОВ.....	316
8.1. Исследование трансформации экзогенных метаболитов (НОС) альго-цианобактериального комплекса на основе природного водоема (р. Ахтуба)..	316
8.2. Исследование компонентного состава метаболитов техногенных водных циано-бактериальных сообществ и <i>Phormidium ramosum</i>	

В.-Peters. IPPASB-2022.....	330
8.2.1. Исследование состава метаболитов культур цианобактерий методом ТСХ, ВЭТСХ.....	330
8.2.2. Исследование состава органических кислот цианобактерий.....	334
8.3. Исследование компонентного состав метаболитов почвенных культур цианобактерий.....	335
8.3.1. Биологически активные вещества биомассы цианобактерий.....	335
8.3.2. Исследование метаболитов циано-бактериальных сообществ методом спектрофотометрии.....	337
8.3.3. Исследование состава метаболитов цианобактерий методами ТСХ и ВЭТСХ.....	338
8.3.4. Исследование состава органических кислот цианобактерий.....	342
8.3.5. Исследование состава НОС цианобактерий.....	344
8.4. Исследование химического состава метаболитов штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883.....	345
8.4.1. Исследование состава метаболитов штаммов актиномицетов методом качественных реакций.....	346
8.4.2. Исследование метаболитов штаммов актиномицетов методом ТСХ.....	347
8.4.3. Исследование состава органических кислот штаммов актиномицетов...	356
8.4.4. Исследование НОС метаболитов штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697.....	362
ГЛАВА 9. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ БИОДЕГРАДАЦИИ ЦИАНОБАКТЕРИЯМИ КОМПОНЕНТОВ ВЫСОКОМИНЕРАЛИЗОВАННЫХ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ВОД.....	368
9.1. Биодegradация компонентов пищевых засоленных сточных вод при интродукции цианобактерий в экспериментальных условиях.....	368
9.1.1. Исследование физических показателей при биодegradации сточных вод цианобактериями.....	368
9.1.2. Исследование химических показателей при биодegradации сточных вод цианобактериями.....	371
9.2. Физиологические группы микроорганизмов - спутников в составе циано-	

бактериальных сообществ.....	373
9.2.1. Исследование гетеротрофных спутников.....	373
9.2.2. Исследование спутников, участвующих в круговороте азота.....	378
9.2.3. Исследование гетеротрофных спутников и их активности на модифицированных средах.....	382
ГЛАВА 10. ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ЦИАНОБАКТЕРИЙ И АКТИНОМИЦЕТОВ.....	386
10.1. Разработка технологии получения и применения экспериментальных образцов на основе <i>Anabaena constricta</i> IPPASB-2020.....	386
10.2. Получение экспериментальных образцов препаратов на основе штаммов <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883, <i>S. carpaticus</i> RCAM04697.....	387
10.2.1. Оптимизация состава питательных сред и условий глубинного культивирования с целью получения биомассы и антимикробных метаболитов.....	388
10.2.2. Изготовление экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883.....	392
ГЛАВА 11. ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ ШТАММОВ АКТИНОМИЦЕТОВ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ.....	395
11.1. Определение ингибирующего эффекта штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 и <i>Anabaena constricta</i> IPPASB-2020 в лабораторном опыте на дафниях.....	395
11.2. Изучение патогенности штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697 для теплокровных животных.....	396
ГЛАВА 12. ПОЛЕВЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО ПРОВЕРКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ЦИАНОБАКТЕРИЙ И АКТИНОМИЦЕТОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ ОТ ВИРУСОВ, ГРИБОВ И ПОВЫШЕНИЯ УРОЖАЙНОСТИ	

РАСТЕНИЙ.....	398
12.1. Исследование химического и микробиологического состава опытной почвы.....	398
12.2. Влияние циано-бактериальных сообществ на развитие хлопчатника (семейство Мальвовые).....	401
12.3. Влияние цианобактерий <i>Anabaena constricta</i> IPPAS В-2020 на развитие перца (семейство Пасленовые).....	409
12.4. Влияние цианобактерий <i>Anabaena constricta</i> IPPAS В-2020 на развитие томатов (семейство Пасленовые).....	410
12.5. Влияние штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 на рост и развитие томатов.....	411
12.6. Влияние штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697 на развитие и вирусные болезни картофеля.....	425
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	433
ВЫВОДЫ.....	436
РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ РАБОТЫ.....	440
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	441
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	525
СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.....	548

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГКМ – Астраханское газоконденсатное месторождение

ЕСР - ёмкость сезонного регулирования

ЗПО - земельные поля орошения

ПУОП - полигон утилизации отходов производства

ГПЗ – газоперерабатывающий завод

АЦКК - Астраханский целлюлозно-картонный комбинат

НОС – низкомолекулярные органические соединения

ЦБС – циано-бактериальное сообщество

Кл/г – клеток бактерий в 1 грамме циано-бактериального сообщества

КОЕ/г–колониеобразующих единиц микроорганизмов в 1 грамме

РА – рыбный агар

ДЗИ – диаметр зоны ингибирования

МПА – мясопептонный агар

МПБ – мясопептонный бульон

РПБ – рыбопептонный бульон

ОМЧ – общее микробное число

ТСХ – тонкослойная хроматография

ВЭТСХ - высокоэффективная тонкослойная хроматография

ВЭЖХ - высокоэффективная жидкостная хроматография

ГХ/МС – газовая хроматография и масс-спектрометрия

АОА – антиоксидантная активность

ДФПГ – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил

УВК - Y-вирус картофеля (*PotatoYpotyvirus, PVY*)

ХВК - X-вирус картофеля (*Potato X potyvirus, PVX*)

ВСЛК - вирус скручивания листьев картофеля (*Potato leafroll virus, PLRV*)

ВМТо - вирус мозаики томата (*Tomato mosaic virus, ToMV*)

ВОМ - вирус мозаики огурца (*Cucumber Mosaic Virus, CMV*)

ВБТ - вирус бронзовости томата (*Tomato spotted wilt virus, TSWV*)

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Жизнедеятельность на планете обеспечивается и поддерживается комплексом микробных сообществ, принимающих участие в круговоротах веществ, формирующих минеральное и органическое вещество водоемов и почв, трансформирующих любые соединения природного происхождения, сохраняющих метаболическое равновесие в природе, способствующих устойчивому функционированию экосистем, в том числе и в экстремальных условиях. Нижняя Волга (Астраханская область) находится в самой засушливой части России с чертами резкой континентальности в пустынной природноклиматической зоне, где все природные процессы протекают в экстремальных условиях, заключающихся в значительных колебаниях температуры, присутствии высокоминерализованных грунтовых вод, соляных куполов, подпирающих верхние горизонты почвенного покрова, подвижных песках и засухе (Глазер, 1986).

На микробные комплексы, формируемые на данной территории, накладывается нагрузка за счет аридности климата, техногенеза - добычи газа, гипса, соли, и агрогенеза – освоения сельскохозяйственных угодий, что приводит к образованию техногенных и деградированных территорий. Аридный климат, природные ландшафты, техногенно и агрогенно преобразованные территории определяют экологические и физико-химические условия существования организмов, которые характеризуются высокой активностью (Гаель, Штина, 1974; Новичкова-Иванова, 1980; Зенова и др., 2011; Каширская и др., 2015).

Наиболее адаптированными к таким условиям являются цианобактерии и актиномицеты, которые заселяют все известные экологические ниши, в том числе и экстремальные (Заварзин, 1983, 1993, 2003; Герасименко, 1986, 1996, 2003; Андреюк и др., 1990; Жилина, 1991). Их адаптация связана с эволюционными процессами, так как бактериальные комплексы болотных и пустынных экосистем можно рассматривать в качестве ступеней эволюции микробного мира при переходе от водного к наземному образу жизни (Роль почвы., 2011). «Зеленые автотрофные организмы образуют главную основу

единого монолита жизни. Они не только дают возможность существования всем другим организмам и человечеству, но они определяют химию земной коры» (Вернадский, 1940). Actinomyces доминируют в почвах пустынь, характеризуются мицелиальным строением хотя бы на одной из стадий развития, как приспособления к обитанию в твердофазном субстрате, являются устойчивыми к высушиванию и повышенной инсоляции (Роль почвы., 2011).

Изучение функциональной активности цианобактерий и актиномицетов является перспективным направлением для фундаментальных и прикладных исследований при использовании штаммов или их вторичных метаболитов, направленных на развитие органического земледелия, устойчивости природных и техногенных экосистем. Развиваясь на аридных территориях цианобактерии и актиномицеты продуцируют комплекс метаболитов различного состава с алифатическими, карбоциклическими и гетероциклическими, азотистыми, кислород- и серусодержащими соединениями (Дембицкий и др., 2001; Кирпенко и др., 2010; Гольдин, Гольдина, 2011; Батаева и др., 2014; Широких, 2017; Amaresan, 2018). Цианобактерии с фитостимулирующими, деструкционными свойствами используют как биоудобрения для стимуляции роста растений, повышения урожайности и плодородия почв; как биоагенты для очистки сточных вод и биоремедиации техногенных территорий (Дзержинская, 1993; Батаева, 2005; Домрачева и др., 2019; Kaushik, 2014). Actinomyces с противомикробными свойствами применяют в виде биоконтролирующих агентов, средств защиты растений от инфекций и насекомых, являющихся основой современных биопрепаратов Фитоверм, Вертимек, Мекар, Биокилл, Оберон Рапид (Долженко, 2009; Castillo et al., 2006; El-Tarabily et al., 2006; Amaresan et al., 2018).

Таким образом, изучение цианобактерий и актиномицетов в экосистемах аридной зоны является крайне востребованным, как с точки зрения получения представлений о структуре, составе и свойствах комплекса микроорганизмов и их метаболитов, что позволяет охарактеризовать их роль и участие в функционировании аридных территорий, так и создания на их основе



биоудобрений и биопрепаратов для эффективности и оздоровления агроэкосистем, биоремедиации техногенных экосистем, что имеет важное практическое значение.

**Степень разработанности темы.** К настоящему времени накоплен материал по изучению микробных комплексов экосистем с аридным климатом (Дембицкий, 2002; Халилова и др., 2017). Изучены свойства микроорганизмов, позволяющих использовать их в качестве биопрепаратов – биоудобрений, средств защиты растений, деструкторов микробиологического происхождения (Батаева, 2005; Панкратова и др., 2008; Долженко, 2009; Домрачева и др., 2020, 2021; Патент №2764304; El-Tarabily et al., 2006; Amaresan et al., 2018). Исследованы гены, кодирующие и регулирующие синтез биологически активных веществ актиномицетов и цианобактерий (Манучарова, 2012; Asano, 2006; Кокшарова, 2008; Grünewald, 2006; Efimenko et al., 2016; Manucharova et al., 2017, 2020, 2021). Однако мало изучены микроорганизмы, с полезными свойствами, синтезирующие биологически активные вторичные метаболиты, развивающиеся в экстремальных аридных зонах. Аридные природно-климатические условия Астраханской области отличаются специфичностью, что объясняет необходимость исследования свойств микроорганизмов, которые можно применять на таких территориях для повышения биоразнообразия, стимуляции роста и защиты растений, деструкции загрязняющих органических веществ.

**Целью исследования** являлось исследование видового состава и структуры комплексов цианобактерий и актиномицетов водных и наземных экосистем, обоснование их биотехнологической роли в аридной зоне как микроорганизмов с аллелопатическими, противовирусными, фитостимулирующими, фунгицидными, антиоксидантными, деструкционными и другими свойствами, являющихся источниками ценных экзометаболитов, а также разработка технологий получения и применения экспериментальных образцов биопрепаратов на их основе.

**Задачи исследования:**

1. Провести сравнительный анализ видового и группового состава цианобактериальных сообществ природных и техногенно преобразованных экосистем на территории Астраханского региона;

2. Выделить цианобактерии из техногенных и природных водных и почвенных экосистем региона исследований с фитостимулирующими, фунгицидными, колонизирующими, антиоксидантными, деструкционными свойствами, идентифицировать наиболее активные изоляты и определить их таксономическое положение;

3. Исследовать взаимосвязь физико-химических факторов среды и видового состава цианобактерий в накопительных культурах, выявить особенности организации сообществ в различных экосистемах;

4. Исследовать в динамике состав и трансформацию экзогенных метаболитов водного альго-цианобактериального комплекса;

5. Обосновать роль цианобактерий в стимуляции роста растений, защите от фитопатогенов, биодegradации загрязняющих веществ, и определить состав синтезируемых метаболитов;

6. Выделить из засоленных почв региона исследований актиномицеты, с фитостимулирующей, противовирусной и фунгицидной активностью, определить таксономическое положение, описать морфологические, физиолого-биохимические и молекулярно-генетические особенности наиболее активных изолятов;

7. Выявить и охарактеризовать основной состав биологически активных метаболитов штаммов актиномицетов;

8. Разработать экспериментальные образцы препаратов полифункционального действия – средств защиты растений и биоудобрений на основе отобранных безопасных штаммов актиномицетов и культуры цианобактерий;

9. Установить возможность применения и эффективность использования цианобактерий и актиномицетов для повышения урожайности и защиты растений от фитопатогенов в лабораторных и полевых экспериментах.

**Научная новизна.** Впервые обобщены многолетние исследования распространения различных видов цианобактерий и состава циано-бактериальных комплексов в разнотипных природных и техногенных водных и почвенных экосистемах Астраханского региона. Показано, что наибольшее разнообразие видов цианобактерий присуще озерным экосистемам Волго-Ахтубинской поймы и аллювиально-луговым почвам. Основой фототрофных комплексов почв является род *Phormidium*, водных экосистем – *Oscillatoria*.

В накопительных культурах на основе разнотипных почв установлено, что представители отдела Cyanobacteria составляют 71 % от общего числа изученных почвенных фототрофов. Анализ всех почвенных образцов позволил выявить 95 видовых и внутривидовых таксонов цианобактерий, относящихся к 2 классам (Chroococcophyceae, Hormogoniophyceae), 4 порядкам (Chroococcales, Oscillatoriales, Nostocales, Pleurocapsales), 11 семействам, 12 родам. Анализ экологических особенностей показал доминирование Р – жизненной формы.

Наибольшее многообразие и распространение почвенных комплексов актиномицетов встречалось в образцах почв с повышенной степенью засоления (содержанием плотного (сухого) остатка от 0,3% до 2,9%).

Впервые изучены техногенные водоёмы на территории Астраханского газоконденсатного и Баскунчакского гипсового месторождений на присутствие цианобактерий, где идентифицированы представители родов: *Phormidium*, *Oscillatoria*, *Spirulina*, *Gloeocapsa*, *Synechococcus*, *Synechocystis*.

В накопительных культурах, из техногенных водоёмов с экстремальными гидрохимическими условиями, впервые получены циано-бактериальные сообщества резистентные по отношению к высокому содержанию неорганических фосфатов ( $K_2HPO_4$ ) от 0,04 г/л до 10 г/л, и общему содержанию солей от 10 г/л до 400 г/л, при этом под влиянием концентраций фосфора происходит изменение морфологии сообществ. Под влиянием реакции среды, температуры и общего содержания солей структура циано-бактериальных сообществ не изменяется.

Впервые идентифицированы экзогенные метаболиты альго-цианобактериального сообщества, выделенного из природного водоема реки Ахтубы Астраханского региона, включающие насыщенные, ненасыщенные и ароматические углеводороды, карбоновые кислоты, фенольные и терпеновые соединения и их производные. Показано, что с развитием сообщества происходят изменения не только состава и количества водорослей и бактерий, но и вторичных метаболитов, проявляющееся в увеличении концентрации и разнообразия алкановых углеводородов.

Впервые исследован фитостимулирующий, фунгицидный, колонизирующий и антиоксидантный эффекты циано-бактериальных сообществ и культуры *Anabaena constricta* IPPASB-2020, выделенных из почв региона исследований. Определена оптимальная концентрация экспериментального образца биоудобрения для обработки семян и развивающихся растений томата, перца, хлопчатника. Разработан способ повышения урожайности растений и защиты от фитопатогенов на основе цианобактерий. Изучены вторичные метаболиты цианобактерий, представленные терпеноидами, флавоноидами (пеонидин 3,5-диглюкозид; кверцетин), алкалоидами (резерпин, бупренорфин, йохимбин), пептидом (цикло (L-глутаминил-L-триптофил-L-фенилаланилглицил-L-лейцил-L-метионил), а также органические кислоты: аспарагиновая, муравьиная, пропионовая, фумаровая, изолимонная, молочная, уксусная, пировиноградная.

Впервые при внесении в засоленные экспериментальные сточные воды пищевого производства циано-бактериальных сообществ и культуры *Phormidium ramosum* IPPASB-2022 происходит деградация органических веществ, обеспечиваемая совместным участием цианобактерий и бактерий-спутников. Циано-бактериальные сообщества и их спутники проявляли липолитическую и протеолитическую активности.

Впервые из почвенных экосистем с различной степенью солености выделены штаммы бактерий *Streptomyces carpaticus* RCAM04697 (редкий вид), *Nocardiopsis umidischolae* RCAM04882, *Nocardiopsis umidischolae* RCAM04883,

оказывающие ингибирующее действие на вирусы растений ЮВК, ХВК, ВСЛК, ВМТо, ВОМ, ВБТ, а также обладающие высокими фитостимулирующими, фунгицидными и антиоксидантными свойствами, что делает их перспективными продуцентами для создания биопрепаратов. Данные штаммы способны синтезировать соединения, компонентный состав которых определен впервые: флавоноиды, алкалоиды, гликозиды, органические кислоты (изолимонная, уксусная, фумаровая, молочная, яблочная, лимонная, пировиноградная), антибиотики (нарбомицин, тилозин, форомацидин С, эритромицин), фенол – протокатеховый альдегид. В составе вторичных метаболитов штамма *S. carpaticus* RCAM04697 обнаружены спирты, альдегиды, углеводороды, эфиры, сульфаты и другие функциональные группы, представляющие собой полезные соединения для разработки методов защиты агроэкосистем.

С помощью молекулярно-генетических методов идентифицированы две культуры цианобактерий (*Anabaena constricta* IPPASB-2020, *Phormidium ramosum* IPPASB-2022) и три штамма актиномицетов (*S. carpaticus* RCAM04697 (редкий вид), *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883).

Выполнено полногеномное секвенирование штамма *S. carpaticus* RCAM04697. Впервые в базе данных NCBI GenBank задепонирована полногеномная последовательность штамма *Streptomyces carpaticus* под номером CP104005.1.

Изучена патогенность (вирулентность, токсичность, токсигенность, диссеминация) штамма *S. carpaticus* RCAM04697 для теплокровных животных.

Технологическая схема получения и инструкция по применению экспериментальных образцов средств защиты растений на основе штаммов *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 и *S. carpaticus* RCAM04697 утверждены на Научно-техническом Совете ФГБОУ ВО «АГУ им. В.Н. Татищева» (Протокол №1 от 25.03.2021г.; уровень внедрения - учрежденческий).

Результаты независимых полевых испытаний экспериментальных образцов биопрепаратов на основе цианобактерий и актиномицетов *S. carpaticus*

RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 в качестве стимуляторов роста и биологических средств защиты растений на базе филиала ФГБУ «Россельхозцентр» по Астраханской области и ГНУ «ВНИИОБ» оформлены актами производственных испытаний, утвержденными руководителем и сотрудниками указанной организации (уровень внедрения - межучрежденческий).

Новизна подтверждена 3 патентами РФ: «Способ стимуляции роста и развития растений, повышения урожайности и защиты от фитопатогенных грибов в Аридной зоне» (№2634387); «Штамм *Streptomyces carpaticus* для защиты от насекомых-вредителей, грибных, вирусных болезней и стимуляции роста томатов» (№ 2695157); «Альгицид для подавления развития цианобактерий и зеленых водорослей на основе метаболитов – аллелохемиков водных растений» (№2709308). Получены: патент на полезную модель РФ «Устройство для доочистки сточных вод пищевой промышленности» (№ 189062); свидетельства на базы данных РФ: «Цианобактерии техногенных водоемов Каспийского Бассейна» (№ 2013620692); «Влияние штаммов актиномицетов на вирусные болезни овощебахчевых культур и картофеля в аридной зоне Северного Прикаспия» (№ 2020620186); «Компонентный состав метаболитов бактерий рода *Streptomyces* с полифункциональными свойствами, выделенных из почв Астраханской области» (№ 2022620218) (уровень внедрения – федеральный).

**Теоретическая значимость.** Полученные данные об уникальных свойствах микроорганизмов расширяют фундаментальные знания о природе взаимоотношений микроорганизмов друг с другом и растениями в природных агро- и техногенных условиях и задают ориентир исследований на значительно более широкий круг объектов.

В работе использован комплексный подход к описанию микробных сообществ, сочетающий традиционные и современные методики. Полученные данные позволили выявить общие популяции цианобактерий, характерные для определенных почв и водоемов, а также обнаружить особенности

распространения доминирующих и минорных популяций в зависимости от типа почв и техногенных и природных водоемов.

Полученная в ходе секвенирования полногеномная последовательность штамма *S. carpaticus* RCAM04697 может быть использована для аннотации геномов бактерий рода *Streptomyces*.

Представленные в работе данные являются теоретической основой для дальнейших исследований в направлении расширения границ полифункциональности биопрепаратов, применения антимикробных метаболитов, синтезируемых цианобактериями и актиномицетами, для агро и экобиотехнологий. Результаты работы имеют важное значение для фундаментальных исследований в различных областях науки: экология, микробиология, генетика, биотехнология. Материалы диссертации внедрены в научную деятельность и в учебный процесс при преподавании дисциплин: Экология микроорганизмов, Сельскохозяйственная биотехнология, Промышленные микроорганизмы, Экологическая микробиология, Микробиология почв, Водная микробиология, Биология почв, Экологическая биотехнология по направлению «Биология» в ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет» им. В.Н. Татищева (Справка о внедрении результатов диссертации в учебный процесс от 08.09.2022г. (приложение 21); уровень внедрения - учрежденческий).

**Практическая значимость.** Настоящее исследование имеет выраженное прикладное значение и направлено на решение таких важных биологических и сельскохозяйственных задач, как экологизация сельского хозяйства и применение экологически безопасных и эффективных микробиологических удобрений, и средств защиты растений; разработка биодеструкторов органических соединений для очистки сточных вод; разработка препаратов для биоремедиации техногенных территорий. Исследование важно в научных целях при изучении и мониторинге микроорганизмов аридных зон; при создании баз данных по цианобактериям и актиномицетам; изучении и использовании микроорганизмов, как источников ценных в практическом отношении

биологически активных соединений. На основе выделенных в ходе работы штаммов актиномицетов разработаны схема получения и инструкция по применению экспериментальных образцов, которая апробирована в полевых условиях аридной зоны на томате и картофеле (Протокол №1 от 25.03.2021г.; уровень внедрения - учрежденческий); внедрена технология получения экспериментальных образцов препаратов (акт внедрения ООО «ФБГ»); внедрена технология применения экспериментальных образцов препаратов на томатах и картофеле (акт внедрения от 08.09.2022 ФГБУ «Россельхозцентр» по Астрах. обл.). Разработан способ стимуляции роста и развития растений, повышения урожайности и защиты от фитопатогенных грибов в аридной зоне с помощью цианобактерий (патент РФ №2634387).

Выделенные штаммы микроорганизмов помещены в коллекцию культур цианобактерий и актиномицетов кафедры биотехнологии, зоологии и аквакультуры, научной лаборатории биотехнологий ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет им. В.Н. Татищева» и используются в научно-исследовательских и учебных целях.

Культуры цианобактерий *Anabaena constricta* и *Phormidium ramosum* В.-Peters депонированы в коллекции культур микроводорослей (IPPAS) ФГБУН Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН под номерами IPPASB-2020 и IPPASB-2022, соответственно. Последовательность 16S рРНК штамма цианобактерий IPPAS B-2020 депонирована в базе данных GenBank NCBI под номером ID ОК041021, штамма цианобактерий IPPAS B-2022 – под номером ID ОК041022. Штаммы актиномицетов депонированы в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», г. Пушкин): *S. carpaticus* (справка №469/12 от 15.12.2017), *N. umidischolae* (справка №263/05 от 28.05.2018г.), *N. umidischolae* (справка №264/05 от 28.05.2018г.) (уровень внедрения – федеральный). Штамм *S. carpaticus* депонирован в государственной коллекции патогенных



микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» (ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии») под номером SCPM-O-B-9993, полногеномная последовательность - в NCBI GenBank под номером CP104005.1.

**Методология и методы исследований.** Методология исследований выстроена исходя из цели и задач диссертационной работы. Предметом изучения являлись природные штаммы бактерий и их свойства, необходимые для обоснования их роли в аридной зоне и применения в сельскохозяйственной и экологической биотехнологии; возможность использования исследованных микроорганизмов для повышения урожайности и защиты растений от болезней, очистки сточных вод; технологии получения и применения экспериментальных образцов на основе этих микроорганизмов. В работе использованы микробиологические, молекулярно-генетические, биотехнологические, физико-химические, биохимические, токсикологические, биологические и статистические методы исследования, а также методы биотестирования.

#### **Положения, выносимые на защиту.**

1. Основой функционирования в экстремальных природных и техногенных экосистемах аридной зоны, отягощенных в Астраханской области высокой засоленностью почвы со средним содержанием плотного (сухого) остатка от 0,3% до 2,9%, является жизнедеятельность микробных комплексов, среди которых наибольшая численность принадлежит цианобактериям, доля которых в почвах составляет 71% от общего числа изученных водорослей, и актиномицетов, с численностью  $2,2 \cdot 10^7$  КОЕ/г почвы, которая на порядок превышает численность других микроорганизмов.
2. Цианобактерии являются структурообразователями за счет нитчатых форм и способствуют развитию природных и техногенных экосистем. По сравнению с природными экстремальными обитаниями, в техногенных водоемах не выявлено четко стратифицированных матов, цианобактерии в них образуют хлопья, пленки и обрастания. Род *Oscillatoria* развивается в самом широком диапазоне гидрохимических факторов с концентрацией сероводорода от 0,0003 г/л до 0,04

г/л, высокой минерализацией от 2,0 г/л до 383,7 г/л, рН от 5,5 до 9,0. Наиболее устойчивыми к изменяющимся факторам среды (рН, температура, соленость, фосфаты) являются также представители рода *Phormidium*, особенно культура *Phormidium ramosum* В.-Peters. IPPASB-2022.

3. Цианобактерии и их сообщества синтезируют комплекс соединений, среди которых обнаружены терпеноиды, флавоноиды, алкалоиды, органические кислоты и другие. С развитием водного альго-цианобактериального комплекса на основе рода *Gloeocapsa* происходят изменения не только состава и количества водорослей и бактерий, но и вторичных метаболитов, проявляющиеся в разнообразии компонентного состава, увеличении доли терпенов, насыщенных углеводов, спиртов, жирных кислот, альдегидов, кетонов, например, бензойной кислоты, фталатов, камфоры, маноола и других. Штаммы *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 синтезируют: флавоноиды, алкалоиды, гликозиды, производные пиридина, аминокислоты, антибиотики, альдегиды, органические кислоты. Распределение по группам НОС суспензии и экстрактов штамма *S. carpaticus* RCAM04697 показало присутствие эфиров, спиртов, углеводов, альдегидов, сульфатов.

4. В экосистемах аридной зоны исследованные почвенные циано-бактериальные сообщества на основе цианобактерий родов *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Nostoc* и культура цианобактерий *Anabaena constricta* (Szaf.) Geitl. IPPASB-2020 обладают фитостимулирующими, колонизирующими, фунгицидными, антиоксидантными свойствами. Выделенные штаммы актиномицетов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 обладают фитостимулирующими, антиоксидантными свойствами и способны к подавлению широкого спектра вирусных (ВОМ, ВМТо, ВБТ, УВК, ХВК, ВСЛК) и грибных (относящихся к родам *Fusarium*, *Alternaria*, *Pythium*) возбудителей болезней растений.

5. Разработанная технология получения экспериментальных образцов на основе штаммов актиномицетов дает возможность получать жидкую форму биопрепаратов, на основе цианобактерий – сухую. Технологии применения

экспериментальных образцов на основе цианобактерий и актиномицетов позволяют повышать урожайность и защищать от грибных, вирусных болезней и оздоравливать агроэкосистемы в условиях аридного климата.

**Степень достоверности.** О достоверности результатов работы свидетельствует как достаточный объем проведенных исследований по идентификации и изучению свойств выделенных микроорганизмов, так и то, что для этого были использованы современные молекулярно-генетические, микробиологические, биотехнологические, биохимические, физико-химические, токсикологические методы, а также применена статистическая обработка данных. Разработанные экспериментальные образцы успешно прошли лабораторные и полевые испытания. Диссертационная работа выполнялась в рамках темы АГУ им. В. Н. Татищева (Минобрнауки РФ) «Биологические методы защиты экосистем» стратегического проекта №4 Природоохранные технологии в Каспийском макрорегионе» №122080500038-9, а также других проектов Минобрнауки РФ № 4.2222.2011; РФФИ № 11-04-90765-моб\_ст, №13-04-90744, Фонда содействия инновациям №9832р/14266, № 121032300355-9, № 0047042.

**Апробация работы.** Основные результаты исследований представлены на научной конференции «Водные экосистемы и организмы-3» (Москва, 2001); международной конференции «Новые технологии в защите биоразнообразия в водных экосистемах» (Москва, 2002); второй международной конференции «Биотехнология – охране окружающей среды» (Москва, 2004); международной научно-практической конференции «Проблемы и перспективы реабилитации техногенных экосистем» (Астрахань, 2005); всероссийском симпозиуме с международным участием «Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов» (Москва, 2009, 2014); всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах» (Киров, 2010, 2015, 2020); V международной конференции молодых ученых «Биология: от молекулы до биосферы» (Харьков, Украина, 2010); всероссийском

симпозиуме с международным участием «Автотрофные микроорганизмы» (Москва, 2005, 2010, 2015); VI всероссийской конференции молодых ученых «Стратегия взаимодействия микроорганизмов и растений с окружающей средой» (Саратов, 2012, 2016); V съезде микробиологов Узбекистана (Ташкент, Узбекистан, 2012); VI, VII и VIII Московском международном конгрессе «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2011, 2013, 2015); III International Scientific Conference on Innovation Problems of Modern Biology for Young Scientists (Баку, 2013); III и IV Международной научной конференции «Водоросли: проблемы таксономии, экологии и использование в мониторинге» (Ярославль, 2014; Санкт-Петербург, 2018); II Международной научной школы – конференции Цианопрокариоты / цианобактерии: систематика, экология, распространение (Апатиты, 2016; Уфа, 2022); XXII Московском международным салоне инноваций и инновационных технологий «Архимед» (Санкт-Петербург, 2018); Каспий XXI века - пути устойчивого развития: международный форум (Астрахань, 2021, 2022).

**Личный вклад автора.** Тема, цель, задачи, объекты, методы и план исследования определены автором. Автор принимал непосредственное участие на всех этапах выполнения диссертационной работы: сбор полевых материалов, микробиологический, молекулярный, химический, биотехнологический анализы с использованием методов накопительных культур, посевов, микроскопии, идентификации, изучения биологической активности, определения химического состава, обработка и обобщение полученных данных, написание и оформление диссертационной работы.

**Благодарности:** Автор выражает глубокую благодарность и признательность научному консультанту и своему учителю д.б.н., профессору И.С. Держинской за помощь в определении направления жизненного научного и профессионального пути и в осмыслении результатов моей работы. Автор выражает особую благодарность д.б.н. А.И. Нетрусову, д.б.н. Л.М. Герасименко, к.б.н. В.К. Орлеанскому, д.б.н. Е.И. Кондратенко. С большим теплом и сердечностью автор искренне признательна за дружбу, всестороннюю

поддержку в научных исследованиях д.б.н. профессору Е.А. Курашову и к.г.н. доценту Ю.В. Крыловой. Автор благодарит д.б.н. Л.В. Яковлеву за помощь в химическом анализе почвенных образцов, д.с-х.н. В.А. Шляхова и д.б.н. Пучкова М.Ю. за предоставление площадок для проведения полевых экспериментов, М.А. Синетову за помощь в идентификации цианобактерий, С.В. Антонову за помощь в проведении анализов ВЭЖХ и ВЭТСХ, А.Г. Богуна и А.А. Кисличкину за проведение полногеномного анализа, А.Г. Федоренко за помощь в проведении ультраструктурного анализа клеток. Автор благодарит всех, кто прямо или косвенно участвовал и помогал в создании и работе над этим научным исследованием на всех этапах: соавторам и коллегам, а также сотрудникам, студентам биологического факультета, кафедры биотехнологии, зоологии и аквакультуры и научной лаборатории биотехнологий АГУ.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 172 научные работы, из них 22 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 8 - статей в журналах, рецензируемых в Scopus и WoS, 94 - тезиса, 3 – патента на изобретение, 1 – патент на полезную модель, 5 – свидетельств о государственной регистрации базы данных, 1 - свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ, 12 учебно-методических работ, в том числе учебное пособие с грифом УМО по классическому университетскому образованию.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, 12 глав, заключения, выводов, списка литературы и 23 приложений. Работа изложена на 556 страницах текста, основной текст диссертации содержит 91 таблицу и 95 рисунков. Список литературы включает 776 источников из них 321 на иностранных языках.

## ГЛАВА 1. МИКРООРГАНИЗМЫ В ЭКОСИСТЕМАХ АРИДНОЙ ЗОНЫ

### 1.1. Природные территории аридной зоны

Аридные территории отличаются засушливым климатом, в котором испарение влаги превышает количество осадков. Особенности биологических круговоротов аридных территорий обусловлены климатическими характеристиками засушливости и качественным изменением в составе химических элементов – увеличением роли водорастворимых форм, что обусловлено испарительной концентрацией и транспирацией растений; увеличением количества ксерофитных и эфемерных форм растительности (Безуглова, Орлов, 2000).

В настоящее время наиболее острой проблемой является аридизация и опустынивание (деградация) суши. Последствия аридизации наиболее заметно проявляются в изменениях гидрологии суши и почв. Ковда (1981) систематизировал причины аридизации суши на две большие группы: 1. космические и геологические; 2. антропогенные. Деградация почв на планете сопровождается изменением функций почв, количественного и качественного ухудшения их состава, свойств и режимов, природно-хозяйственной значимости земель: опустыниванием, засолением, дефляцией и т.д. (Динамика..., 2018; Шабанов, Бембеев, 2018). Дефляция, или ветровая эрозия является наиболее распространенной проблемой на юге России, где рельеф преимущественно песчаный с редким естественным растительным покровом.

Опустынивание связано не с продвижением границ существующих пустынь, а с деградацией земель в засушливых, полузасушливых и сухих субгумидных регионах, которые вместе образуют засушливые земли. Вековые изменения климата, которые привели к периодическому расширению пустынных районов, а также изменениям состояния растительности (Tucker et al., 1991; Nemani et al., 2003), являются лишь одним из факторов опустынивания. Другой основной движущей силой является человеческая деятельность.

Анализ динамики очагов опустынивания Астраханской области за период с 2002 г. по 2010 г. показал не только увеличение количества и площади очагов

опустынивания, но и ускорение этих процессов на большинстве полигонов, что подтверждается экспоненциальным характером происходящих изменений (Жуковина и др., 2014). В настоящее время процесс пустынивания Астраханских естественных аридных пастбищ связан не только с негативным воздействием выпаса животных, но этот процесс ускоряется нарастанием засушливости климата. Такие тенденции вызывают серьезную озабоченность сохранностью существующих ландшафтов, которые все больше преобразуются в пустынные с минимальным проективным покрытием. Такие ландшафты неустойчивы, и при определенных условиях являются резервом для проявления опустынивания. Эрозия почвы сопровождается снижением сцепления почвы и удержания воды из-за переноса мелких частиц из исходного грунта.

## **1.2. Экологические особенности природных территорий региона исследований**

По климатическим условиям Астраханская область находится в самой засушливой части России с чертами резкой континентальности в полупустынной природноклиматической зоне, где все природные процессы протекают в экстремальных условиях, которые, по мнению Г. Глазера (1986), заключаются в значительных колебаниях температуры, пыльных бурях, подвижных песках и засухе.

Засушливый аридный климат Нижнего Поволжья формируется под воздействием циркуляционных атмосферных процессов южной зоны умеренных широт. Территория Астраханской области доступна также выносу арктических, тропических, морских и континентальных воздушных масс. Господствующее положение (60-80%) занимают континентальные массы умеренных широт. В связи с этим температура воздуха отличается большой сезонной контрастностью (Вознесенская, Бесчетнова, 2002). Среднегодовая температура наиболее холодного месяца – февраля -  $-3,7^{\circ}\text{C}$ , наиболее жаркого времени года – июля -  $+25,6^{\circ}\text{C}$ . Минимальная среднемесячная температура  $-15^{\circ}\text{C}$ , максимальная  $+34,0^{\circ}\text{C}$ . Относительная влажность воздуха - 53-60 %. Засушливость климата

обусловлена тем, что среднегодовое количество осадков составляет 164 мм, заморозки начинаются в середине октября и кончаются в середине апреля. Продолжительность безморозного периода 180-190 дней. Основная масса осадков выпадает в тёплое время года. Снежный покров неустойчив и залегает неравномерно, что обусловлено микрорельефом территории и сильными ветрами. Почва промерзает на глубину 80-120 см и более. Продолжительность ледостава составляет от 70 до 120 дней в году и охватывает период с ноября – декабря по март месяц (Жаков, 1984; Лапаева, 2001).

В течение всего года над исследуемой территорией, особенно в холодный период, наблюдается широтная циркуляция воздушных масс с преобладанием восточных румбов (до 70%). В основном скорость ветра не превышает 8 м/с, но может достигать 20-25 м/с. Число штилей незначительно. Практически ежегодно при восточных и юго-восточных ветрах происходят пыльные и солевые бури (Андрианов, 2002).

В целом, на исследуемой территории можно выделить два района: район крайне сухого, очень жаркого климата пустыни и район смягченного климата Волго-Ахтубинской поймы и дельты. Пустынную равнину с северо-запада на юго-восток пересекает Волго-Ахтубинская пойма, обильные водные потоки которой при впадении в Каспийское море образуют обширную дельту. В пределах поймы и дельты пустынные ландшафты сменяются лугами, ленточными лесами, густыми зарослями тростника и рогоза (Абрамова, 1983; Вознесенская, Бесчетнова, 2002).

Примерно 300 млн. лет назад территория, соответствующая южной части области, была морским бассейном. В дальнейшие геологические эпохи морские условия чередовались с континентальными. Климат был жарким и засушливым. В условиях большой испаряемости и малого количества осадков в мелководных заливах накапливались соленосные осадки мощностью в несколько сот метров, что приводило к образованию каменной соли. Со временем морской бассейн сокращался, с окружающей суши начался снос горных пород и приток пресной воды. На поверхности соли шло образование новых отложений, составной



частью которых явился гипс. В последующее геологическое время породы этого возраста перекрывались более молодыми. Под большим давлением вышележащих отложений на отдельных участках соль, обладая текучестью, начала выдавливаться вверх и приподнимать перекрывающие её горные породы. Более крупные из них называются соляными массивами, более мелкие - соляными куполами. Интенсивные поднятия каменной соли, переходящие от одного геологического этапа к другим, включая современный, отмечаются в северо-восточной части области. Это привело к образованию обширного Баскунчакского соляного массива с наиболее высокой точкой на горе Большое Богдо. Как правило, поблизости с растущими массивами, куполами существуют участки, испытывающие прогибание, которые называются мульдами. К такой мульде приурочено озеро Баскунчак (Щучкина, 1983; Воронин, 1994).

Вследствие широкого развития соляных куполов, отсутствия дренажа и наличия подпора со стороны Каспийского моря, а также из-за аридного, резкоконтинентального климата, грунтовые воды Астраханской области обладают повышенной минерализацией от 1 до 36 г/дм<sup>3</sup>. Из-за высокого уровня расположения грунтовых вод на исследуемой территории некоторые водоёмы, в том числе и озёра, подпитываются ими, вследствие чего, имеют высокую минерализацию (Кутлусурина, 1996).

Рельеф области представлен чередованием песков, бугров, сухих ложбин, пониженных участков, озёр, солончаков, карстовых форм рельефа и т. д. Почти вся территория представлена хвалынской морской равниной, сложенной песчано-глинистыми нижнехвалынскими отложениями. Формы рельефа в основном аккумулятивные и эрозионные. К аккумулятивным формам рельефа относятся пески бугристые, барханно-грядовые, пески кучевые. Основным фоном являются бугристые пески, из которых за счёт действующих ветров сформировались барханно-грядовые формы. Существование крупных песчаных гряд свидетельствует об интенсивных процессах, приводящих к аккумуляции в течение длительного времени мощной толщи перевеваемых песков. Другая форма рельефа представлена дефляционным и озёрно-

дефляционным типом структур, имеющих вид котловин или впадин от нескольких десятков до 500 м в поперечнике, с относительной глубиной не более 1,0-2,0 м. Формирование их произошло в результате ветрового выдувания песчаных массивов. Котловины могут являться местами разгрузки грунтовых вод; за счёт интенсивного испарения при высоком стоянии грунтовых вод, днище котловин покрывается солью (Щучкина, 1983; Воронин, 1994).

### **1.3. Экологические особенности техногенно и агрогенно преобразованных территорий**

Биосфера, согласно В.И. Вернадскому (1940), - это геологическая оболочка нашей планеты, в которой сосредоточена жизнь и осуществляется постоянное взаимодействие биоты с неорганической средой. Биосфера состоит из территориальных элементов – биоценозов, представляющих собой эволюционно сложившиеся системы функционально взаимосвязанных живых организмов, существующих на определенном участке окружающей их абиотической среды, с которой идет обмен веществом, энергией и информацией (Реймерс, 1990).

Новую антропогенную ступень развития биосферы В.И. Вернадский называл «сферой разума» - ноосферой. Ноосфере свойственны механическая, физико-химическая, биогенная и техногенная миграции. В 20 веке техногенез стал главным геохимическим фактором на поверхности Земли. Существенным отличием ноосферы от биосферы является ускорение миграции.

Для ноосферы характерны свойства и признаки (Безуглова, Орлов, 2000):

- Ноосфера образовалась и развивается в биосфере, другими словами, ноосфера – это биосфера, преобразующаяся под воздействием человека, изменяющего геохимию планеты и ее ландшафты.

- Основная преобразующая геохимическая сила в ноосфере – человек. Деятельностью человека создан новый тип миграции химических элементов – техногенный. Этот тип миграции обуславливает перераспределение и рассеивание химических элементов, образование техногенных аномалий.

- Ноосфера характеризуется значительным ускорением миграции.

- Ноосфера характеризуется уменьшением геохимической контрастности.
- Ноосфера отличается от биосферы большим объемом и разнообразием информации.
- Ноосфера использует и расходует энергию, накопленную биосферой.
- Ноосфера создает новые типы ландшафта – культурный, техногенный и агроландшафт, для которых возможно регулирование круговорота химических элементов. Оптимизация круговорота элементов – неперенное, обязательное условие развития ноосферы.

Формирующаяся техногенная среда изменяет структуру земной поверхности, концентрирует или перегруппировывает химические элементы, истребляет или создает биологические виды. Техногенное воздействие на биосферу протекает по трем направлениям (Попкова, 2008):

- прямое технологическое модифицирование биосферных процессов и систем в целях хозяйственного использования (территориальное вытеснение биоценозов технотопами и др.);
- косвенное влияние техногенной среды на биосферу через трансформацию климата (путем техногенных изменений радиационного фона, химической среды и др.);
- воздействие на живые существа через изменение биосферных циклов и взаимодействий, вызванное вымиранием других биологических видов (и неизвестными нам биосферными механизмами саморегуляции).

Техногенез приводит к появлению техногенных ландшафтов, особенности формирования и структуры которого обусловлены производственной деятельностью человека, связанной с использованием мощных технических средств.

Промежуточной ступенью между техногенной и природной средой являются агроценозы (агросфера). Это – созданное с целью получения сельскохозяйственной продукции биотическое сообщество, обладающее малой экологической надежностью, но высокой продуктивностью нескольких избранных видов (сортов растений или пород животных) (Попкова, 2008).

Среди наиболее значимых факторов воздействия на качество почвы – системы возделывания культур, используемые в сельском хозяйстве. Утрата органических веществ, биологического разнообразия почв и, как следствие, плодородия почвы, обусловлены такими истощающими методами, как глубокая вспашка неустойчивых почв, возделыванием таких способствующих эрозии культур, как кукуруза, а также продолжающимся применением тяжелой техники, разрушающей структуру почвы через ее уплотнение. Помимо этого, чрезмерный выпас скота и интенсификация земледелия, может ускорить дефляцию почвы (Lazareva, 2018). В агросфере человек конструирует почву в соответствии с потребностями растений, но это не значит, что формируется лучшая почва в условиях данного ландшафта (Держинская, 2005). Использование гербицидов, инсектицидов, фунгицидов приводит к выборочному уничтожению отдельных видов организмов.

#### **1.4. Микроорганизмы в жизнедеятельности экосистем аридной зоны**

Засушливый климат и природные ландшафты определяют экологические и физико-химические условия существования организмов. Аридные регионы характеризуются высокой численностью и активностью микроорганизмов (Гаель, Штина, 1974; Новичкова-Иванова, 1980; Штина и др., 1998; Зенова и др., 2005, 2007, 2011; Кутовая и др., 2012; Гришко и др., 2015; Каширская и др., 2015). На таких территориях обнаружены разные группы микроорганизмов: водоросли, грибы, бактерии, в том числе споровые формы, актиномицеты, цианобактерии, а также археи (Кутовая и др., 2012; Каширская и др., 2015).

Важной группой организмов в аридных зонах являются фототрофы - почвенные водоросли и цианобактерии, которые вносят существенный вклад в развитие почвенных экосистем, вследствие образования первичной продукции органического вещества, фиксации молекулярного азота, синтеза метаболитов и т.д. Они колонизируют почву быстрее, чем остальные микроорганизмы, являются пионерами освоения различного рода субстратов (Новичкова-Иванова, 1980; Пивоварова и др., 2012). Колонизируя пески и почвы лёгкого

механического состава, расположенные в крайне аридных условиях, они закрепляют глинистые и песчаные частички с помощью полисахаридов слизистых чехлов, агрегируя их в более крупные образования. Мелкие частицы почвы оказываются прочно сцементированными нитями водорослей и цианобактерий, поверхность почвы становится устойчивой против дефляции, более стабильной, уменьшается скорость испарения с ее поверхности воды (Панкратова, 1987; Добровольский, 2003; Moghtaderi et al, 2009).

Особый интерес представляют сине-зелёные налёты на грунте или скопления почвенных водорослей, среди которых особенно примечательны содержащие гетероцисты азотфиксирующие цианобактерии *Nostoc*. Такой циано-бактериальный покров свойственен пустынным областям с эфемерным увлажнением. На поверхности пустынных почв может развиваться совместное образование слоевища двумя видами цианобактерий: один из них тенелюбивый *Schizothrix atacamensis* – образует нижний слой и выполняя роль фитиля, снабжает влагой верхний слой, составленный светолюбивым видом *Calothrix desertica* (Schwabe, 1962), в степи - «ностоко-сцитонемовый ценоз» (Еленкин, 1936), включающий в свой состав огромное количество диатомей, которые находят в слизистых слоях сине-зелёных защиту от высыхания и инсоляции. Для пустынных территорий также свойственно доминирование водорослей из порядка *Oscillatoriales*. Особенности флоры водорослей солончаков, по данным Н.Н. Большева (1968), являются преобладание сине-зелёных и почти полное отсутствие желто-зелёных и диатомовых водорослей. Наиболее богатое видами и своеобразное сообщество водорослей обнаружено в хлоридно-сульфатном солончаке, в нём доминируют виды *Phormidium*, *Plectonema*. В корочках аридных почв доминирует *Microcoleus* sp. в сообществе с *Nostoc*, *Schizothrix*, *Scytonema*, *Calothrix*, *Phormidium* (Новичкова-Иванова, 1980; Isichei, 1990). Л.Н. Новичкова-Иванова (1980) предлагает использовать как показатель аридности почв соотношение сине-зеленых и зеленых водорослей.

На левобережье Волги в Ахтубинском районе Астраханской области в барханных песках обнаружены те же группировки, что и на правобережье, с

преобладанием видов *Schizothrix*, *Phormidium*, *Plectonema* и с участием видов *Nostoc* и одноклеточных зеленых (Гаель, Штина, 1974). В окрестностях г. Астрахани на развеваемых песках, возникших от разрушения бурых супесчаных почв на бэровских буграх, преобладали вышеописанные группировки (*Schizothrix*, *Phormidium*, *Plectonema*), но отличались большим разнообразием азотфиксирующих форм (виды *Nostoc*, *Anabaena*, *Calothrix*).

Описано таксономическое разнообразие цианобактериальных группировок солонцов, луговых, каштановых и бурых полупустынных почв зон сухих степей и полупустынь трех регионов России: Республики Калмыкия, Волгоградской и Астраханской областей. Показано, что цианобактериальные группировки каштановых почв и солонцов имеют близкую таксономическую структуру – преобладание порядков *Nostocales* и *Synechococcales*, а наименьшее сходство наблюдалось между луговыми и бурыми полупустынными почвами (Темралеева, 2018). По результатам морфологического и молекулярно-генетического анализа в изученных типах почв впервые обнаружены представители родов *Desmonostoc*, *Hassallia*, *Komvophoron*, *Nodosilinea*, *Pseudanabaena* и *Rhabdoderma*.

Инокуляция цианобактерий в пустынных районах ускоряет восстановление утраченного разнообразия и облегчает сукцессии в растительных сообществах (Lan et al., 2014).

В аллювиальной дерново-опустынивающейся карбонатной почве аридной зоны Астраханского региона в структуре микробного комплекса доминируют водоросли, составляющие 47 % от общей биомассы микроорганизмов (Сальникова, 2007).

Таким образом, являясь важным фактором почвообразования, водоросли и цианобактерии сообщества приобретают особое значение в пустынных биогеоценозах. Здесь открытые или несомкнутые растительные сообщества предоставляют в распоряжение водорослей обширные пространства, а эколого-физиологические особенности цианобактерий, как фототрофных организмов и азотфиксаторов, определяют их значение в пустынных экосистемах, за счёт

накопления большой биомассы.

Многие исследования, связанные с изучением пустынных почв, дают возможность утверждать то, что наряду с водорослями и цианобактериями, самыми распространенными микроорганизмами в них являются представители мицелиальных актиномицетов, изоляты которых абсолютно адаптированы к высоким показателям температуры, концентрации солей и радиации (Звягинцев, Зенова, 2007; Новикова и др., 2009; Гришко и др., 2010). Кроме того, в почвах аридной зоны термотолерантные актиномицеты активно размножаются (Зенова и др., 2011). Большая доля метаболически активных мицелиальных форм превышает долю одноклеточных актинобактерий (Соболевская и др., 2007; Звягинцев и др., 2011; Синева, Терехова, 2017; Синева и др., 2019). Численность термотолерантных актиномицетов в пустынных почвах Азербайджана зависела от температуры инкубации (Алиева и др., 2009).

Почвенно-экологические условия аридных зон, такие как высокая инсоляция, щелочность, отсутствие высшей растительности способствует преобладанию в этих местообитаниях устойчивых и адаптированных к экстремальным факторам микроорганизмов.

## **1.5. Экологические особенности цианобактерии в природных и техногенных экосистемах**

### **1.5.1. Физиолого-биохимические особенности и адаптационные возможности цианобактерий**

Цианобактерии являются одними из самых распространенных микроорганизмов земного шара, они обнаружены на всех шести континентах. Цианобактерии развиваются на суше, в солёных и пресных водоёмах, где нередко вызывают цветение, они отсутствуют только в очень кислых средах, на моховых болотах, в кислых сернистых источниках, хотя некоторые формы могут жить даже при pH 4 (Whitton, Sinclair, 1975; Кашнер, 1981; Костяев, 1986). Они колонизируют известняк, создавая основу для формирований микробных сообществ, доминирующими представителями которых являются роды *Nostoc* и

*Phormidium* (Колотилова, Петушкова, 2000), развиваются на коре деревьев, на скалах и в расщелинах камней. Цианобактерии участвуют в почвообразовательном процессе и составляют обязательный компонент сообщества почвенных микроорганизмов. Жизнедеятельность цианобактерий обуславливает изменения среды, ведущие к формированию почвы и ее плодородия. С деятельностью цианобактерий в почве связаны следующие процессы (Бессолицина, 2012):

1) Накопление органического вещества. Эта роль цианобактерий наиболее заметна на начальных этапах почвообразования — на выветривающихся скальных породах, на голых субстратах в тундре.

2) Накопление азота. Азотфиксирующие виды цианобактерий широко распространены в почвах и особенно в рисовых полях, где они обеспечивают получение урожаев без внесения азота.

Нередко цианобактерии обнаруживают на поверхности макроводорослей, а также высших водных растений и в составе фитопланктона.

Часто развитие цианобактерий приурочено к экстремальным местам обитания. Высокая устойчивость цианобактерий к высоким температурам, повышенной солёности, интенсивности света, высушиванию, ультрафиолетовому и ядерному облучению (Андреюк и др., 1990) позволяет им преобладать в экстремальных экологических условиях: горных районах, изверженных вулканических породах, пустынных биогеоценозах, рекультивируемых землях, техногенных территориях (Горюнова и др., 1969; Судьина и др., 1978; Штина, 1985; Костяев, 1986; Андреюк и др., 1990; Держинская, 1993; Райская, 2003; Домрачева и др., 2021; Stal, 2000). Некоторые цианобактерии (например, *Oscillatoria*), развиваются в холодной воде, иногда подо льдом, и вместе с водорослями могут вызывать «цветение» снега. Однако много цианобактерий растёт и в горячих источниках при температуре воды 45-50°C. Максимальная температура развития термофильных цианобактерий - 70-74°C. Экстремально галофильные цианобактерии обнаружены среди представителей рода *Cyanothece*, для которых оптимальная концентрация NaCl



равна 10 %. Максимальная концентрация хлористого натрия, при которой отмечался рост цианобактерий в природных условиях 25%. Многие цианобактерии являются галотолерантными. Некоторые редкие формы могут жить в пещерах при ничтожном освещении, иногда вокруг нитей откладывая кальцит, образуя, таким образом, своеобразные живые сталактиты. Часто представители цианобактерий проявляют высокую резистентность к сульфиду и растут при его концентрации 0,05-0,07%. Штаммы *Spirulina* sp. способны вызывать цветение содовых озер. Колонии хроококковых цианобактерий вырастают на почве безводной чилийской пустыни Атакама. Обнаружены цианобактерии, развивающиеся в криптоэндолитических сообществах (Громов, 1996). Такие сообщества найдены как в холодных сухих пустынях Антарктиды, так и в горячих сухих пустынях, например, в пустыне Негев в Израиле. В этом случае развитие организмов происходит в порах пористой породы или в полостях, образовавшихся в плотной породе в результате процессов выветривания. Микроорганизмы оказываются защищенными от внешних неблагоприятных факторов, но, вместе с тем, они изолированы и от источников пищи. Круговорот элементов в них может быть почти замкнут.

Сохранять жизнеспособность в таких условиях, приспособиться к самым разнообразным факторам внешней среды и занять доминирующее положение в формировании водных и почвенных биоценозов, цианобактериям помогают физиолого-биохимические особенности их метаболизма (Горюнова и др., 1966; Гусев, Никитина, 1979; Андреев и др., 1990; Кондратьева, 1996; Сиренко, 1998; Fogg, 1965; Fay, 1965). Цианобактерии обладают способностью к фото-, гетеро- и миксотрофии (Кузьменко, 1981), азотфиксации (Костяев, 1986, 1993; Кондратьева, 2001; Панкратова, 1987, 1989, 2010); приспособляемости к колебаниям влажности, температуры, pH среды, солености, способностями к образованию всевозможных ассоциаций с бактериями, микроводорослями, грибами (Глаголева, Зенова, 1992). Широкую амплитуду приспособленности у них, в некоторых случаях, можно объяснить объединением в пределах одного организма многочисленных приспособлений бактериальной клетки с

важнейшими преимуществами хлорофиллсодержащих растений (Горюнова, 1966; Горюнова и др., 1969).

Одной из систем цианобактерий, возбуждающихся под влиянием световых импульсов окружающей среды, служат пигменты. Подобно водорослям и высшим растениям, цианобактерии образуют хлорофилл а. По сравнению с бактериохлорофиллами, которые синтезируют прокариоты, осуществляющие аноксигенный фотосинтез, хлорофилл а имеет максимумы поглощения в более коротковолновой области спектра. Кроме хлорофилла а для разных представителей цианобактерий характерно наличие  $\beta$ -каротина. Все цианобактерии содержат фикобилипротеины, окрашенные в красный или голубой цвет соединения, находящиеся в фикобилисомах. Содержание у цианобактерий фикобилипротеинов – фикоэритрина (ФЭ) и фикоцианина (ФЦ), может меняться в зависимости от характера света, которым их освещают. Соотношение ФЭ:ФЦ выше у цианобактерий, выращенных при зеленом свете, чем при белом. Это может определяться разной скоростью синтеза фикоэритрина или обоих пигментов в зависимости от освещения. У некоторых цианобактерий синтез фикоэритрина при их освещении красным светом вообще прекращается. Таким образом, синтезируя в определённом соотношении различные по химической природе функциональной активности пигменты, клетка цианобактерии всегда имеет резервные акцепторы различных световых импульсов. Она может использовать их все одновременно для улавливания и эффективной утилизации самых разнообразных участков спектра. В то же время при резком изменении условий клетка цианобактерии способна выдвигать на первое место одну из имеющихся пигментных систем, наиболее эффективную для восприятия световых импульсов в изменившихся условиях. Такая хроматическая адаптация цианобактерий (Еленкин, 1936; Кондратьева, 1996; The molecular ..., 1994) и коренная перестройка пигментных систем и процессов метаболизма, обеспечивает выживание вида в изменившихся условиях спектрального состава света (Голлербах, Кукк, 1964; Кукк, 1965; Пиневиц, Аверина, 2002). При этом фотосинтез у них может быть, как кислородный (при

использовании в качестве донора водорода  $H_2O$ ), так и у некоторых видов аноксигенный (с использованием  $H_2S$ ) (Панкратова, 2001).

Одновременно с фотосинтезом цианобактерии фиксируют атмосферный азот, накапливая 25-150 кг/га в год (Горюнова и др., 1969). Они вносят существенный вклад в обогащение почвы азотом, тем самым, подготавливая её для заселения другими организмами. При переходе клетки из вегетативной в гетероцистную, происходит трансформация фотосинтетического аппарата, так как фиксирующие азот ферменты, чувствительны к присутствию кислорода (Shigeichi et al., 2013). В течение 30 ч исчезает фотосистема II вместе с аллофиоцианином, который в вегетативных клетках располагается в фикобилисомах. В гетероцистах сохраняется фотосистема I и элементы фикобилисом с фикоэритроцианином. Фотосистема I обеспечивает энергией фиксацию азота. Безусловно, такие особенности пигментных систем цианобактерий, не исчерпывают всего многообразия их регуляторных механизмов приспособления к окружающей среде.

Различные виды цианобактерий обладают разнообразными адаптационными механизмами, определяющими успешное развитие их в тех или иных условиях окружающей среды. Некоторые формы *Scytonema*, например, образуют пигмент, концентрирующийся на поверхности клетки и эффективно защищающий ее от ультрафиолетовых лучей, что определяет возможность развития этой цианобактерии при прямом солнечном освещении. Некоторые цианобактерии синтезируют сидерофоры - вещества, связывающие ионы железа и делающие их доступными для бактерий. Другие, развивающиеся в прибрежной зоне водоемов, синтезируют сурфактанты - поверхностно-активные соединения. При волнении вода у берега становится мутной за счет взвешенных частиц песка и детрита. В присутствии сурфактанта частички слипаются и оседают на дно, вода становится прозрачной, и цианобактерии получают достаточно света. Многие цианобактерии синтезируют биологически активные вещества. Это могут быть антибиотики с аллелопатической активностью, препятствующие росту других цианобактерий, водорослей и высших растений. Реже

цианобактерии образуют антибиотики, активные против грибов и гетеротрофных бактерий (Громов, 1996).

Изучено, что в течение года в среде обитания, обусловленной чередованием влажных и засушливых сезонов, морфология колоний *Nostoc commune* менялась. Его жизненный цикл включал две сезонные стадии развития (рост в сезон дождей и покой в сухой сезон) и две переходные стадии (подготовка к засушливому сезону, регидратация и восстановление). В начале сезона дождей устойчивые стадии предыдущего засушливого сезона регидратируются и образуют пропагулы, которые принимают колониальную форму, окруженную студенистой оболочкой. По мере того как условия становятся более сухими, *N. commune* использует адаптивные стратегии против засухи, такие как уменьшение количества клеток внутри колоний и образование акинет. Методом спектральной конфокальной лазерной сканирующей микроскопии *N. commune* определен пик флуоресценции при 564 нм, относящийся к фикоэритрину, повышающему устойчивость клеток к пагубному воздействию сильного света. Повышение концентрации фикоэритрина может возникнуть в результате адаптивных стратегий, которые повышают устойчивость *N. commune* к экстремальному высыханию (Ramirez et al., 2011).

Изучаются механизмы, позволяющие цианобактериям выживать в условиях экстремальной засухи, с помощью генетических методов (Billi, 2000). Перенос одного гена, кодирующего сахарозо-6-фосфат синтазу, (*spsA*) из цианобактерии *Synechocystis* в чувствительную к высыханию кишечную палочку *Escherichia coli* привел к увеличению в  $10^4$  раза выживаемости бактерии по сравнению с клетками дикого типа после высушивания в результате замораживания, высушивания на воздухе (Кокшарова, 2008; Billi et al., 2000).

Физиолого-биохимические особенности цианобактерий привели к более чем столетней дискуссии об их таксономической принадлежности. В микробиологии принято относить цианобактерии к прокариотным микроорганизмам. Большинство ботаников до сих пор называют цианобактерии сине-зелеными водорослями. С водорослями и высшими растениями

цианобактерии имеют то общее, что все они осуществляют фотосинтез с выделением кислорода и содержат хлорофилл *a*, а также ряд других общих с растениями пигментов. Однако существует принципиальное отличие сине-зеленых водорослей от всех других водорослей как с точки зрения их строения, так и с эволюционной точки зрения (Голлербах, Кукк, 1964; Гусев, Никитина, 1979). Но, также очевидно, сходство сине-зеленых водорослей с бактериями: строение клетки, наличие муреиновой клеточной стенки, 70 S-рибосомы и другие определяющие признаки. Сине-зеленые водоросли по характеру их клеточной организации соответствуют грамотрицательным бактериям и представляют самостоятельную ветвь их эволюции (Громов, 1981; Шлегель, 1987).

Цианобактерии — морфологически разнообразная группа грамотрицательных прокариот, включающая одноклеточные, колониальные и многоклеточные формы. Клетки — сферические, палочковидные или изогнутые; одиночные или образующие скопления, удерживаемые после ряда делений вместе с помощью окружающего их общего чехла. Многоклеточные формы имеют нитевидное строение. Единицей их структуры служит нить или трихом. Нити бывают простые или ветвящиеся.

Ранее классификация сине-зеленых водорослей подчинялась ботаническому коду и базировалась на морфологических исследованиях природного материала, а также накопительных культур. Современная микробиологическая систематика цианобактерий основывается на чистых культурах. За основу деления взяты морфологические признаки, способы размножения и образование специфических клеток, что коррелирует с данными молекулярно-биологических исследований (Кондратьева, 1996; Пиневич, 1999).

## **1.5.2. Циано-бактериальные симбиозы**

### **1.5.2.1. Симбиоз цианобактерий и растений**

Микробно-растительные взаимодействия классифицируют с разных точек зрения. Их можно подразделить на специфические, эволюционно закрепленные,

даже облигатные, и неспецифические, временные и случайные (Нетрусов, 2004).

Цианобактерии осуществляют гормональную регуляцию высших растений путем синтеза этилена, индол-3-уксусной кислоты (1АА), которые синтезируются в процессе установления симбиотических отношений между цианобактерией и высшим растением (Sergeeva et al., 2002; Hirsch, 2004).

Циано-бактериальное сообщество воздушных корней орхидей преимущественно состоит из нитчатых, содержащих гетероцисты, видов семейства Nostocaceae. Из ризопланы безлистных орхидей *Chiloschista parishii* и *Microcoelia moreauae* выделены представители рода *Komarekiella* (Цавкелова, 2021).

Проведен молекулярно-генетический анализ двух новых эпифитных штаммов цианобактерий рода *Anabaena*, выделенных из ассоциаций с растениями риса. Эти изоляты изучены в сравнении с модельным штаммом свободноживущей цианобактерии *Anabaena variabilis* ATCC 29413, геном которой полностью секвенирован (<http://genome.jgipsf.org/microbial/ana.va.home.html>). Штамм *Anabaena* sp. 281 по геномным характеристикам существенно отличается от двух референтных штаммов с секвенированными геномами (*Anabaena variabilis* ATCC 29413 и *Nostoc* sp. PCC 7120), тогда как штамм *Anabaena* sp. 182 является близкородственным штамму *A. variabilis* ATCC 29413. Благодаря ряду физиологических и биохимических преимуществ штамм *Anabaena* sp. 182 может рассматриваться в качестве нового перспективного объекта генетических и генноинженерных исследований, направленных на создание продуцентов молекулярного водорода (Михеева и др., 2010).

Вид *Nostoc commune* встречается в различных типах растительных сообществ на всех континентах. Макроскопические колонии *N. commune* зарегистрированы на обнажённой поверхности почвы, камней, корней древесных растений и на поверхности дерновины мхов: *Rhytidium rugosum* (Hedw.) Kindb., *Hypnum cupressiforme* Hedw., *Abietinella abietina* (Hedw.) M. Fleisch., видов рода *Sphagnum* и т. п. (Егорова и др., 2014). Проективное покрытие ностока в некоторых случаях составило 60 % на 1 м<sup>2</sup>. В разнообразных фитоценозах

арктических и гипоарктических тундр наиболее характерными экотопами для поселения *N. commune* также являются голый грунт и моховая дернина. *N. commune* может вносить существенный вклад в продуктивность растительных сообществ (Патова и др., 2000). В тундровых фитоценозах вид способен за сезон фиксировать до 75 мг N<sub>2</sub>/м<sup>2</sup>, максимальные значения его биомассы составили 4,5–5,0 г сухого веса/0,06 м<sup>2</sup>. Распространенность вида, способность к массовому развитию, уникальная морфология делают *N. commune* удобным объектом в исследованиях продукционных возможностей фитоценозов.

Уникальный и широко известный симбиоз существует между тропическим водным папоротником *Azolla* и цианобактериями, которые обитают в полости на нижней части листа растения. *Anabaena* фиксирует атмосферный азот, а *Azolla* обеспечивает цианобактерии необходимыми ей питательными веществами. Результаты исследований показали существование разных штаммов цианобактерий на разных видах *Azolla*. Цианобионты проявляют специфичность в отношении различных видов хозяина. Род *Anabaena* семейства Nostocaceae оказался частовстречающимся (Papaefthimiou et al., 2008).

Установлено, что при инокуляции интактных растений и черенков табака, паслена и риса ассоциативными цианобактериально-бактериальными комплексами микросимбионтов, выделенных из природных синцианозов (папоротников *Azolla pinnata*, *Azolla* sp., и саговника *Encephalartos ferox*), цианобактерии и бактерии-спутники способны заселять вегетативные органы растений, корень, стебель, лист (Lobakova et al., 2001). Многие голосеменные – саговники участвуют в симбиотических связях с цианобактериями (Гольдин, 2013).

Описано образование симбиотических ассоциаций цианобактерий *Nostoc* и печеночников *Blasia* и *Clavicularia*, снабжая растение азотом и потребляя углерод (Саут, 1990).

Примером облигатного симбиоза одноклеточных фотосинтезирующих организмов и грибов является лишайник. Своеобразная морфология и особенности обмена веществ лишайников формируются в результате симбиоза

высших грибов, в основном сумчатых, и водорослей, а также в основном зеленых, реже цианобактерий (Нетрусов, 2004). Именно цианобактерии осуществляют азотфиксацию, и тем самым, снабжают азотными компонентами весь таллом лишайника. Прокариотное сообщество играет как структурную, так и функциональную роль, участвуя в метаболизме и регулируя жизнедеятельность лишайникового симбиоза в целом (Pankratov et al., 2017).

#### **1.5.2.2. Симбиоз цианобактерий с микроорганизмами**

В природных условиях цианобактерии практически не обнаруживаются как монокультура, образуя симбиозы с другими видами цианобактерий, микроводорослями, бактериями, микромицетами (Красильников, 1965; Перминова, 1964; Штина, Панкратова, в кн.: Актуальные проблемы ..., 1974; Андреюк и др., 1990; Держинская и др., 1993; Домрачева и др. 2021). Цианобактерии развиваются независимо от связанных источников углерода и азота вследствие способности к фотосинтезу и азотфиксации, что позволяет им существовать автономно (Панкратова, 2010). Такая комбинация метаболических путей необычна и именно она ответственна за эволюционную устойчивость цианобактерий (Vermaas, 2001). Возможность симбиоза также обусловлена созданием у цианобактерий особой экологической ниши – слизистых образований – чехлов и колониальной слизи. Внеклеточные полимерные вещества, выделяемые цианобактериями, играют значительную роль, защищая ассоциантов от высыхания, действия ядовитых веществ, служат им укрытием (Stewart, 1968; Williams et al., 2014). Стимулирующую роль цианобактерий в сообществах микроорганизмов усматривают в предоставлении гетеротрофным микроорганизмам разнообразных продуктов своего метаболизма (полипептидов, полисахаридов, ауксинов, антибиотиков, витаминов и аминокислот), которые, эти микроорганизмы, способны утилизировать, а в наземных местообитаниях – в способности слизистых покровов цианобактерий поглощать и удерживать воду, защищая, таким образом, сопутствующие микроорганизмы от высыхания (Штина, Голлербах, 1976; Андреюк и др., 1990; Штина, 1991; Кевбрин и др.,



1994; Сиренко и др., 1997; Кондратьева, 2001; Proceeding ..., 1996; Smith, 1999; Williams et al., 2014). Микроорганизмы, в свою очередь, снабжают цианобактерии углекислотой, витаминами, разлагают сложные органические вещества, поглощают кислород, выделяющийся в процессе фотосинтеза (Михайлова, 1966; Юнг, 1967; Зенова и др., 1995; Parker et al., 1961; Fogg, 1966). Способность сопутствующих бактерий использовать продукты выделения цианобактерий доказана методом микрорадиотографии. В местах скопления сопутствующих бактерий создаются восстановленные условия, что способствует увеличению активности нитрогеназы цианобактерий. На начальных этапах деструкции отмерших клеток цианобактерий определенную роль играют бактерии, грибы являются более поздними деструкторами органического вещества фототрофов (Панкратова, Мезенцева, 1985).

Ряд ученых Г.Н. Перминова (1964), Е.К. Михайлова (1966), Л.А. Юнг (1967), М.В. Гусев и др. (1981), Е.И. Андреюк и др. (1990), Е.А. Бонч-Осмоловская и др. (1988), Э.А. Штина, Е.М. Панкратова (1974), И.С. Держинская (1992, 1993), Т.Н. Жилина, Г.А. Заварзин (1991), Herbst, Overbeek (1978) L.J. Stal (2000), Abed et al., (2002), изучая природные, техногенные и лабораторные культуры цианобактерий, идентифицировали среди их ассоциантов следующие роды бактерий: *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Thiocapsa*, *Chromatium*, *Thiobacillus*, *Thiothrix*, *Desulfovibrio*, *Desulfurella*, *Micrococcus*, *Caulobacter*, *Sarcina*, *Lactobacillus*, *Aerobacter*, *Streptomyces*, *Trichoderma*, *Flavobacterium*, *Mycobacterium*, *Vibrio*, *Cytophaga*, *Halobacteroides*, *Haloicola*, *Acetohalobium*.

Среди них различают микроорганизмы – спутники и сопутствующие виды (Штина, Панкратова, 1974; Держинская, 1993). Случайные вселенцы не связаны с ценозообразователем ценотическими связями, тогда как спутники и ассоцианты связаны с ним взаимным использованием продуктов жизнедеятельности, влиянием на физико-химические условия среды, биохимической специализацией (Горюнова и др., 1969).

Видовой состав сообществ цианобактерий определяется главным образом физико-химическими факторами среды, взаимоотношениями различных компонентов ценоза, и не только не одинаков у различных видов, но и у одних и тех же видов разного возраста и места обитания (Андреюк и др., 1990). В ряде случаев степень обсемененности гетеротрофными бактериями цианобактерий меняется в течение их жизненного цикла (Горюнова, 1966). Нити *Lyngbya aestuarii* в период активного весеннего развития имеют более тонкие и упругие слизистые покровы, трудно проницаемые для других микроорганизмов.

С возрастом цианобактерий общее количество сопутствующих микроорганизмов, а также их видовой состав значительно изменяются. Максимальное их число отмечено в полутора- и двухмесячных культурах, а наибольшее количество видов обнаружено в молодых культурах. По мере старения цианобактерий состав микрофлоры становится более однообразным. В молодых культурах обнаружено 6—7 видов олигонитрофильных бактерий, через месяц оставалось только 2 вида (Юнг, 1967).

Среди бактерий-ассоциантов цианобактерий обнаружены беспоровые грамтрицательные бактерии, относящиеся к роду *Pseudomonas* (Юнг, 1967). В меньшей степени встречались *Flavobacterium*, *Rhizobium*, *Mycobacterium*, *Sarcina* и *Bacillus*. Преобладающими были олигонитрофильные бактерии, метаболические отношения с цианобактериями у которых, развиваются по типу симбиотических (Панкратова, 1981). Это доказывается тем, что при выделении в чистую культуру цианобактерии труднее всего очищаются именно от этой группы спутников. С другой стороны, чистые культуры цианобактерий легче всего «загрязняются» олигонитрофильными бактериями, а очищенные от них, становятся безжизненными. Оба партнёра такой ассоциации метаболически зависимы. Цианобактерии служат постоянно возобновляющимся источником энергетического материала для бактерий, снабжают их витаминами, в частности, тиамином, рибофлавином и цианкобаламином (Штина, Панкратова, 1974).

Широко известен симбиоз цианобактерий с азотфиксирующими

бактериями (Штина и Панкратова, 1974; Панкратова, 1989; Pankratova et al., 1995), благодаря которому даже не способные к азотфиксации виды цианобактерий отличаются высоким содержанием азота в клетках – 7-8 % от сухого веса; подобного рода ценозы являются широко распространёнными азотфиксирующими комплексами (Peng, Bruns, 2019). Отсутствие в почве азотфиксирующих цианобактерий является показателем перегрузки почвы азотными удобрениями (Штина, 1990; Домрачева, 1998).

Имеются сведения о том, что азотный метаболизм цианобактерий и сопутствующих им гетеротрофных спутников представляет собой в культуре сбалансированную саморегулирующуюся систему (Meffert, Zimmermann-Telschow, 1979). В безбактериальных культурах цианобактерий концентрация внеклеточного аммонийного и белкового азота возрастала линейно в ходе инкубации, тогда как в культурах, содержащих бактерии, такая закономерность наблюдалась только в отношении аммонийного азота. Концентрация же белкового азота достигала постоянной величины через 24 ч инкубации. Бактерии использовали приблизительно 60 % внеклеточного белка и аммония и около 80 % свободных аминокислот и аминокислот растворимых пептидов. Отношение количества аминокислот, выделенных *O. redekei*, к количеству аминокислот, усвоенных сопутствующими бактериями, было сравнительно постоянным. Внеклеточные вещества выделялись в среду живыми клетками *O. redekei*, а также при лизисе клеток во время процесса фрагментации трихома. При неблагоприятных условиях культивирования выход внеклеточных продуктов увеличивался.

*N. commune* – широко распространённый в природе организм с высокой адаптацией к условиям окружающей среды, играющий значительную роль в функционировании наземных экосистем. Местообитания микроскопических колоний *N. commune* с микроорганизмами-спутниками характеризуются широким экологическим диапазоном: вид найден в степях, сухих и заболоченных лугах, в лесных фитоценозах и эпилитных синузиях в местах повышенного увлажнения, поэтому этот вид считается космополитом (Дубовик,

1995; Патова и др., 2000; Егорова и др., 2014). Установлен долговременный характер существования вида в различных эколого-географических условиях (от нескольких до нескольких десятков лет). Установлено высокое содержание общего азота (2,7–5,1 % абс. сухой массы) в талломах вида, превышающее содержание азота в мхах и травянистых растениях (Егорова и др., 2019).

Азотфиксирующая активность цианобактериальных сообществ и возможность биodeградации мортмассы цианобактерий подтверждают их ресурсную роль для консорциума микроорганизмов (Цавкелова, 2021).

Из возможных механизмов взаимодействия цианобактерий и сопутствующих им гетеротрофных бактерий Н.В. Paerl (1985) выделяет два типа ассоциаций. Гетеротрофные спутники первого типа обнаруживаются в слизистом слое, окружающем вегетативные клетки и гетероцисты, во втором случае только в гетероцистах.

Методом электронной микроскопии изучены бактерии, находящиеся в ассоциациях или на поверхности клеток цианобактерий в составе планктона (Caldwell, Caldwell, 1978). В *Anabaena*-бактериальных агрегатах обнаружены только грамотрицательные бактерии. Из 72 культур гетеротрофных бактерий, выделенных из озерной воды непосредственно перед «цветением» *Anabaena*, только один штамм мог в лабораторных условиях образовывать ассоциации с цианобактериями, аналогичные по морфологии природным ассоциациям. Этот штамм не рос в жидких средах в отсутствие *Anabaena*, на плотных средах без цианобактерий он образовывал колонии. При добавлении в агар стерильного фильтрата *Anabaena* гетеротрофный ассоциант образовывал колонии, которые не разрушались при взбалтывании в воде. Гетеротрофный штамм представлял собой грамотрицательные палочковидные и вибриоидные клетки размером 1,9x0,5 мкм и встречался в двух морфологических формах. Клетки, содержащие жгутики, проявляли хемотаксис к клеткам *Anabaena*.

Бактерии-ассоцианты *O. redekei*, относящиеся к родам *Flavobacterium* и *Lactobacillus*, хорошо развивались за счет растворимого органического вещества, выделяемого цианобактерией (Herbst, 1978). Большая часть его

представлена пептидами. По мере старения, цианобактерии образуют в основном углеводы, которые легко усваиваются сопутствующими бактериями. Бактерии-ассоцианты также оказывают положительное влияние на рост *O. redekei*, минерализуя органический азот, выделяемый цианобактерией, и этим способствуют ее жизнедеятельности. Кроме того, сопутствующие бактерии поставляют ей до 17% CO<sub>2</sub> и с помощью каталазы разрушают перекись водорода, которая накапливается при росте цианобактерий.

Известны многочисленные случаи совместного существования цианобактерий и грибов (Андреюк и др., 1990).

Еще первыми исследователями цианобактерий А.А. Еленкиным (1936), Г.Х. Швейбом (1960), Н.Н. Смирновым, О.И. Феоктистовой (1965) в составе ассоциантов были обнаружены диатомовые и протококковые водоросли, и микрофауна, представленная коловратками, личинками хирономид, жуками, клещами. Отношения между цианобактериями и микрофауной складываются на основе пищевых и субстратных связей, животные поселяются на них, прикрепляют к ним яйца и питаются слизью.

Сообщества цианобактерий в зависимости от условий среды обитания могут быть разных типов. В водоёмах цианобактерии могут встречаться в виде отдельных нитей или кокков, «пятен», «налёта» и матовых образований.

Сообщества в виде пятен цветения, обнаруженные в сероводородном источнике Старой Мацесты, представлены сине-зелёными, темно-зелёными и голубыми образованиями. Основу пятен составляют клетки *Anabaena* и *Oscillatoria*, с преобладанием в сине-зелёных пятнах *Anabaena* (93,3%), в голубых и тёмно-зелёных - *Oscillatoria* (92%) и (95,8%). С ними ассоциированы цианобактерии *Nostoc*, *Lyngbya*, а также флексибактерии, фототрофные (пурпурные несерные и зелёные серные), тионовые, сульфатредуцирующие, коринебактерии, бактерии группы кишечной палочки, бациллы, псевдомонады (Гусев и др., 1979; Барский и др., 1980). Главной массой зелёных обрастаний в сернистых источниках заповедника Кемери являются различные виды *Oscillatoria*, в симбиотических отношениях с ними обнаружены другие

цианобактерии – *Pseudanabaena*, *Lyngbya*, а также диатомовые водоросли и серобактерии.

Кроме природных консорциумов, возможно создание экспериментальных ассоциаций. Почвенные стрептомицеты являются спутниками экспериментальных альгобактериальных ценозов (Зенова и др., 2005). Экспериментально рассмотрены цианобактериально-актиномицетные ассоциации из цианобактерии *Anabaena variabilis* ATCC 29413 и стрептомицетов, выделенных из апогеотропных корней саговниковых растений (Булгакова и др., 2010). Сформированные авторами ассоциации представляют собой талломы, образованные тесным переплетением нитей цианобактерии и гиф стрептомицетов. Как показали результаты данной работы, развитие цианобактерии в ассоциации со стрептомицетом стимулировало ее азотфиксирующую активность, которая в талломе оказалась в десятки раз выше азотфиксирующей активности монокультуры цианобактерии. Авторы отмечают, что в числе физиологических изменений таллома наблюдалось расширение антимикробного спектра и усиление антагонистической активности цианобактерии и актиномицета в составе таллома по сравнению с монокультурами.

Взаимодействие цианобактерий и сопутствующих микроорганизмов в рамках циано-бактериального сообщества не ограничивается только трофическими связями на уровне «автотроф-гетеротроф», здесь также включаются и функциональные системы, например, система «лизозим-антилизозим», «перекись водорода цианобактерий – каталазная активность бактерий» и другие (Игнатенко, Немцева, 2012).

Таким образом, циано-бактериальные симбиозы ведут себя как автономные космополиты, способные развиваться не только в экстремальных условиях, но и выдерживать конкуренцию за источники энергии и биогенные элементы с другими компонентами биоты (Пиневиц, Аверина, 2002).

### 1.5.3. Антагонистическое действие цианобактерий на другие организмы

Межвидовые взаимодействия с участием цианобактерий имеют многосторонний характер, оказывая влияние на компоненты экосистемы, и испытывая воздействие с их стороны. Воздействуя на другие организмы, в том числе за счет выделения вторичных метаболитов, цианобактерии проявляют антагонистическую активность: антибактериальную, альгицидную, противовирусную, фунгицидную и др.

Антивирусная активность цианобактерий выявлена у *Lyngbya majuscula*, *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis viridis*, *Arthrospira (Spirulina) platensis* и других видов, в отношении возбудителей заболеваний растений (Patterson, 1993; Patterson et al., 1994).

Антибактериальное действие широкого спектра, свойственное цианобактериям, характерно для антагонистических взаимоотношений в природных экосистемах и модельных экспериментах (Гольдин, 2013). Примеры антибактериальных свойств широко освещены во многих работах (Сиренко, 1988; Гольдин, 2003; Kaushik, 2009). Водно-спиртовые этанольные экстракты *Phormidium* sp. и *Microcoleus species* в различных концентрациях (0,2, 0,06, 0,03 и 0,015 мкг/мл) проявляли антибактериальную активность в отношении *Streptococcus enteritidis* и *Escherichia coli* (Thummajitsakul et al., 2012). Водные и этанольные экстракты цианобактерий *Anabaena circinalis* проявляли антибактериальную активность в отношении *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* и фунгицидную активность против *Aspergillus flavus*. Кроме того, *Nostoc commune* проявлял ингибирующую активность в отношении *E. coli*, *S. marcescens*, *Bacillus cereus*, *K. pneumoniae* и *Micrococcus luteus*. *Nostoc muscorum* обладал широким спектром активности в отношении грамположительных бактерий (*Staphylococcus aureus*, *M. luteus* и *B. cereus*), грамотрицательных бактерий (*Pseudomonas aeruginosa*, *K. pneumoniae* и *S. marcescens*) и микромицета *A. flavus*. Водный экстракт *Spirulina platensis* обладал антибактериальной активностью против всех протестированных видов, кроме *B. cereus* и *P. aeruginosa* (Shaieb et al., 2014).

Лабораторные смешанные ассоциации культур цианобактерий проявляют биоцидную активность и характеризуются дифференцированным ингибирующим эффектом (Гольдин, 2010). Альгицидное действие проявляли отогнанные с водяным паром масла *Microcystis aeruginosa* в разведении 1:100 в отношении *Aphanizomenon flos-aquae* и *Scenedesmus acuminatus* (Сиренко, 1972).

Известно, что цианобактерии являются естественными антагонистами грибов рода *Fusarium* (Kajiya et al., 1998). В ризосферной почве отмечено значительное ингибирование мицелиального роста гриба *Fusarium oxysporum* в случае совместного применения культур цианобактерии *Nostoc linckia* и стрептомицета *Streptomyces luteo-griseus* (Домрачева и др., 2009).

Цианобактерии *Lyngbya majuscula*, *Nostoc muscorum*, *Nostoc palludosum*, *Anabaena variabilis*, *Anabaena cylindrica*, *Scytonema ocellatum*, *Phormidium tenue*, *Nodularia harveyana*, *Fischerella muscicola*, *Tolypothrix* sp. проявляли ингибирующую активность в отношении широкого круга грибов, включая фитопатогены (Гольдин, 2013; Ramamurthy, 2012).

Экстракты отфильтрованной и лиофилизированной биомассы *Nostoc* проявляют фунгицидную активность по отношению к возбудителям заболеваний человека и растений *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*, *Colletotrichum trifolii*, *Fusarium roseum*, *Penicillium expansum* (Frosini, 1999).

Цианобактерии, наряду с известными препаратами биологического контроля, могут служить основой для разработки новых средств, например, защиты растений.

#### **1.5.4. Цианобактерии в эволюции биосферы**

Исследование феномена существования цианобактерий в экстремальных условиях позволяет воссоздать картину эволюции биосферы. Изучением цианобактериальных матов занимаются многие лаборатории мира. Наиболее изучены морские циано-бактериальные маты в озере Солар-Лейк (Krumbein, Cohen, 1977; Jorgensen et al., 1979, 1983; Cohen, 1989), в заливе Шарк-Бей Западной Австралии (Playford, 1980; Bauld, 1984), заливе Спенсер в Южной Австралии (Bauld, 1981,



1984), лагуне Фигуера и Гуерреро Негро в Калифорнийском заливе (Stolz, 1993), а также в Персидском заливе, на Багамских островах и в солёных заливах Сиваша в Чёрном море (Герасименко и др., 1992). Для исследования используется лабораторное моделирование циано-бактериальных сообществ и сопоставление морфологических признаков ископаемых остатков с признаками, наблюдаемыми при имитации фоссилизации современных форм цианобактерий (Орлеанский, Герасименко, 1982; Бурзин, Орлеанский, 1995; Герасименко и др., 1996; Самылина, Герасименко, 2011).

Циано-бактериальные маты были распространены на Земле в древнейшие геологические эпохи, они стояли у «истоков» жизни на Земле. Первые несомненные остатки цианобактерий обнаружены в формациях с возрастом 2,0-2,7 млрд. лет (Колосов, 1989; Сергеев, 1992; *The biology ...*, 1982; Schopf, Klein, 1992). Их появление обусловлено, предположительно, геологическими причинами. С одной стороны, возникли многочисленные мелководные области, благоприятные для массового развития микроорганизмов; с другой стороны, эти стабильные участки земной коры позволили сохраниться слабоизменённым породам, содержащим микроорганизмы (Сергеев и др., 1996). Существует убеждение, что циано-бактериальные маты прошли неизменными через всю историю Земли, и их образование обусловлено микроорганизмами, весьма близкими к современным (Заварзин, 2003).

Загадка цианобактерий заключается в том, что некоторые современные виды имеют сохранившуюся морфологию многотысячелетней давности и разнообразие физиологических реакций, обеспечивших адаптацию к катастрофическим переменам в структуре древних экосистем (среди которых глобальный экологический кризис – «кислородная революция») и возможность захвата экологических ниш в современной биосфере (Панкратова, 2001).

То, что именно цианобактерии имеют прекрасно документированную палеонтологическую историю, объясняется тем, что эти сложно организованные и морфологически дифференцированные прокариотные организмы имеют размеры клеток, превышающие размеры большинства микроорганизмов, и могут

быть идентифицированы микроскопически (Герасименко, Ушатинская, 2002).

Микропалеонтология представила бесспорные доказательства существования цианобактерий в докембрии. Их ископаемые остатки сохранились в виде микрофоссилий, отпечатков на горных породах, продуктов жизнедеятельности, обнаруживаемых химическими методами (Актуальные ..., 1986; Герман, 1990; *The Ecology ...*, 2000). Более 3,5 млрд. лет насчитывают строматолиты – слоистые осадочные породы, сформированные в результате роста и метаболической деятельности водорослевых сообществ, прежде всего цианобактерий, и их взаимодействия с окружающей средой, выражающегося в связывании, улавливании и захватывании частиц минерального осадка с последующей цементацией его в породу (Герасименко, Ушатинская, 2002). Строматолиты доминировали на протяжении всего докембрийского этапа развития биосферы. В раннем протерозое обитали циано-бактериальные сообщества, практически не отличимые от современных и сохранившиеся до наших дней в виде кремневых псевдоморфоз или как органостенные мумифицированные оболочки. Во многих случаях эти фоссилии почти неотличимы от ныне живущих цианобактерий (Микрофоссилии, 1989; Самылина, Герасименко, 2011; Schopf, Klein, 1992; Schopf, 1993). Благодаря грамотрицательной клеточной стенке, наличию чехлов и оболочек, покрывающих клетки, наиболее уверенно по ископаемым остаткам идентифицируются представители порядков *Chroococcales*, *Entophysalidales* и *Oscillatoriales* (Бурзин, 1996).

На первых этапах биологической эволюции нашей планеты у ее поверхности кислород отсутствовал. Полагают, что кислородный фотосинтез впервые возник у первичных цианобактерий, вследствие этого в атмосфере появился свободный кислород (Гусев, Минеева, 1993; Fogg et al., 1973). Цианобактерии приспособлялись в процессе эволюции к изменяющимся условиям, расширяя адаптационные возможности, прежде всего, через захват новых полей жизни, в первую очередь, - суши. На ранних этапах её освоения возникли адаптация к избытку солнечной радиации (выработка пигмента

сцитонемии); приспособление к пересыханию (образование мощного слоя колониальной слизи); подготовка к борьбе с силой тяжести (создание клеточных стенок повышенной прочности и объединение нитей в маты с повышенной жесткостью) (Бурзин, 1998).

Постепенно, более высокоорганизованные конкуренты вытеснили цианобактерии, накапливающие большие биомассы, в экологические ниши с экстремальными условиями, такие как гиперсолёные лагуны морей, в районы с гидротермальной деятельностью, в щелочные озера. И в этих местах в настоящие дни развиваются микробные сообщества, в виде циано-бактериальных матов, - аналоги древних строматолитов (Герасименко, 2002).

#### **1.5.5. Циано-бактериальные маты экстремальных местообитаний**

Симбиотические отношения между членами сообщества облегчают существование в суровых условиях среды. Наибольший интерес со стороны исследователей вызывают циано-бактериальные маты, которые характерны для высокотемпературных кальдер, холодных серных источников, гиперсолёных лагун и т.д. Высокие температуры (50-80°C), повышенная солёность (8-30%), присутствие сульфатов, сероводорода создают в них экстремальные условия, невозможные для жизнедеятельности других водных организмов (Бонч-Осмоловская, 2004). Напротив, циано-бактериальные маты в таких водных экосистемах не только способны к существованию, но и обладают продуктивностью и наращивают крупные биомассы.

По современным представлениям циано-бактериальные маты являются автономными сообществами, где присутствуют и продукционная ветвь углеродного цикла, осуществляемая цианобактериями, и деструкционная ветвь, осуществляемая разными бактериями (Заварзин, 2003). Это строго морфологически оформленные сообщества разнородных организмов, эдификатором которых служат, образующие гликокаликс, цианобактерии. В циано-бактериальном мате взаимодействуют представители разных трофических групп, осуществляя полный цикл биогенных элементов (Заварзин,

2003). Макроструктура мата отражает последовательность трофических взаимодействий между группами организмов.

Большой вклад в изучение микробных сообществ внесли работы русских исследователей, показавших трофические взаимодействия различных организмов, осуществляющих процессы аэробной и анаэробной деструкции (Исаченко, 1951; Бонч-Осмоловская и др., 1988; Жилина, Заварзин, 1991).

Доминирующим звеном в циано-бактериальном мате являются фототрофные бактерии, среди которых цианобактерии являются основными продуцентами органического вещества и формируют структуру мата. Они образуют «псевдоткань», в которой развиваются остальные группы организмов. Развитие цианобактерий в мате определяется в первую очередь освещённостью. Маты развиваются в мелководных условиях, и для них важна прозрачность воды над матом, обеспечиваемая удалением мути как неорганической, так и планктонной. Органические вещества, образуемые цианобактериями, используются гетеротрофами, которые разлагают их до простых соединений. Эти соединения нужны сульфатвосстанавливающим бактериям, которые восстанавливают сульфаты и серу. Попутно они возвращают фотосинтетикам исходные вещества (рис.1).

Аноксигенный фотосинтез в мате осуществляют в основном пурпурные и зеленые серные бактерии. Занимая среднюю часть мата, эти микроорганизмы, с одной стороны, задерживают фотосинтетический кислород, поступающий от цианобактерий, с другой, защищают последних от сероводорода, который продуцируется сульфатредукторами в нижних слоях мата. Однако ряд цианобактерий также способен к аноксигенному фотосинтезу. Сульфид у большинства цианобактерий окисляется до элементной серы, которая выпадает снаружи клетки или остается прикрепленной в виде дисперсных частиц на слизистом чехле (Stal, 2000).

Основным свойством циано-бактериальных матов является слоистая структура и вертикальное распределение функциональных групп микроорганизмов по слоям (Stal et al., 1985; Stal, Caumette, 1994). Эта структура

– результат физико-химических градиентов, которые присутствуют в матах и зависят от метаболической активности самих микроорганизмов (Jorgensen et al., 1983; Герасименко, Ушатинская, 2002).

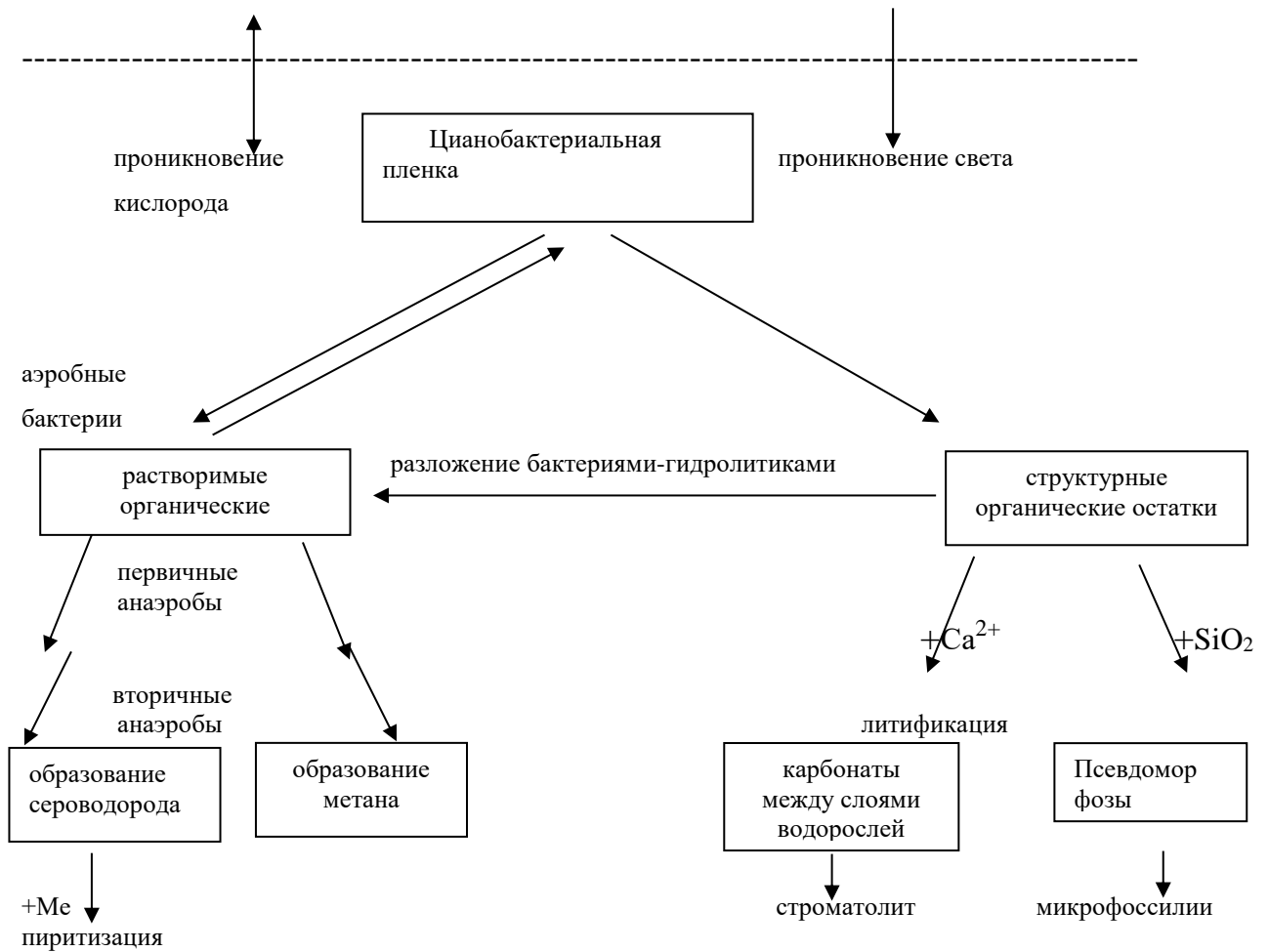


Рис.1. Основные процессы, происходящие в циано-бактериальном сообществе (Заварзин, Крылов, 1983)

По морфологии циано-бактериальные маты представляют собою плотные структурные образования с ясно выраженными слоями, окраска которых определяется или цветом пигментов микроорганизмов, или образуемыми минералами. Во всех сообществах, независимо от места обитания, можно выделить три зоны: аэробную – с развитием цианобактерий, строго анаэробную – с развитием сульфидогенов и метаногенов, и промежуточную – с развитием факультативных аэробов. Верхняя аэробная зона с развитием цианобактерий имеет зеленый цвет; средняя зона, занятая фототрофами имеет желтый (при

развитии зеленых бактерий) или вишневый цвет (при развитии пурпурных бактерий). Анаэробная зона развития сульфидогенов имеет черную окраску, так как здесь происходит выделение сероводорода, который, соединяясь с железом, образует гидротроилит, окрашивающий зону в черный цвет (Заварзин, 2003).

Несмотря на широкое климатическое и географическое распространение морфология матов сходна. Это свойство распространяется на морские, лагунные, внутриконтинентальные маты высокоминерализованных озер и в меньшей степени – на маты термальных источников. Циано-бактериальные маты в настоящее время встречаются в разных природных условиях, но общим для всех их местообитаний является отсутствие высшей растительности и животных (Stal, 2000; Заварзин, 2003). Отрицательная корреляция циано-бактериальных матов с беспозвоночными является четко установленным фактом, хотя причины отсутствия хищников могут быть различны: высокая солёность, температура, концентрация сероводорода. Поэтому сейчас маты, за исключением эфемерных на грунте, обычны лишь в экстремальных условиях.

В литературе подробно описаны термофильные, галофильные (Герасименко, 1985; Дубинин и др., 1995; Герасименко и др., 2003; D'Antoni, et al., 1989; Stal, 2000) и алкалофильные маты (Герасименко и др., 1996; Заварзин и др., 1999; Guererro et al., 1994; Schultze-Lam et al., 1996).

Галофильные циано-бактериальные сообщества развиваются в областях с аридным климатом, когда испарение преобладает над поступлением влаги, в эфемерных континентальных водоёмах, на отмелях супралиторали и в гиперсоленых лагунах, в прибрежных морских приливных зонах (Stal, 1994, 2000). Особенно когда происходит медленное заполнение водой больших площадей на короткий период прилива. Осадок часто не заводняется, результатом чего являются большие колебания в водной среде солености и температуры, и в итоге условия становятся экстремальными. Кроме того, эти зоны не обогащены питательными веществами. Цианобактерии накапливая органические вещества с помощью фотосинтеза и азотфиксации поселяются в таких условиях первыми и являются устойчивыми к длительным периодам

высыхания. Исследовано влияние частоты приливов на структуре и микробиологическом многообразии циано-бактериальных матов (Rothrock, Garcia-Pichel, 2005). Дана характеристика цианобактериям, бактериям и археям в сообществе. Показана корреляция между разнообразием матов и частотой приливов. Частота приливов играет большую роль в формировании структуры циано-бактериальных матов, формообразующим компонентом которых являются цианобактерии, наиболее толерантные к вышеописанным экстремальным условиям. Циано-бактериальные маты обнаружены в приливной зоне островов южнее Северного моря (Германия), вдоль восточного побережья Северной Америки (Северная Каролина), берегов Тихого океана (Мексика), Западной и Южной Австралии. Подробно такие циано-бактериальные маты описаны Pierson (1992).

Доминирующей цианобактерией почти всех современных галофильных матов является *Microcoleus chthonoplastes*. Вместе с *Microcoleus* развиваются другие трихомные осцилляториевые цианобактерии из родов *Spirulina*, *Oscillatoria*, *Lyngbya*. Подробно изучены циано-бактериальные маты в озере Сиваш (Герасименко и др., 1992).

Циано-бактериальные маты гиперсоленых Багамских озер являются индикаторами повышения активности тропических ураганов (Paerl et al., 2003). При приближении серии Атлантических ураганов происходило резкое повышение продуктивности циано-бактериальных матов. Ввод ураганами пресной воды в зону развития матов обуславливало интенсивность их развития.

Изучение циано-бактериальных матов в тающих озерах различной солености ледяного шельфа Антарктики (Jungblut et al., 2005) показало их большое разнообразие. Идентифицированы 22 вида цианобактерий, относящиеся к родам *Phormidium*, *Oscillatoria*, *Lyngbya*. В озере Fresh определено 17 видов, в Orange – 9 видов, самое маленькое разнообразие наблюдалось в гиперсоленом озере Salt – 5 видов.

Биологические особенности организмов, входящих в галофильные циано-бактериальные сообщества, обуславливаются их способностью переносить

высокую концентрацию солей вне клетки. Способность противостоять осмотическому стрессу предполагает повышение осмотического давления внутри клетки (Жилина, Заварзин, 1991).

Содовые озёра, являющиеся экстремальными местами обитания, образуются в результате испарения продуктов углекислотного выщелачивания во внутриконтинентальных бессточных областях (Заварзин и др., 2003). Впервые микробиологию содовых озёр исследовал Б.Л. Исаченко (1951) в Кулундинской степи. Содовые озера населены сообществом экстремальных алкалофилов, которые приспособлены к жизни в высокоминерализованной среде с избытком  $\text{Na}^+$  и очень низким содержанием  $\text{H}^+$ . Алкалофильные цианобактерии очень разнообразны и включают представителей родов *Synechocystis*, *Synechococcus*, *Phormidium*, *Oscillatoria*, *Spirulina*. Выделение культур цианобактерий на искусственных средах позволило определить диапазон их развития в координатах минерализация – рН и солёность – щелочность. Выяснилось, что при изменении солёности происходит смена видового состава цианобактерий и морфотипов одноклеточных цианобактерий (Дубинин и др., 1995). Развитие планктонных цианобактерий характерно для африканских содовых озёр, и малая прозрачность воды вытесняет бентосные формы на отмели. Структура алкалофильного циано-бактериального мата была подробно изучена для озера Как-Холь Тувы и содового озера Хилганта в Бурятии, где доминировал *Microcoleus*, а в верхнем слое – *Phormidium* (Герасименко и др., 1996; Намсараев и др., 2018). Показано, что по структуре алкалофильный мат не отличается от галофильного.

Термофильные маты развиваются в термальных источниках с нейтральным или слабощелочным рН. Но часто термальные источники содержат сульфиды, которые лимитируют формирование циано-бактериальных матов, поэтому в кислой среде они не развиваются (Castenholz, 1977). Сообщества с доминированием цианобактерий наблюдается при температуре 60° (Герасименко, 1985). Исследовано микробное сообщество из термального источника, которое было представлено цианобактериями и *Chlorobium*



*aurantiacus*. В некоторых источниках такие сообщества образуют сплошной ковер (маты), причем *Ch. aurantiacus* растёт ниже слоя, образованного цианобактериями. В таких условиях рост *Ch. aurantiacus* обеспечивается в основном органическими веществами, которые образуют в процессе фотосинтеза цианобактерии. Поэтому рост этого микроорганизма не связан с обязательным наличием света. С другой стороны, в некоторых источниках, содержащих сероводород, *Ch. aurantiacus* образует верхний слой мата, а ниже растут цианобактерии.

Исследован количественный и качественный состав бактерий-ассоциантов термофильного штамма *Synechococcus elongatus*, выделенного из термального источника Курильских островов (Панькова, Мануковский, 1980). Количество бактерий составляло в среднем  $7,0 - 10^7$  кл/мл, они были представлены пятью видами рода *Bacillus* и одним видом рода *Micrococcus*.

Доминирующей формой термофильных циано-бактериальных матов Узона является *Mastigocladus laminosus*, для Кунашира *Synechococcus elongates* (Герасименко, 1985, 2002). Присутствуют разные виды *Phormidium*, прежде всего *P. laminosum*. Виды *Phormidium* образуют микроколонии на поверхности мата. Циано-бактериальные маты с доминирующими формами из осцилляториевых развиваются при температуре 40-45°. Термофильное циано-бактериальное сообщество имеет чёткую слоистую структуру. В горячей воде, обдаваемые кипящей водой из гейзеров, как в Долине Гейзеров, Камчатка, циано-бактериальные маты плотно связаны с субстратом. Термофильный циано-бактериальный мат отличается высокой скоростью продукционных процессов (Горленко и др., 1987). Аноксигенные фототрофы не характерны для термофильного мата, и в этом его отличие от мезофильных матов минерализованных водоёмов. Они появляются при температуре 50°. К ним относятся *Chlorobium tepidum* (Горленко и др., 1986; Заварзин, 2003).

В настоящее время известны геотермальные источники, в которых идёт бурное развитие циано-бактериальных матов с абиогенным сероводородом и с сероводородом, образованным в процессе бактериальной сульфатредукции в

экосистемах, богатых органическим веществом. Если эти экосистемы доступны свету, то в них могут развиваться четыре разные группы фототрофных прокариотов: пурпурные фототрофные бактерии, зелёные фототрофные бактерии, Chloroflexaceae и цианобактерии. Часто цианобактерии обнаруживаются в богатых сероводородом средах, где его воздействие может быть либо постоянным, либо пульсирующим. Примером первого типа являются горячие источники с постоянным поступлением абиогенного  $H_2S$ . Жизнь в восстановленных условиях представляет одновременно некоторые преимущества и некоторые существенные трудности. Сероводород обеспечивает создание низкого окислительно-восстановительного потенциала, благоприятного для развития анаэробных организмов. Химические или биохимические реакции окисления сероводорода служат действенным средством снижения его потенциальной токсичности. При этом  $H_2S$  уменьшает или даже полностью снимает воздействие кислорода при фотоингибировании, фотоокислении и фотодыхании. Более того, для бескислородного фотосинтеза сероводород служит в качестве донора электронов.

Анализ выше описанной научной литературы показывает, что видовой состав и продуктивность сообществ определяется физико-химическими условиями среды обитания, в основном экстремальными факторами – концентрацией сероводорода, высокой температурой, солёностью, рН.

### **1.5.6. Цианобактерии техногенных территорий**

Экстремальные местообитания достаточно широко распространены в природе, хотя могут иметь и антропогенное происхождение, например, загрязнённые водные и почвенные территории и акватории, сточные воды и водоемы, имеющие техногенное происхождение (Держинская, 1993; Бонч-Осмоловская, 2004). Цианобактерии и цианобактериальные симбиозы (сообщества) способны к деградации поллютантов и ксенобиотиков на техногенных территориях и акваториях (Домрачева и др., 2009).

Известно участие цианобактерий и сообществ на их основе в

биодegradации нефти (Гапочка, 1981; Штина, Некрасова, 1988; Ленова, Ступина, 1990; Сопрунова, 2005). Доказано увеличение количества углеводородокисляющих организмов в присутствии цианобактерий и способность ассоциации цианобактерии - нефтеокисляющие бактерии противостоять отрицательному воздействию нефтяного загрязнения (Гусев и др., 1982). Методом полного факторного эксперимента установлено, что наличие в среде клеточной биомассы цианобактерий способствует процессу биодegradации нефтепродуктов и лучшему росту микобактерий. Внеклеточные выделения цианобактерий и их клеточная биомасса положительно влияли на рост микобактерий в присутствии азота и фосфора.

Два вида цианобактерий *Nostoc linckia* и *N. punctiforme* доминировали в загрязнённой пахотной почве (Кабиров, 1991). На участках техногенных песков с нефтяным загрязнением, зарастающих высшими растениями, наблюдали представителей порядка *Oscillatoriales*.

Почвенные водоросли, как пионеры зарастания техногенных субстратов используют для индикации состояния нарушенных земель (Штина, 1985, 1990; Панкратова и др., 1994; Панкратова, Домрачева, 1995). Видовой состав почвенной альгофлоры техногенно-засоленных территорий ОАО «Сода» на территории Башкирского Предуралья отражал зональные и экологические особенности местообитания, выражающиеся в доминировании цианобактерий и диатомовых водорослей и частой встречаемости галофильных видов (Богданова и др., 2010). Ответные реакции водорослей на изменение факторов среды проявляются, например, в изменении видового разнообразия, морфологии клеток, численности особей, а также состава и структуры альгогруппировок, в замене одних группировок другими и даже в полном исчезновении водорослей (Штина, 1990; Кабиров, 1993; Кондакова, Домрачева, 2020). При исследовании нарушенных экотопов на территории нефтяных месторождений Варандейской группы (полоса северных тундр) был сделан вывод, что на загрязнённых нефтепродуктами моховых станциях представители порядка *Oscillatoriales* приходят на смену выпавшим видам, свойственным зональным группировкам

водорослей. По данным Н.М. Зимониной (1998, 2000) в нефтезагрязненных почвах тайги, лесостепи и лесотундры первенствующее положение занимает семейство *Oscillatoriaceae*, что отражает антропогенный характер исследованных экотопов. Известно, что представители семейства тяготеют к свободным от высших растений участкам. Это часто наблюдается в условиях нефтяного загрязнения.

Изучены циано-бактериальные маты, развивающиеся на загрязненных нефтью территориях Африканского побережья Суецкого залива и в озере Солар Лейк Синая (Cohen, Aizenshtat, 2000; Cohen, 2002). Образцы всех матов показали эффективную деградацию сырой нефти на свету, сопровождаемую интенсивным развитием представителей родов *Phormidium* и *Oscillatoria*. Однако в аксеничных культурах данные цианобактерии не участвовали в разложении нефти. Результаты показывают, что деградация нефти произошла благодаря деятельности аэробных гетеротрофных бактерий – спутников. Изучаемые циано-бактериальные маты были сформированы в различной солености (до 21 %), и могут использоваться для деградации нефтяных пятен береговой линии. Известен факт колонизации цианобактериями загрязненных разливами нефти берегов Саудовской Аравии в 1992 году (Barth, 2003).

Изучено разнообразие бентосных циано-бактериальных матов, развивающихся в загрязненной береговой зоне (Wadi Gaza) и деградация ими бензиновых составляющих в лабораторных условиях (Abed et al., 2002). Структурообразователями матов явились роды *Phormidium* и *Oscillatoria*. В составе матов обнаружены представители родов *Cytophaga*, *Flavobacterium*, *Bacteriodes*, а также зеленые серные бактерии.

Известна способность цианобактерий к сорбции тяжелых металлов, таких как кадмий, свинец, медь (Горностаева и др., 2013; Фокина и др., 2020; Домрачева и др., 2021; Parker et al., 2000). Уровень сорбции может достигать 96-99%. Внесение в почву хлорида мышьяка, метилфосфоновой кислоты, пирофосфата натрия, азиды натрия происходит снижение доли эукариотных водорослей в структуре популяций с одновременным возрастанием процентного

содержания цианопрокариот (Кондакова, 2012). Цианобактерии обнаружены даже на зольных промышленных отвалах с высоким содержанием мышьяка и цианистого калия (Еленкин, 1936). Штаммы цианобактерий *Synechocystis* sp. 1307, *Leptolyngbya* sp. 1323, *Phormidium* sp. 1316, выделенные из водоемов, загрязненных радиоактивными отходами, оказались устойчивыми к повышенной минерализации и активно сорбировали радионуклиды (Бакеева, 2011).

Исследование техногенных водоемов показало, что сточные воды различного состава являются средой обитания и для циано-бактериальных сообществ. Л.Б. Доливо-Добровольским (1969), И.С. Держинской (1993), Т.В. Коронелли (1996), Г.Ю. Райской (2003) обнаружены циано-бактериальные сообщества в составе фитопланктона, а также в виде пленок и обрастаний в сточных водах. В лабораторных условиях в накопительных культурах на основе сточной воды циано-бактериальные маты получены через 18-28 месяцев наблюдения, при разбавлении сточной воды питательной средой для цианобактерий – в течение 4-6 месяцев.

Лабораторные техногенные накопительные культуры представляют собой циано-бактериальные маты «типа природных» и характеризуются определёнными свойствами: имеют замкнутую в пространстве структуру, обладают относительной субстратной и энергетической независимостью от ингредиентов сточной воды за счет биохимических связей ассоциантов (Держинская, 1993). В структуре сообщества реализованы принципы инженерии: иммобилизация гетеротрофов; наличие аэробных и анаэробных зон; слоистость с определённым набором ассоциантов; защитная слизистая оболочка; регенерация кислорода; наличие косубстрата в виде легкоразлагаемых органических веществ сточных вод, фрагментов деструкции, экзометаболитов. Вселяемое циано-бактериальное сообщество, вступая во взаимодействие с микроорганизмами сточных вод, на основе симбиоза и антагонизма формирует определённый состав ассоциантов с полиферментной активностью.

И.С. Дзержинской (1987, 1989, 1993) установлено, что техногенные циано-бактериальные сообщества разлагают сульфатный лигнин, латекс, жировые компоненты, фенолы и другие соединения, осветляют и обесцвечивают сточные воды, утилизируют их осадки. Было выявлено, что чистые культуры ассоциантов, за исключением нескольких штаммов, проявляют слабую биохимическую активность в отношении трудноразлагаемых органических веществ и токсикантов, которую стимулируют цианобактерии и косубстраты.

Таким образом, циано-бактериальные сообщества в настоящее время могут быть использованы для разработки технологий очистки сточных вод, восстановления техногенных водных и почвенных территорий.

Принимая во внимание то, что в природе виды цианобактерий всегда представляют симбиоз с другими микроорганизмами, можно предположить, что именно это объединение играет важнейшую роль в универсальности адаптационных возможностей сообществ. В процессе адаптации цианобактерий к условиям среды происходит селекция бактериальных спутников, по принципу наиболее полного использования пищевых и энергетических источников конкретных биотопов. При этом допускается, что цианобактерии изменяют химический состав клеток (Rodger et al., 1986), количество и качество экзометаболитов (Горюнова и др., 1969), что в свою очередь должно влиять на состав их бактериальных спутников (видовой или даже физиологических групп) и связанные с ними энергетический, газовый режимы. Это было показано И.С. Дзержинской (1993) при вселении циано-бактериального сообщества, культивируемого на питательной среде в различные по составу сточные воды.

Таким образом, при завоевании новой экологической ниши формируется новый циано-бактериальный консорциум, с прежним доминантом, продуцентом органического вещества – цианобактериями, и новыми компонентами – бактериальными спутниками. Можно предположить, что способность цианобактерий в зависимости от конкретного местообитания формировать новые функциональные консорциумы повышает экологические возможности

цианобактерий и их партнеров в устойчивости к различным экстремальным условиям (Панкратова, 2001).

Для каждого физико-химического фактора, вызывающего необратимые изменения биомолекул большинства живых микроорганизмов, существует группа высокоспециализированных прокариот, оптимально развивающихся именно при экстремальных значениях данного фактора.

Особый интерес представляют микроорганизмы, развивающиеся в высокоминерализованных техногенных средах, так как для них не разработаны методы очистки и реабилитации. Анализ вышеприведенных научных данных позволяет утверждать, что такими свойствами обладают цианобактерии и образуемые ими сообщества. Литературные данные об исследовании цианобактерий и их сообществ на высокоминерализованных техногенных территориях малочисленны, и затрагивают они только почвенную биоту (Штина, 1985; Зимонина, 1998). В водных системах известно развитие цианобактериальных матов в условиях переменной солёности в гиперсолёных лагунах и в лабораторных условиях (Заварзин и др., 1993; Герасименко и др., 2003; Jungblut et al., 2005). Следовательно, исследование цианобактерий и образуемых ими сообществ в техногенных высокоминерализованных водоемах представляет научный и практический интерес.

#### **1.5.7. Участие цианобактерий в цветении водоемов и почв**

Попадание сточных вод в открытые водоемы приводит к загрязнению органическими веществами - эвтрофикации водоемов, вследствие чего начинается активное развитие водорослей, в том числе цианобактерий – «цветение» (Paerl, Huisman, 2009). Некоторые цианобактерии, образующие зоны цветения, выделяют токсины, которые делают воду непригодной для потребления (Белых и др., 2009; Atkins et al., 2001; Cyanobacteria., 2013). Периоды увеличения биомассы цианобактерий заканчиваются массовым отмиранием клеток, лизисом (разрушением) клеточной стенки и последующим выбросом внутриклеточных цианотоксинов в воду (Сиренко, 1988; Чернова и др., 2017).

Начиная с 2000-х гг. цианобактериальные цветения часто регистрируются в России. В большинстве исследованных водных объектов России было отмечено доминирование более 20 потенциально токсичных цианобактериальных видов родов *Aphanizomenon*, *Dolichospermum*, *Planktothrix*, *Microcystis* (Чернова и др., 2017).

Цианобактерии образуют ряд опасных токсинов: микроцистины и нодулярины относят к «факторам быстрой смерти» (гибель лабораторных животных в течение 1–4 ч). Анатоксины и сакситоксины – к «факторам очень быстрой смерти» (гибель в течение 2–30 мин) (Румянцев, Крюков, 2012). Для определения токсигенности цианобактерий широко используется полимеразная цепная реакция с праймерами к генам, ответственным за синтез токсинов (Тихонова и др., 2006). Микроцистины являются гепатотоксинами. Основным механизмом токсичности микроцистинов — ингибирование протеинфосфатаз (PP) типа 1 и 2A (Runnegar et al., 1995). Продуцентами микроцистинов в пресноводных водоёмах являются виды родов *Microcystis*, *Planktothrix*, *Dolichospermum*, *Phormidium* и *Anabaenopsis* (Meriluoto et al., 2017). Анатоксин-а(s) является одним из редких органофосфатов природного происхождения с инсектицидным действием, на основе которого могут быть созданы пестициды нового поколения (Чернова и др., 2017). Синтетические органофосфаты, используемые уже давно, растворяются в липидах и имеют тенденцию накапливаться в клеточных мембранах различных органов человека и животных. В отличие от них анатоксин-а(s) растворяется в воде и, следовательно, более подвержен биодegradации. Анатоксины и сакситоксины являются нейротоксинами. В настоящее время установлено, что некоторые роды пресноводных цианобактерий — *Aphanizomenon*, *Dolichospermum*, *Cylindrospermopsis*, *Lyngbya*, *Scytonema*, *Planktothrix* и *Raphidiopsis* — могут синтезировать сакситоксины (Pearson et al., 2010; Wiese et al., 2010).

Штаммы цианобактерий *Desertifilum* sp. и *Nostoc* sp., *Anabaena* SP-35, *Nostoc* SP-4, выделенные из источников ущелья Тургенъ (Казахстан), источников Карловы Вары (Чехия) и из озера Шар-Нуур Баян –Улгийского аймака



(Монголия) оказались токсичными для дафний. Масс - спектрометрический анализ позволил отнести токсины цианобактерий к классу циклических депсипептидов (Болатхан и др., 2016).

При исследовании циано-бактериальных сообществ в загрязненных бассейнах Кореи показано, что *Microcystis* и *Anabaena* являются доминирующими представителями эвтрофных загрязненных и олиготрофных водоемов, соответственно (Jin-Book Kim et al., 2004). Установлено, что существует корреляция между превалирующими цианобактериями и загрязненными бассейнами Кореи.

Цианобактерии известны своей способностью размножаться в почвах до степени макроразрастаний – пятен «цветения», в которых численность достигает 40 мдн клеток на 1 см<sup>2</sup> (Домрачева, 2005). Доказано, что на любой стадии сукцессии «цветение» почвы – мощный средообразующий фактор, создающий надежные экологические ниши для гетеротрофного комплекса: бактерий, грибов и беспозночных животных (Домрачева, 1998).

Особенно существенную роль в формировании биоценозов играют выделения внеклеточных метаболитов цианобактерий. В период массового развития цианобактерий виды *Scenedesmus*, *Pediastrum* и других зеленых водорослей проявляют тенденцию к исчерновению или существуют в резистентной форме (Строганов, 1964). Происходит подавление развития видов других систематических групп. *Oscillatoria* sp. подавляет развитие *Chlorella vulgaris*. При массовом развитии *Microcystis aeruginosa* не наблюдается развитие *Aphanizomenon flos-aquae*. Последний также в период активной вегетации может подавлять *Microcystis*.

Подобное явление подавления роста одних водорослей за счет продуктов жизнедеятельности других получило название гетероантагонизма (Сиренко, 1972). В настоящее время такой процесс называется – аллелопатические взаимодействия, это свойство одних организмов (микроорганизмов, грибов, растений, животных) выделять химические соединения, которые тормозят или подавляют развитие друг

их. Такие взаимодействия играют большую роль в формировании естественных биоценозов, поскольку последовательность «цветения» и периодичность доминирования отдельных видов в значительной мере обуславливается тормозящим действием физиологически активных веществ, выделяемых водорослями и цианобактериями, а всякое подавление отдельного вида или биоценоза можно объяснить, как последовательную смену (Сиренко, 1972).

Таким образом, в современное время актуальна разработка методов борьбы с цветением на основе природоподобных технологий, путем избирательного подавления развития одних организмов другими. Например, аллелохимические соединения макрофитов можно рассматривать как природные альгициды, которые могут стать основой конвергентной технологии подавления развития планктонных цианобактерий (Kurashov et al., 2020).

## **1.6. Экологические особенности актиномицетов**

### **1.6.1. Морфологические, физиологические и биохимические свойства актиномицетов**

Актиномицеты (*Actinomyces*) — род грамположительных факультативных анаэробных бактерий. Имеют вид тонких, диаметром от 0,2 до 1,0 мкм и длиной около 2,5 мкм, прямых или немного изогнутых палочек с утолщёнными концами. Часто образуют нити длиной до 10-50 мкм.

Ранее актиномицеты классифицировали, как грибы, позже, исходя из морфологии и биологических свойств, они подверглись реклассифицированию, как бактерии, и включены в семейство *Actinomycetaceae*. По современной классификации актиномицеты относятся к домену Bacteria Филуму B14 *Actinobacteria* (Нетрусов и др., 2006).

Данные бактерии характеризуются образованием гиф. На гифах воздушного мицелия находятся споры. Споры имеют разную форму и поверхность, что является важной характеристикой в видовом определении данных микроорганизмов. Длинный ветвящийся мицелий актиномицетов не имеет перегородок, тонкий в поперечнике (0,2-1,2 мкм), чем сильно отличается

от мицелия грибов, имеющих в поперечнике от 3 до 7 мкм (в 3-15 раз больше). В процессе развития колоний актиномицетов происходит дифференциация мицелия. Актиномицетный мицелий берет свое начало из спор, в которых содержится запас питательных веществ, помогающих микроорганизму переживать неблагоприятные условия. Когда споры оказываются в благоприятной среде для развития, они стремительно прорастают. Уже через 8-10 часов можно увидеть возникновение самых первых нитей, а спустя еще 18 часов появляется субстратный мицелий. Через 2 дня можно наблюдать уже воздушный мицелий (Закалюкина и др., 2004; Звягинцев, Зенова, 2001). Завершается формирование колонии актиномицетов на 4-21 день – в данном аспекте многое зависит от внешних факторов. Культуры актиномицетов на питательных средах могут быть бесцветными и окрашенными в разные цвета (Гаузе, 1983).

Актиномицеты характеризуются сложными жизненными циклами (Лискова и др., 2016). Они, в отличие от других бактерий, способны образовывать хорошо развитый мицелий, который обнаруживается преимущественно в микроразнообразиях с содержанием органических веществ (Зенова, 1992, 2000; Белюченко, 2018). Как показывает практика, наиболее часто актиномицеты являются нейтрофилами, но при этом отдельные роды алкалофильны либо же ацидофильны. Ученые выяснили, что в условиях кислой среды вегетативный этап длится значительно дольше, тогда как в щелочной, в свою очередь, данная стадия проходит намного быстрее (Гаузе, 1958; Zvyagintsev et al., 2009).

Основная часть актиномицетов является аэробами. При этом факультативные их разновидности обычно можно наблюдать только среди тех актиномицетов, которые отличаются краткосрочной стадией формирования мицелия. Некоторые ученые считают, что анаэробный метаболизм может быть результативен при условии достаточной относительной клеточной поверхности. Этого можно достичь путем фрагментации мицелия (Черноусова и др., 2005).

На сегодняшний день является доказанным тот факт, что актиномицеты

являются гетеротрофными организмами (хемоорганотрофами), среди них выделяются группы с различными уровнями требовательности к источникам питания (Zenova et al., 2000; Ningthoujam et al., 2013). Они ферментируют углеводы с образованием кислоты без газа. Продуктами ферментации являются уксусная, молочная, муравьиная и янтарная кислоты. Многие термофильные актиномицеты нуждаются для роста в присутствии витаминов – фолиевой кислоты, парааминобензойной кислоты, биотина (Бакулин и др., 2006; Brandao et al., 2002). Кроме того, актиномицеты могут хорошо расти на средах, обедненных органическим углеродом. Организмы, относящиеся к роду *Nocardia*, могут выполнять окисление водорода, метанола, метана методом хемосинтеза. Стоит отметить, что особую распространенность среди данных бактерий получила фиксация углекислого газа (Звягинцев и др., 2001).

Актиномицеты характеризуются усвоением различных веществ органического происхождения, что позволяет им легко и быстро культивироваться на искусственных средах и объясняет их широкое распространение в природе. Отличительные особенности имеет и синтез определенных аминокислот: например, при вторичном метаболизме они проходят шикиматный синтез соединений. Например, для них характерен путь расщепления глюкозы Энтнера-Дудорова, встречается полифосфатгексокиназа (вместо обычной гексокиназы), существуют особенности в синтезе ряда аминокислот; во вторичном метаболизме им свойственен шикиматный путь синтеза ароматических соединений, включение цельных углеродных скелетов глюкозы во вторичные метаболиты, например, антибиотики (Илич и др., 2007; Stevenson et al., 2013; Thuan et al., 2018).

Актиномицеты выделяются среди других бактерий наиболее сложной организацией генома и фенотипа на прокариотном уровне и превосходят все другие группы микроорганизмов по способности синтезировать антибиотики и другие физиологически активные соединения (Миндубаев и др., 2015; Демьянкова и др., 2020; Jung et al., 2018). Актиномицеты, за исключением термофилов, характеризуются сравнительно небольшой скоростью роста

(Виноградова и др., 2016; Rebets et al., 2008). Хранение почвенных образцов в условиях, не способствующих вегетативному росту прокариот, увеличивает содержание актиномицетов, учитываемое методом посева (Зенова, 1992). Предполагается, что различия, выявленные в фазово-структурной организации фосфолипидных фракций данных бактерий, могут служить показателем стабильности и устойчивости их мембранных структур к условиям длительного хранения (Филиппова и др., 2013).

В различных институтах и лабораториях исследователи выделяют ежегодно сотни тысяч культур актиномицетов из различных почв и выявляют среди них продуцентов антибиотиков (Бибикова и др., 2012; Линг и др., 2020; Terper et al., 2011; Yagüe et al., 2013).

К настоящему времени описаны сведения о том, что для поиска продуцентов биологически активных соединений, а также для экологических исследований применяется большое разнообразие методов селективного выделения актиномицетов (Jardine et al., 2002; Jung et al., 2014).

Актиномицеты служат неотъемлемой частью микробного комплекса почвы, составляя четвертую часть бактерий, вырастающих на питательных средах при посевах из почвенных разведений (Mascotti et al., 2013).

### **1.6.2. Развитие и роль актиномицетов в почвенных экосистемах**

Представители почти всех известных в настоящее время родов актиномицетов выделены из почв (Зенова, 1992, 2000; Закалюкина и др., 2004; Бурцева и др., 2016; Семенов и др., 2016, 2019; Широких и др., 2017; Назарова и др., 2019). С одной стороны, можно говорить о свойстве спор легко переносить неблагоприятные внешние факторы, с другой - о приспособленности вегетативного этапа мицелия применять различные источники питания (Шамханов и др., 2005; Ашихмина и др., 2012; Chater et al., 2003; García-Salcedo et al., 2018).

Чрезвычайно широкое распространение актиномицетов в природе дает основание полагать, что этим организмам принадлежит большая роль в

круговороте веществ, как органических, так и минеральных (Куликова и др., 2017; Кочкина и др., 2018; Polishchuk et al., 2001). Деятельность актиномицетов в почве связывают с синтезом и разложением гумусовых веществ, формированием плодородия, с продукцией антибиотических веществ, накоплением биологически активных соединений и азотным балансом почвы (Поляк и др., 2017; Srinivasa et al., 2008; Zenova et al., 2010). Отмечено, что количество актиномицетов увеличивается при попадании в почву легкодоступных субстратов: хитина, кератина, крахмала (Saadoun et al., 2009; Manucharova et al., 2016).

В большом количестве актиномицеты распространены в почве благодаря их способности легко приспосабливаться к среде обитания и довольствоваться органическими соединениями, которые непригодны для других микроорганизмов (Давыдова, 2001; Waksman et al., 2010). По данным исследований распространенности и видового разнообразия актиномицетов, культуры рода *Streptomyces* составляют 80–95% от всех актиномицетов, населяющих почву, а среди известных биоактивных микробных вторичных метаболитов подавляющее большинство продуцируются актиномицетами, 80% которых относятся к роду *Streptomyces* (Зенова и др., 1992, 2000; Звягинцев, 2001).

В результате исследования редких родов актиномицетов в почвах Азербайджана установлено, что на селективных средах выявляются представители родов *Microbispora* и *Streptomyces* (Абушова и др., 2010). Представители данных родов наиболее часто встречаются в лесных и горных экологических системах, где их распространенность достигает 60%. Среди стрептомицетов встречаются виды секции *Helvolo-Flavus* серии *Helvolus*, секции *Azureus* серии *Coeruleascens*, секции *Roseus* серии *Fuscus*.

Из почв различных географических районов Республики Беларусь выделено 20 изолятов бактерий, на основании морфологических признаков отнесенных к группе актиномицетов (Страшинская и др., 2017). Все они грамположительные аэробы, обладающие характерным специфическим запахом,

обусловленным продукцией эфирных масел, и способные расти на бедных питательных средах, образуя обильный воздушный мицелий с длинными цепочками спор.

Выявлены особенности распространения актиномицетов редких родов в почвах различных типов Монголии (Норовсурэн, 2001). Использование сукцессионного подхода к исследованию актиномицетов позволило автору впервые выявить временные промежутки и условия, определяющие максимальную популяционную плотность разных представителей мицелиальных прокариот в почве.

Актиномицеты активно развиваются в загрязненных почвах. Изучены актиномицеты в техногенных и чистых почвах Азербайджана методом, основанным на предварительной обработке почвенных образцов ультразвуком (Алиева, 2009). Отмечено, что в результате исследования выделены виды: *Chainia fumigata*, *S. citreus*, *S. sulphureus*, *S. massosporeus*, *S. oligocarbophilus*, которые являются новыми для почв Азербайджана.

Исследованы количественный и качественный составы актиномицетов в урбопочвах промышленной и транспортной зоны г. Воронеж (Назаренко и др., 2017). На основании многолетних исследований городских почв авторами определены реакции актиномицетов на антропогенное загрязнение.

В микрокосмах, загрязненных углеводородами, по сравнению с ненарушенными системами, отмечалось увеличение доли филума Actinobacteria, особенно рода *Galiella* (в образцах, загрязненных бензином) и рода *Nocardioides* (в образцах, загрязненных дизельным топливом) (Манучарова и др., 2017). Внесение полисахарида хитина в микрокосмы на фоне поллютантов на порядок увеличивает численность метаболически активного микробного сообщества, способствует оструктуриванию почвы и формированию агрономически ценной структуры, а также приводит к снижению количества остаточных нефтепродуктов.

По результатам метабаркодинга в филуме Actinobacteria в опытных образцах с углеводородами обнаруживаются представители как устойчивых, так

и чувствительных (семейство *Micromonosporineae*) к нефтезагрязнению родов (Манучарова и др., 2020). При внесении в почву нефти, в микробном сообществе формируется достаточно специфичная группа метаболически активных представителей, обладающих набором функциональных генов, отвечающих за деструкцию таких труднодоступных соединений, к которым относится нефть.

Следует отметить, что актиномицеты являются постоянным компонентом почвенных и ризосферных микробных сообществ. Мицелий актиномицетов, расположенный в прикорневой зоне растений, может достигать 30% от общего количества микроорганизмов. Данный факт свидетельствует о том, что мицелиальные прокариоты стремительно развиваются при условии сочетания популяций грибов и микроорганизмов (Карпачевский, 2004).

Однако в исследованиях ризосферной микрофлоры актиномицетам уделялось меньшее внимание, чем грибам и одноклеточным бактериям. Обзорные и экспериментальные работы, посвящённые непосредственно актиномицетам прикорневой зоны, единичны (Мерзаева, Широких, 2006; Мерзаева, 2007). Между тем актиномицеты могут играть важную роль в развитии растений, участвуя в снабжении последних элементами питания, витаминами, фитогормонами и другими факторами роста (Das, Mukherjee, 2000; Castillo et al., 2006).

Известно, что рассматриваемые организмы широко распространены в почвах всего земного шара, однако на их качественный и количественный состав значительное влияние оказывает географическое положение местности, тип почвы, влагоемкость, кислотность, температура, солёность, доступность питательных веществ и кислорода, химические и физические свойства, окультуренность и другие особенности (Красильников, 1965; Chater et al., 2010).

Установлено, что количество стрептомицетов, выделяемых из засоленных почв Прикаспийской низменности и пустынных почв Монголии, исчисляется сотнями и тысячами колониеобразующих единиц в 1 г (КОЕ/г) почвы (Зенова, 2007). По сведениям авторов, в засоленных почвах присутствует комплекс умеренно галофильных стрептомицетов. Авторами установлено присутствие в



стрептомицетном комплексе засоленных почв умеренно галоалкалофильных стрептомицетов, для оптимального роста которых необходима концентрация хлорида натрия, равная 5% и pH=8. Кроме того, выявлено, что в корковых солончаках дельты р. Аму-Дарья обнаружены мицелиальные прокариоты в количестве сотен КОЕ/г почвы. Исследователями зафиксировано наличие в стрептомицетном комплексе солончаков умеренно галофильных культур, растущих при концентрации NaCl в среде, равной 8%.

Исследования L. Carrillo с соавторами (2009) показали, что в субтропической среде Жужуй (Аргентина) распространены алкалотермофильные сообщества актиномицетов, которые хорошо развиваются на нейтральных и слабощелочных почвах.

Кроме того, установлено доминирование галоалкалофильных актиномицетов *S. pluricilirescens*, *S. prunicolor* в пустынных засоленных почвах (Зенова и др., 2011). Исследования показали, что среди термофильных актиномицетов в пустынных периодически прогреваемых почвах, кроме представителей рода *Streptomyces*, обнаружены такие роды, как *Actinomadura*, *Saccharopolyspora*, *Streptosporangium*.

В засоленных почвах среди актиномицетов обнаружены галофильные формы *Saccharopolyspora halophila*, *Actinopotyspora*, *Nocardiopsis*, *Prauserella halophila*, способные развиваться на средах, содержащих от 10% до 25% NaCl (Оборотов, 2007). Учитывая тот факт, что засоленные почвы характеризуются, как правило, щелочной реакцией среды, в них можно зафиксировать присутствие не только галофильных, но и алкалофильных актиномицетов.

В монографии В.В. Селянина с соавторами (2005) описана экологическая характеристика алкалофильных и галофильных почвенных актиномицетов, выявлена степень зависимости роста от кислотности среды и содержания соли в среде для алкалофильных, галофильных и галоалкалофильных актиномицетов, а также установлена возможность развития актиномицетов в условиях экстремально низкой влажности.

D.G. Zvyagintsev с соавторами (2009) утверждают, что актиномицеты

активно растут в засоленных почвах, так как, по полученным ими данным, плотность популяции актиномицетов в солончаках и засоленных пустынных почвах варьировала от сотен до десятков на 1 г почвы в зависимости от типа почвы и на 1-3 порядка ниже количества мицелиальных бактерий в основных типах почв.

Исследования В.Н. Гришко с соавторами (2010) показали, что в черноземах доминируют *S. violaceomaculatus* (секция *Roseus*), *S. sporoherbeus* (секция *Azureus*), *S. aerionidulus* (секция *Cinereus*), *S. enduracidicus* (секция *Cinereus*) и *S. grisinus* (секция *Cinereus*), а в засоленных почвах — *S. violaceomaculatus* (секция *Roseus*) и *S. aerionidulus* (секция *Cinereus*). Авторы утверждают, что в солончаках видовое богатство стрептомицетов в 1,7 раза больше, чем в солончаках, а в черноземах схожесть сообществ стрептомицетов выше, чем в солончаках в 0,6 раз.

### **1.6.3. Положительное и антагонистическое воздействие актиномицетов на микроорганизмы**

В литературе встречаются сведения о том, что сукцессия прокариотных микроорганизмов в разных типах почв характеризуется подавляющей численностью грамотрицательных бактерий, при этом преобладание актиномицетов наблюдается уже на последующих этапах (Новикова, 2005; Козылбаева и др., 2017; Pettis et al., 2009).

Изучена роль актиномицетов в процессах формирования и функционирования симбиозов (Зенова и др., 2009; Зенова, 2013). Для выяснения данного вопроса предпринимались попытки формирования экспериментальных цианобактериально-актиномицетных ассоциаций. Актиномицеты как ассоциативные симбионты могут оказывать положительное действие на экосистему, вследствие повышения защиты от вредоносных микроорганизмов за счёт выделения антибиотиков.

Актиномицеты способны создавать ассоциации с водорослями, напоминающие лишайники. Эта способность стрептомицетов может быть

осуществлена в природных альгобактериальных ценозах на выходах карбонатных пород, где стрептомицетам, наряду с водорослями, принадлежит ценозообразующая роль (Зенова и др., 2013; Широких и др., 2013; Козылбаева и др., 2017).

Актиномицеты нередко выступают антагонистами (Милевская, 2008; Рябова и др., 2014; Годосийчук и др., 2015; Бурцева и др., 2016, 2019; Хазиев и др., 2020; Широких и др., 2021; Sakdapetsiri et al., 2020). Выявлено, что количество актиномицетов возрастает по мере снижения биомассы грибов (Звягинцев и др., 2005). Можно предположить, что рассматриваемые нами микроорганизмы сосредоточены на деградации отмершего грибного мицелия. Механизмы борьбы актиномицетов с грибными фитопатогенами изучены на генетическом уровне экспрессии функциональных генов, отвечающих за образование хитиназ. Так, бактерии, продуцирующие хитиназы проявляют антагонизм *in vitro* по отношению к грибам, а хитиназы стрептомицетов ингибируют рост грибов и разрушают их клеточную стенку (Авраменко и др., 2010; Williamson et al., 2000; Efimenko et al., 2016). Определена доля метаболически активных прокариотических клеток в гидролитическом комплексе почв, а также их биомасса и биоразнообразие. Увеличение количества клеток и снижение разнообразия почвенного прокариотического комплекса связано с развитием селективной группы гидролитического комплекса хитин-деградирующих микроорганизмов (Manucharova et al., 2016, 2017).

В лабораторном эксперименте изучено влияние цианобактерий и стрептомицетов на патогенный гриб рода *Fusarium* (Domracheva et al., 2010). Удалось не только установить фунгицидные свойства, но и изучить межпопуляционные связи в ризосфере яровой пшеницы и в дерново-подзолистой почве.

Полиеновые антибиотики отвечали за высокую фунгицидную активность изолятов исследуемых ими стрептомицетов (Поляк и др., 2017). Уровень бактерицидной активности и соотношение полиеновых и неполиеновых

антибиотиков сильно зависели от состава источников углерода.

Установлено, что почвенные ацидофильные актиномицеты хорошо растут на средах, показатель рН в которых варьирует в пределах 3-7 (Закалюкина и др., 2007). Данные микроорганизмы обладают антибактериальными свойствами. Статистически показано более активное подавление ацидофильными культурами роста микроскопических грибов и дрожжей, а также нейтрофильными стрептомицетами грамположительных бактерий. Многие авторы утверждают, что при росте на подкисленных средах ацидофильные актиномицеты способны замедлять развитие фитопатогенных грибов.

Изучен и охарактеризован штамм *S. hygrosopicus* Subsp. 24, выделенный из почвенных образцов Центрального региона России, способный подавлять широкий спектр фитопатогенов. Рассмотрена возможность практического применения микроорганизмов р. *Streptomyces* в качестве защитных механизмов для борьбы с фитопатогенами (Бурцева и др., 2016). Биологическую активность проявлял *Streptomyces hygrosopicus* против фитопатогенного гриба *Fusarium avenaceum* в ризосфере (Широких и др., 2008). Доказана фунгицидная активность штаммов р. *Streptomyces*, выделенных из почв центральной части Молдовы, в отношении таких возбудителей грибных болезней сельскохозяйственных культур, как *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*.

Показана принципиальная возможность биоконтроля фитопатогенных грибов в почве и, в частности, в ризосфере с помощью почвенных стрептомицетов (Дегтярева и др., 2009). Для экспериментов по биологическому контролю в качестве потенциальных биофунгицидов отобраны 17 популяций стрептомицетов с выраженной активностью по отношению к тестируемым видам фитопатогенных грибов рода *Fusarium*, в том числе *F. heterosporum*, *F. merismoides*, *F. oxysporum*, *F. solani*, а также к *Verticillium luteoalbum*, *Phoma exigua*. Исследования показали, что стрептомицеты с фунгицидной активностью могут угнетать также и различные бактерии, в том числе и те, которые обычно относят к типичным обитателям почвы.

Описан штамм *S. chrysomallus* P-21, выделенный из почв Прибалтики

(Литва) и отселектированный по признакам антагонистической и фиторегуляторной активности (Новикова и др., 2006). Запатентованный исследователями штамм обладает высокой эффективностью в отношении *Rhizoctonia solani* (11,5%) и *V. dahliae* (7,5%). Антивирусная активность биопрепарата на основе данного штамма колебалась от 30 до 80% в отношении вирусов картофеля, томата и зерновых культур. Фитостимулирующая активность установлена на уровне широко применяемого в растениеводстве активатора прорастания семян. Кроме того, по сведениям авторов, показатели биохимического состава плодов огурца, перца и томата в опытных вариантах свидетельствуют о существенном увеличении содержания сухого вещества, сахаров, аскорбиновой кислоты и снижении содержания нитратов (Патент № 2226214).

Изучена бактерицидная активность изолятов, выделенных из почв юго-восточной Сербии, в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, грибов и дрожжей (Илич и др., 2007). Исследования показали, что полученные изоляты активны по отношению к *Botrytis cinerea* и *Candida albicans* (размер зоны ингибирования составил не менее 31 мм).

Результаты исследований А. Вasilio с соавторами (2003) подтверждают идею о том, что виды актиномицетов, выделенные в альтернативных селективных условиях рН и солености, обладают значительной способностью к получению соединений с бактерицидной или фунгицидной активностью.

Изучены морские актиномицеты - эффективные продуценты различных вторичных метаболитов (Solanki et al., 2008). Данные микроорганизмы показали высокие бактерицидные, фунгицидные и инсектицидные свойства. Биоактивные соединения морских актиномицетов обладают различными химическими структурами, которые могут служить основой для синтеза новых препаратов, используемых для борьбы с устойчивыми патогенами.

Дана характеристика состава и антибиотической активности актинобактерий рода *Streptomyces*, ассоциированных с многоножками - диплоподами, навозными червями и с их пищевыми субстратами (опад,

вермикомпост, почва), собранными на территории заповедных зон Крыма (Грачёва и др., 2017). У штаммов, полученных из ассоциаций с животными, обнаружен повышенный антагонизм к тест-бактериям и грибам по сравнению со штаммами, выделенными из их местообитаний. Кроме того, подавляющее большинство культур проявляли высокие антибиотические свойства.

Различия в антибиотической активности стрептомицетов в отношении бактерий, дрожжей, одноклеточных зеленых водорослей и двух сорных травянистых растений, свидетельствуют о том, что они выделены из различных местообитаний (Миндубаев и др., 2015)

Этилацетатные экстракты штаммов стрептомицетов, выделенных из озера Байкал, протестированы на наличие соединений, ингибирующих рост патогенных и условно патогенных микроорганизмов, и показали высокую биологическую активность (Sobolevskaya и др., 2006). Впервые И.А. Теркиной с соавторами (2004) исследованы распределение, численность, видовой состав и свойства актиномицетов родов *Streptomyces* и *Micromonospora* в озере Байкал. Экспериментальным путем доказано, что актиномицеты, которые способны подавлять рост антибиотико-резистентных штаммов бактерий, продуцируют более активные антимикробные вещества, чем уже известные препараты. Причем, данные вещества обладают как бактерицидным, так и фунгицидным действием.

Изучен штамм-продуцент *S. griseocarneus* Subsp. ВКПМ-S887, который при испытании методом штриха на глюкозонитратном агаре №2 Гаузе подавляет рост грамположительных (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Micrococcus luteus*) и грамотрицательных (*Bacterium paracoli*, *Comomonas terrigena*) бактерий, дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*).

Таким образом, анализ литературных источников подтверждает сведения о том, что во всем мире учеными интенсивно исследуются актиномицеты–антагонисты, которые не только угнетают фитопатогены в зоне корня, но и вырабатывают антибиотики, которые поступают в ткани растений, и делают их более устойчивыми к возбудителям болезней. Очевидно, применение микробов–

антагонистов не может служить универсальным методом борьбы с болезнями сельскохозяйственных растений, но в ряде случаев препараты микробов – антагонистов следует использовать.

#### **1.6.4. Симбиоз актиномицетов с растениями**

В научной литературе встречается большое количество сведений о том, что взаимодействия между растениями и микроорганизмами играют исключительно важную роль в жизни растений, обеспечивая их питание, защиту от фитопатогенов, а также адаптацию к стрессам и регуляцию развития (Бурцева и др., 2014; Широких и др., 2021). К сожалению, современные сорта растений интенсивного типа в силу своих генетических особенностей, не всегда способны к полноценному взаимодействию с полезной микрофлорой, а многие из используемых микробных препаратов не отвечают возросшим требованиям к эффективности, безопасности и качеству продукции современного агропроизводства (Бойкова, Павлюшин, 2002; Сидорова, 2019).

Бактерии могут вызывать различные патогенные симптомы, болезни или существовать в растениях в виде бессимптомных эндофитов (Мерзаева, Широких, 2006; Shaaban et al., 2018). Есть штаммы с достаточно высокими показателями антагонистической активности, которые проявляют значительное токсическое действие на растения (Жерносекова, 2012; Hristeva, 2016).

Антибиотик циклогексимид, продуцируемый почвенным стрептомицетом *Streptomyces griseus*, способен выступать в роли прайминг - сигнала, вызывая в корнях гороха существенное повышение содержания ключевых ферментов синтеза терпеноидного и фенольного метаболизма, что сопровождалось повышением суммарного содержания фенольных соединений (Егорова А.М., Тарчевский, 2019). Циклогексимид и синтезируемые в корнях под его влиянием фенольные соединения и терпеноиды могут синергично действовать на население ризосферы.

В природных условиях растения часто образуют многокомпонентные симбиозы, в которых участвуют актиномицеты, микоризные грибы,

ризобактерии, а в случае бобовых и ризобии (Николаев и др., 2015). По данным Т.И. Громовых с соавторами (2005) из почвы лесного питомника Красноярского края в 1997 году выделен штамм 19/97М *S. ateriitius* для защиты хвойных культур от фитопатогенных грибов родов *Fusarium* и *Alternaria*. Результаты С.А. Бурцевой с соавторами (2014) показали, что штаммы *Streptomyces sp.* 9, 12 и 66 и их естественные варианты оказали положительное влияние на семена культур растений, увеличилась средняя длина основного корня и количество корней. Экзометаболиты *S. massasporeus* CNMN-Ас-06 увеличивают скорость прорастания семян. В работе отмечено, что количество листьев испытуемых растений увеличилось на 12,5%, а общая площадь составила 28,7% по сравнению с контрольными растениями.

Следует отметить, что актиномицеты играют важнейшую роль в создании почвенного плодородия и оптимизации условий произрастания растений, что проявляется в стимуляции их роста, развития и увеличении урожайности в 2-2,5 раза (Норовсурэн и др., 2007; Бурцева и др., 2014; Чулуун и др., 2014; Широких и др., 2020; Pylro et al., 2019).

В связи с этим, закономерен интерес к изучению факторов, которые могут оказывать влияние на связь актиномицетов и различных сельскохозяйственных культур в конкретных почвенных условиях. Разработка данного вопроса является важным звеном в экологической характеристике микробного комплекса почвы и поможет развить теоретические основы для целенаправленного регулирования взаимодействий актиномицетов с фитопатогенными микроорганизмами, повреждающими растения.

## **1.7. Особенности метаболитов цианобактерий и актиномицетов с биологической активностью**

### **1.7.1. Метаболиты цианобактерий и их биологическая активность**

Цианобактерии продуцируют один или ряд биологически активных соединений, которые потенциально являются богатым источником веществ с применением в сельскохозяйственной (удобрения, средства защиты растений,



корма), пищевой (биодобавки и продукты питания), косметической, фармацевтической промышленностях (Welker et al., 2002; Tan, 2007; Dixit et al., 2013).

Вторичные метаболиты в основном выделяют из порядков Oscillatoriales (49%), Nostocales (26%), Chroococcales (16%), Pleurocapsales (6%) and Stigonematales (4%) (Gerwick et al., 2008). Цианобактерии *Anabaena*, *Nostoc*, *Microcystis*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Phormidium* и *Spirulina* синтезируют различные высокоэффективные ценные соединения, такие как каротиноиды, жирные кислоты, липопептиды, полисахариды и другие биоактивные компоненты (Sivonen, Börner, 2008; Singh et al., 2017).

В водной среде эти метаболиты обычно остаются внутри клеток и высвобождаются в значительных количествах при лизисе (Chorus, Bartram, 1999). Морские цианобактерии являются исключительно богатым источником вторичных метаболитов (Cardellina, Moore 2010). Цианобактериальные вторичные метаболиты включают различные соединения с цитотоксическими (41%), противоопухолевыми (13%), противовирусными (4%), противомикробными (12%) и другими свойствами (18%): противогрибковыми, гербицидными, антиоксидантными, иммунодепрессантами (Burja et al., 2001; Tan, 2007; Gerwick et al., 2008) (табл. 1).

Таблица 1 – Метаболиты цианобактерий с различной биологической активностью

Биоактивный компонент	Цианобактерии	Биологическая активность	Литературный источник
Ауксины (индол-3-уксусная кислота)	<i>Nostoc</i> PCC 9229 <i>Nostoc</i> 268	Гормональная (увеличение роста растений)	Sergeeva et al., 2002
Абсцизовая кислота	<i>Anabaena variabilis</i> , <i>Nostoc muscorum</i> , <i>Synechococcus leopoliensis</i>	Гормональная (устойчивость к стрессу)	Marsšálek et al., 1992; Zahradnickova et al., 1991
Этилен	<i>Anabaena</i> sp., <i>Calothrix</i> sp., <i>Cylindrospermum</i> sp., <i>Nostoc</i> sp., <i>Scytonema</i> sp., <i>Synechococcus</i> sp.	Гормональная (увеличение роста и биомассы растений)	Hirsch, 2004; Цавкелова, 2021;

Гибберелины	<i>Anabaenopsis sp.</i> , <i>Cylindrospermum sp.</i> , <i>Phormidium foveolarum</i>	Гормональная (продуктивность биомассы)	Gupta, Agarwal, 1973; Stirk et al., 2002, 2013; Цавкелова, 2021
Цитокинины	<i>Anabaena sp.</i> , <i>Calothrix sp.</i> , <i>Oscillatoria sp.</i> , <i>Phormidium sp.</i> , <i>Synechocystis sp.</i>	Гормональная (продуктивность биомассы), устойчивость к стрессу	Hussain et al., 2010; Stirk et al., 2002, 2013; Цавкелова, 2021
Метанольный экстракт	<i>Spirulina platensis</i>	Антибактериальная	Kaushik, Chauhan, 2008
Ambiguines	<i>Fischerella sp.</i>	Антибактериальная	Raveh, Carmeli, 2007
Bastadin	<i>Anabaena basta</i>	Антибактериальная	Miao et al., 1990
Bis-( $\gamma$ -butyrolactones)	<i>Anabena variabilis</i>	Антибактериальная	Ma, Led, 2000
Hapalindole	<i>Nostoc CCC537</i>	Антибактериальная	Asthana et al., 2009
Norbietane diterpenes	<i>Micrococcus lacustris</i>	Антибактериальная	Gutiérrez et al., 2008
-cyano-5-methoxyindolo[2,3-a]carbazole	Цианобактерии	Антибактериальная	Guo et al., 2009
Noscomin	<i>Nostoc commune</i>	Антибактериальная	Jaki et al., 2000
Didehydromirabazole	<i>Scytonema mirabile</i>	Антибактериальная	Stewart et al., 1988
Tolyporphin	<i>Tolypothrix nodosa</i>	Антибактериальная	Prinsep et al., 1992
Muscoride	<i>Nostoc muscorum</i>	Антибактериальная	Nagatsu et al., 1995
Ambiguine	<i>Fischerella ambigua</i>	Антибактериальная	Raveh, Carmeli, 2007
Микроцистин, анатоксин-а и цилиндропермопсин	<i>Microcystis</i> , <i>Anabaena</i> , и <i>Cylindrospermopsis</i>	Альгицидная, гербицидная, инсектицидная	Rastogi, Sinha, 2009
Nostocarboline	<i>Nostoc</i>	Альгицидная	Blom et al., 2006
Nostocine A	<i>Nostoc spongiaeforme</i>	Альгицидная	Hirata et al., 2003
Фенольные компоненты	<i>Arthrospira platensis</i> , <i>Nostoc muscorum</i> , <i>Phormidium foveolarum</i> , and <i>Spirulina platensis</i>	Антиоксидантная	Rice-Evans et al., 1997; Ferrari et al., 2015
Mycosporineglycine, Porphyrin-334, Shinorine	<i>Anabaena doliolum</i> , <i>Scytonema javanicum</i>	Защита от УФ, высоких температур, антиоксидантная	Oren, Gunde-Cimerman, 2007; Singh et al., 2010
Carotenoids, $\beta$ -Carotene, Lutein, Zeaxanthin, Cryptoxanthin, $\alpha$ -carotene, Lycopene	<i>Nostoc muscorum</i> , <i>Phormidium foveolarum</i> , <i>Spirulina platensis</i>	Антиоксидантная	Cardozo et al., 2007; Prasanna et al., 2010; Kumar et al., 2016
Scytonemin	<i>Scytonema</i>	Противовоспалительная и антипролиферативная	Stevenson et al., 2002
Carragenans, Agar, Lectins	<i>Chondrus ocellatus</i>	противоопухолевая, противовирусная,	Marinho-Soriano, Bourret, 2003; Jepson

		антикоагулянтная и иммуномодулирующая	et al., 2004; Cardozo et al., 2007
Halogenated compounds	<i>Synechococcus elongates</i> PCC7942, <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> 339-T3, <i>Fischerella</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i> NPCD-1, <i>Microcystis panniformis</i> SCP702	противовирусная, противогрибковая, антипролиферативная, антибактериальная, противовоспалительная	Blunt et al., 2009; Rastogi, Sinha, 2009; Silva-Stenico et al., 2011
Фталаты, алкан (наноказан), тритерпен (сквален)	<i>Anabaena variabilis</i> , <i>Oscillatoria neglecta</i>	Аллелопатическая	Кирпенко и др., 2010
Ароматические соединения (дигидрометилжасмонат)	<i>Anabaena variabilis</i>	Аллелопатическая	Кирпенко и др., 2010; Кирпенко и др., 2012
Терпеновая фракция (линалоол, линалилацетат, терпинеол и β-фенилэтанол), терпеноиды	<i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>Anabaena obliquus</i>	Антибактериальная, инсектицидная, фунгицидная	Гольдин, Гольдина, 2011; Кирпенко и др., 2012
Norharmane (9Нpyrido(3,4-b)indole)	<i>Nodularia harveyana</i>	Альгицидная, антибактериальная, фунгицидная	Volk, Furkert, 2006
4,40 -dihydroxybiphenyl	<i>Nostoc insulare</i>	Альгицидная, антибактериальная, фунгицидная	Volk, Furkert, 2006
Липопептид	<i>Nostoc commune</i>	Фунгицидная	Kajiyama et al., 1998
Hapalindole	<i>Hapalosiphon fontinalis</i>	Фунгицидная	Burja et al. (2001)

В зависимости от вида цианобактерий в их клетках содержится разное количество углеводов (4–70%), липидов (2–12%) и белка (23–87%). По аминокислотному составу цианобактерии биологически полноценны и содержат в основном обычные аминокислоты. Причем в значительном количестве представлены незаменимые аминокислоты – изолейцин, тирозин, фенилаланин, валин, треонин, аргинин, гистидин и лизин (Cohen, 1999). *Lyngbya aestuarii* в период экспоненциального роста выделяет в среду аминокислоты: лейцин, фенилаланин, валин, метионин, тирозин, пролин, аланин, глутаминовая кислота, треонин аспарагиновая кислота, серин, аргинин, гистидин, лизин, цистин (Горюнова, Ржанова, 1964). Цианобактерии *Trichodesmium thiebautii*, *Synechococcus* sp. PCC 6302, *Symploca* sp. PCC 8002, *Nostoc* sp. PCC 7107 образуют ВМАА, нейротоксичную небелковую аминокислоту (Cox et al., 2005).

Помимо незаменимых аминокислот в химическом составе цианобактерий обнаружены и другие ценные биологически активные вещества – разнообразные витамины, сульфатированные полисахариды с антиоксидантным, антитромбическим и противоопухолевым действием, полиглюканы (сорбенты токсинов и тяжелых металлов) и гамма-линолевая кислота, являющаяся предшественником арахидоновой кислоты и простагландинов (Cohen, 1999).

Цианобактерии наряду с другими микроорганизмами способны синтезировать витамины и участвовать в снабжении высших растений этими соединениями. При введении в растение тиамина, никотиновой кислоты и др. повышается интенсивность фотосинтеза и увеличивается содержание сахаров (Бессолицына, 2012). По количеству бетакаротина цианобактерии уступают лишь зеленой галофильной водоросли *Dunaliella salina*, служащей сырьем для промышленного производства этого провитамина А. Содержание витамина В и его производных колеблется в пределах 6–8 мкг на 1 г сухого остатка и почти не зависит от вида цианобактерий. Кроме того, из цианобактерий были выделены рибофлавин, тиамин, пиридоксин, биотин и никотиновая кислота. В значительном количестве обнаружен витамин С. Помимо азота и фосфора цианобактерии богаты микроэлементами. Марганец, барий, титан, медь и цинк активно ими аккумулируются. В наибольшем количестве цианобактерии содержат железо, медь, марганец и особенно кобальт (в 4,5–55 раз больше, чем у растений). Из цианобактерий были получены и внедрены в медицинскую практику новые цитостатики – апратоксин, ауридил, гектохлорин и лингбиябеллин (Tan, 2007).

Установлено, что разные роды цианобактерий накапливают и выделяют соединения из группы фитогормонов, включающая ауксины, гиббереллины, цитокинины и этилен, которые участвуют в росте и развитии растений (Stirk et al., 2002; Hussain, Hasnain, 2011; Gayathri et al., 2015). Цианобактерии синтезируют индол-3-уксусную кислоту (IAA), которые синтезируются в симбиозе с высшими растениями (Sergeeva et al., 2002).

Из-за растущей устойчивости бактерий к антибиотикам становится более

актуальным поиск новых активных веществ с антибактериальной активностью и цианобактерии являются потенциальными и перспективными претендентами. Цианобактерии разных видов продуцируют широкий набор эффективных антибиотиков, так называемых цианобактеринов (Rezanka, Dembitsky, 2006).

Антибактериальное соединение носкомин из *Nostoc commune* показал антибактериальную активность в отношении *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis* и *Escherichia coli* (Jaki et al., 2000). Фракция метанольного экстракта, в основе которой было соединение napalindole из *Nostoc* CCC537 проявляло антимикробную активность в отношении *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhi* MTCC3216, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Escherichia coli* ATCC 25992, *Enterobacter aerogenes* MTCC 2822 (Asthana et al., 2009). Метанольный экстракт *Spirulina platensis* проявлял широкий спектр противомикробной активности, ингибирование было максимальным для *S. aureus*, меньше подавлял рост *E. coli*, *P. aeruginosa* и *S. typhi* (Kaushik, Chauhan, 2008). Ambiguines - алкалоид из *Fischerella ambigua* проявляет антибактериальную активность в отношении *M. tuberculosis* и против *Bacillus anthracis* (Raveh, Carmeli, 2007). Из цианобактерий выделен 6-циано-5-methoxyindolo[2,3-a]carbazole с антибактериальной активностью в отношении *Bacillus anthracis* и *Mycobacterium tuberculosis* (Guo et al., 2009). Антимикробная активность двух экзометаболитов цианобактерий *Nodularia harveyana* - norharmane (9Нpyrido(3,4-b)indole) и *Nostoc insulare* - 4,40 -dihydroxybiphenyl, определялась в суспензионных культурах. Для обоих соединений была обнаружена высокая альгицидная (концентрация 8–80 мг мл<sup>-1</sup>), умеренная антибактериальная (16–160 мг мл<sup>-1</sup>) и фунгицидная (32–40 мг мл<sup>-1</sup>) активности. Естественная функция аллелопатических химических веществ и возможная (Volk, Furkert, 2006).

Обнаружено, что ностокарболин из *Nostoc* проявляет альгицидную активность и ингибирует рост других цианобактерий и зеленых водорослей (Blom et al., 2006; Becher et al., 2009). Ностоцин А, выделенный из *Nostoc spongiaeforme*, ингибировал рост сильнее в отношении зеленых водорослей, чем

в отношении цианобактерий (Hirata et al., 2003).

Тринадцать ненасыщенных стеролов идентифицированы методом газовой хроматографии–масс-спектрометрии из азотфиксирующей цианобактерии *Scytonema sp.*, выделенной из микробного сообщества цианобактерий на известняковых стенах «Black Cover» в Иерусалиме. Доминирующими стероидами являлись cholest-5-en-3 $\beta$ -ol (18,9 %), 3 $\beta$ -methoxycholest-5-ene (16,2 %) and 3 $\beta$ -acetoxcholest-5-ene (11,2 %) (Řezanka et al., 2003).

Брассикастерол хорошо известен среди диеновых стеролов, встречающихся у цианобактерий *Anabaena solitaria*, *A. cylindrica*, *A. viguieri*, *Nodularia harveyana* и *Nostoc carneum* в диапазоне 0,8–2,8 % от общего количества стеролов (Kohlhase, Pohl 1988). Стигмастерол (или его диастереоизомер пориферастерол) был также обнаружен у *Anabaena solitaria*, *A. cylindrica*, *A. viguieri*, *Nodularia harveyana* и *Nostoc carneum* с высоким процентом (до 28,5 %) у *A. viguieri* (Kohlhase, Pohl, 1988). Дополнительные диеновые стеринны были обнаружены в *Spirulina platensis*, *Calothrix sp.* и *Nostoc commune* (Paoletti et al., 1976). Обнаружено 6 диеновых стеролов, преимущественно ergosta-7,22(E)-dien-3 $\beta$ -ol (9,4 %). Стеринны с 3 или 4 двойными связями в основном являются производными эргостатриенолов и эргостатетраенолов. Эргостерол является основным стеролом цианобактерий *Anabaena solitaria*, *A. viguieri*, *Nodularia harveyana* и *Nostoc carneum* (Kohlhase, Pohl 1988).

Цианобактерия *Lyngbya aestuarii* продуцировала жирную кислоту с гербицидными свойствами по отношению к ряске *Lemna minor* (Гольдин, 2013).

Некоторые цианотоксины, полученные из цианобактерий, проявляют различную биологическую активность и могут служить биоцидами. Биоциды подавляют рост микроорганизмов включая бактерии, вирусы, грибы и некоторых беспозвоночных, таких как ракообразных, двустворчатых моллюсков, а также некоторых позвоночных, таких как рыбы, птицы, и млекопитающие (Misra, Kaushik, 1989; Schwartz et al., 1990; Burja et al., 2001). Цианотоксины обладают большим потенциалом для разработки активных биологических соединений, которые можно применять на полях как инсектициды, гербициды, альгициды, и

фунгициды из-за их аллелопатического действия (Biondi et al., 2004; Ishibashi et al., 2005; Berry et al., 2008; Rastogi, Sinha, 2009). Сакситоксины — соединения, обнаруженные при «цветении» водоемов, принадлежащие к группе нейротоксичных цианобактериальных метаболитов, — рассматриваются как эффективные анестезирующие и обезболивающие средства (Furey et al., 2008; Rodriguez-Navarro et al., 2011). Исследования показали, что цианотоксины, такие как микроцистины, анатоксин-а и цилиндропермопсин полученные из штаммов цианобактерий *Microcystis*, *Anabaena*, и *Cylindrospermopsis*, соответственно, показали высокую альгицидную, гербицидную и инсектицидную активность (Berry et al., 2008). Таким образом, применение этих цианотоксинов может помочь в восстановлении экологической устойчивости (Rastogi, Sinha, 2009).

В монокультурах *Oscillatoria neglecta*, *Anabaena variabilis*, *Anabaena cylindrica* найдены насыщенные, ненасыщенные и ароматические углеводороды, ароматические производные карбоновых кислот, терпены, фенолы и их производные (Кирпенко и др., 2010). В смешанных культурах наблюдались изменения в составе и концентрации экзометаболитов, в сравнении с монокультурами. Снизилась концентрация алканов и фталатов, появилась бензойная кислота, увеличилась концентрация дигидрометилжасмоната, являющихся активными аллелопатическими агентами (табл. 1). В метаболитном комплексе *Anabaena obliquus* обнаружены терпеноиды: склареолид и метиловый эфир окисленного производного абиетиновой кислоты (Кирпенко и др., 2012).

Терпеновая фракция *Microcystis aeruginosa*, в составе которой обнаружены линалоол, линалилацетат, терпинеол и  $\beta$ -фенилэтанол проявляла инсектицидную активность в отношении вредителей растений (Гольдин, Гольдина, 2011).

Почвенная цианобактерия *Microcoleus vaginatus* из пустыни Негев, продуцировала 4 нормальных и более 60 разветвленных алканов, а также ряд жирных кислот циклических и ненасыщенных углеводородов, альдегидов, спиртов и кетонов (Дембицкий и др., 2001). Цианобактерии родов *Scytonema* и *Aphanizomenon* выделяли в среду жирнокислотные компоненты (Дембицкий и др., 2001; Дембицкий, 2002).

Таким образом, цианобактерии являются богатым источником вторичных метаболитов, проявляющих высокую биологическую активность и могут служить основой для разработки биопрепаратов с полезными свойствами.

### **1.7.2. Особенности и синтез метаболитов актиномицетов**

Актиномицеты являются активными продуцентами вторичных метаболитов. Вторичные метаболиты не являются необходимыми элементами для роста и размножения микроорганизма и продуцируются, как правило, в стационарной фазе процесса ферментации или в определенных условиях в экосистеме (Гаузе, 1958; Анисимова, 2008; Актуганов и др., 2019). В подавляющем большинстве случаев многие виды актиномицетов способны синтезировать не один, а несколько вторичных метаболитов (Yoon et al., 2002; Cho, Kim 2012). Стрептомицеты имеют сложные метаболические пути, ответственные за производство вторичных метаболитов и использование органических остатков, существующих в почве (Егорова, Тарчевский, 2019; Carrillo et al., 2009).

Современные исследования существенно расширяют представления о том, что подавляющее число обнаруженных в природе метаболитов актиномицетов включает большое число различных химических веществ. Они представлены карбоциклическими, алифатическими, азотистыми, гетероциклическими, кислород- и серусодержащими соединениями, в молекулах которых находятся самые различные функциональные группы: эфирные, карбоксильные, амино-, эпокси-, окси-, нитрогруппы (Анисимова, 2008; Lazzarini et al., 2000; Raty et al., 2000; Umeyama et al., 2002; Subba et al., 2007; Xu et al., 2017; Vityaz et al., 2020). Метаболиты актиномицетов представляют собой многокомпонентные комплексы различных по химическому строению природных соединений – антибиотиков, литических ферментов, аминокислот, терпеноидов, алкалоидов, что затрудняет формирование устойчивости к ним у вредных организмов (Климишин и др., 2011; Бакулин и др., 2014; Бойкова и др., 2019; Řezanka et al., 2004). Актиномицеты продуцируют витамины, гормоны, токсины, стимуляторы



роста, и другие полезные для человека вещества (Егорова и др., 2019; Chitte et al., 2000). Данные соединения могут быть использованы в медицине, ветеринарии и защите растений, поэтому актиномицеты являются промышленно и фармацевтически важными бактериями (Климова, 2002; Анисимова, 2008; Machavariani et al., 2014; Colombo et al., 2019).

Вторичные метаболиты, синтезируемые актиномицетами, обладают антибиотическими и противовирусными свойствами (Fernandez-Ballester et al., 2003; Niyomvong et al., 2012). Кроме того, описан ряд веществ с другим характером биологического действия, нашедших применение в растениеводстве (Xu et al., 2017; Kouomou et al., 2019; Pylro et al., 2019).

В литературных источниках описано большое число, образующих антибиотики, видов актиномицетов, причем число их составляет значительную долю от общего количества до сих пор описанных (Шарова и др., 2007; Климишин, 2010; Choudoir et al., 2018). Следует отметить, что в некоторых группах актиномицетов основная часть вторичных метаболитов продуцируется в ограниченном количестве, которое снижается в зависимости от сложности итогового продукта (Теречик, 2003; Рогожина, Самарина, 2016).

Таким образом, актиномицеты характеризуется способностью продуцировать широкий спектр вторичных метаболитов, включая антибиотики, экспрессия которых строго контролируется небольшими диффузионными сигнальными молекулами в наномолярных концентрациях (Rusanova et al., 2000; Watkins et al., 2016; Hou et al., 2018). Сигнальные молекулы, идентифицированные до настоящего времени, классифицированы на 3 скелета:  $\gamma$ -бутиролактоны, фураны и  $\gamma$ -бутенолиды (Luzhetskyu et al., 2008; Marakasova et al., 2009). Накопленные данные свидетельствуют о структурном разнообразии сигнальных молекул у видов *Streptomyces* и их потенциале в активации путей биосинтеза криптических вторичных метаболитов (Мироновский и др., 2010; Naumova et al., 2001).

С данной точки зрения, по мнению авторов, очень важны актиномицеты, продуцирующие больше двух третей известных в настоящее время природных

антибиотиков (Осташ и др., 2005; Indhuja et al., 2012). Результаты секвенирования геномов свидетельствуют о большом потенциале стрептомицетов в качестве продуцентов биологически активных соединений (Asano, 2006; Grünewald, 2006; Nanjwade et al., 2010).

Одна из причин для обнаружения новых вторичных метаболитов состоит в том, чтобы обойти проблему устойчивых патогенов в растениеводстве, которые больше не восприимчивы к используемым в настоящее время препаратам (Abdel-Razek et al., 2018).

Молекулярно-биологическим методом оценен метаболически активный компонент представителей группы *Actinobacteria* (Прокопенко и др., 2019). Установлено, что в прокариотном микробном сообществе растительных субстратов тундры и тайги при инкубировании субстрата при 5°C биомасса метаболически активных психротолерантных представителей филогенетической группы *Actinobacteria* составляет 34% от биомассы всех бактерий, а при температуре 20°C эта доля увеличивается до 56%.

Получены варианты *S. avermitilis* УКМ Ас 2161 с повышенной биосинтетической активностью (Бунас и др., 2011). Исследователи осуществляли отбор в условиях уровней выживания 0,1-0,01%. Активность полученных вариантов в 5-6 раз превышала активность исходного штамма. Качественный состав авермектинового комплекса отобранных вариантов, определенный с помощью метода ВЭЖХ, характеризовался наличием фракций авермектинов А1, А2, В1, В2. По данным авторов, содержание фракции В, является основой многих антипаразитарных препаратов и составляет 40%.

Описан штамм протеолитических актиномицетов *S. carpaticus*, выделенный из образца морских отложений, отобранных около Какинада в провинции Андхра-Прадеш (Индия) и продуцирующий протеазу. Учитывая высокую активность штамма, авторы считают, что внеклеточная протеаза, продуцируемая *S. carpaticus*, имеет существенный потенциал для коммерческого применения (Naritha et al., 2012; Bhavana et al., 2014). Описаны штаммы: *Streptomyces avermitilis* ФБМ 0004 - продуцент олигомицинов (патент

№2160780), штамм *Streptomyces sp.* Z-11-6 - продуцент внеклеточной L-глутаматоксидазы (патент №2170252), штамм *Streptomyces dosus* 472 ВНИИСХМ Д-666 – продуцент амфотерицина В (патент №2198928), штамм *Streptomyces coeruleorubidu* – продуцент антибиотика даунорубицина (патент №2464319), штамм *Streptomyces tsukubensis* ВКМ Ас-2618Д – эффективный продуцент такролимуса (Пошехонцева и др., 2021).

Известно, что штаммы актинобактериального рода *Nocardopsis* продуцируют противомикробные и биоактивные агенты: цитотоксический фунгицидный антибиотик калафунгин, антибактериальный 3-трегалозамин, ингибитор протеинкиназы С, метилпендолмицин, стауроспорин-подобный ингибитор фермента циклической АМФ-зависимой протеинкиназы (Rainey et al., 1996). Бактерии *N. umidischolae* вырабатывают соединение валиномицин – пептидный антибиотик, повышающий проницаемость мембраны для ионов калия (Vennera et al., 2015). Перфтордекалин оказывал влияние на рост актиномицетов и интенсификацию продукции стрептомицина и даунорубицина бактериями рода *Streptomyces* в технологии их глубинного культивирования (Бакулин и др., 2014).

Развитие науки в последние несколько десятилетий, а также освоение и внедрение в широкую научную практику методов молекулярной и генной инженерии ставят перед исследователями ряд новых задач, решение которых способствует более глубокому изучению метаболитов актиномицетов на молекулярном уровне. Изучено строение генного аппарата актиномицетов, экспрессия и регуляция отдельных генов, свойства и биосинтез *in vivo* специфических метаболитов и ферментов (Bentley et al., 2002; Asano, 2003; Grünwald, 2006). Достаточно подробно исследована организация генетической детерминации вторичных метаболитов актиномицетов, включающих не только гены, кодирующие и регулирующие синтез биологически активных веществ, но и сцепленные с ними гены, придающие устойчивость к собственным антибиотикам (Efimenko et al., 2016; Manucharova et al., 2017, 2020, 2021). Исследованы хромосомные кластеры генов *Streptomyces coelicolor* A3(2),

определяющие биосинтез ароматического поликетидного антибиотика актинородина (Bentley et al., 2002). В последовательности генома выявлено еще 18 кластеров, которые кодируют ферменты, характерные для вторичного метаболизма. К ним относятся модульные поликетидсинтазы типа I и итеративные поликетидсинтазы типа I и типа II (PKSs), халкон-синтазы, нерибосомальные пептидсинтетазы (NRPSs), терпенциклазы и другие.

Формирование вторичного обмена, отличающегося многоуровневой химической структурой метаболитов, способствует образованию взаимосвязей между отдельными группами микроорганизмов (Berthold et al., 2002; Biliavska et al., 2017). Следует отметить, что данные метаболиты выполняют функцию аллелохимических агентов, представляя собой вещества, обеспечивающие продуктивное взаимодействие между разными видами (Vasil'chenko et al., 2000; Hatanaka et al., 2005). Как известно, число антагонистических форм среди актиномицетов очень велико и нередко составляет 20-80% (Сергеева и др., 2006; Овчинников и др., 2012; Bhatti et al., 2017).

Следует отметить, что именно почвенные актиномицеты экстремальных мест обитания способны продуцировать редкие метаболиты со специфическими свойствами. Следовательно, поиск и исследование новых свойств метаболитов актиномицетов микробиологического происхождения является актуальной задачей.

## **1.8. Биотехнологические возможности цианобактерий и актиномицетов**

### **1.8.1. Биотехнологические возможности цианобактерий**

Цианобактерии в аксеничных и альгологически чистых культурах широко применяются в различных областях биотехнологии, связанных с производством удобрений, средств защиты растений, витаминов, пищевых продуктов, биологически активных добавок, ферментов, гормонов, аминокислот, биогаза и др. (Abed et al., 2008). Кроме того, их используют в биоремедиации почв и биологической очистке сточных вод (Держинская, 1993).

Вопросы о биотехнологических возможностях цианобактерий

затрагивались выше. Они определяются разнообразием метаболических процессов, устойчивостью к изменяющимся факторам среды, возможностью создания искусственных ассоциаций с другими организмами в лабораторных и естественных условиях, способностью к деградации ксенобиотиков.

Выращивание цианобактерий в промышленных установках начали ученые из Китая и Японии. Особенно большая работа в этом направлении была проделана Ватанабе (Япония), который исследуя почвы рисовых полей выделил в культуру цианобактерии *Tolypothrix tenuis*, а затем начал культивировать ее в биореакторах (Watanabe, 1959). Процесс применения цианобактерии в практике рисосеяния сводился к трем этапам: получение предкультуры как посевного материала для тэнков, получение биомассы в тэнках и наращивание водорослей в установках промышленного типа.

С развитием технологий массового культивирования цианобактерий встал вопрос об их хранении (Горюнова и др., 1969). В процессе хранения цианобактерии поражались грибами и не отвечали предъявляемым требованиям. В проведенных опытах биомассу цианобактерий высушивали в сушильном шкафу при температуре 35-40 °С (Цзен Цзи-мянь, 1959). Через месяц после сушки клетки не потеряли способности к росту.

Разработана технологическая схема получения биомассы *Phormidium ramosum*, которая оказалась значительно проще типовой схемы производства микробной биомассы, т. к. она исключает достаточно сложные стадии приготовления питательной среды (либо ее доставки), а также выделения бактериологически чистой культуры (Ефимова, Ефимов, 2004). Разработана экспериментальная установка открытого типа с искусственным освещением интенсивностью до 500 лк и возможностью регулирования освещенности и механического перемешивания питательной среды. В качестве субстрата используются термальные растворы источников, так как культура выделена из данного местообитания. Постоянство химического состава и температуры среды обеспечивается ее проточностью. Отсутствие необходимости подогрева позволяет экономить электроэнергию и при этом

выращивать биомассу круглый год. Полученная биомасса высушивалась (85 °С) воздухом в сушилке инфракрасного излучения ЭСБИК-1,25/220 «Икар» до содержания воды 8 - 10 % (Ефимова, Ефимов, 2004).

В целом, для получения биомассы цианобактерий, необходимо культивирование в биореакторе с прозрачными стенками и освещенностью со спектром света, близким к естественному, перемешивающим устройством, поддержанием pH на слабощелочном уровне и температуры, оптимальной для данной культуры.

Одной из биотехнологических задач является разработка биоудобрений на основе цианобактерий (Дидович и др., 2017; Abdel-Raouf et al., 2012). Плодородие многих почв тропических рисовых полей и увеличение урожайности риса в основном связывают с активностью азотфиксирующих цианобактерий (Чан Ван Ни, 1990; Prasanna et al., 2014). Азоллу используют в качестве органического удобрения при выращивании риса во многих странах (Kaushik, Venkataraman, 1979). Было обнаружено, что добавление *Azolla* поддерживает рост цианобактерий, почвенных микроорганизмов, в том числе гетеротрофных фиксаторов азота.

Известен штамм цианобактерий *Nostoc muscorum* f. *linckia* (Roth) Born et. Flash 28-1 106 - активный несимбиотический азотфиксатор из коллекции ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии для повышения урожайности растений риса (патент РФ №1180366). Семена риса инокулировались данным штаммом, выращивались в условиях микроделяночного опыта и определялась урожайность растений.

Цианобактерии также известны фитостимулирующей активностью в отношении пшеницы (Fadl-Allah et al., 2011; Prasanna et al., 2012), бобовых культур (Панкратова и др., 2008; Трефилова, Патрушина, 2009). Аксеничная культура цианобактерий *Nostoc paludosum* была использована с целью изучения возможности существования с программируемыми в эксперименте микробными вселенцами – рода *Rhizobium* (Панкратова и др., 2008). Установлено самостоятельное существование обоих партнеров в искусственном

консорциуме, стабильность которого определяется технологией выращивания культур в коллекциях.

Цианобактерии родов *Anabaena*, *Nostoc*, *Arthrospira*, *Aphanizomenon* используют в питании во многих странах (Barka, Blecker, 2016). На рынке широкое распространение получили препараты на основе цианобактерий в виде порошков, гранул и таблеток. Цианобактерии *Spirulina (Arthrospira) platensis* применяют в качестве высокобелковой и витаминизированной добавки, биокрасителя. Пищевые красители, например, пигмент фикоцианин, выделяют из рода *Phormidium* (Ефимов, 2007). Химический состав биомассы цианобактерий *Phormidium ramosum*, для которых разработана схема получения биомассы, характеризуется достаточно высоким содержанием протеина - до 45,19 % органической части (Ефимова, Ефимов, 2004).

Кроме того, выделяют такие сферы практического применения цианобактерий как биоремедиация почв, очистка сточных вод, проанализированные в данном обзоре выше, получение экологически чистых и возобновляемых ресурсов включая биодизель, этанол, метан, водород (Angermayr et al., 2009).

Таким образом, цианобактерии являются перспективным биотехнологическим объектом для получения ценных веществ, используемых в медицине, растениеводстве, нутрициологии, ветеринарии.

### **1.8.2. Биотехнологические возможности актиномицетов и биопрепараты на их основе для агробiotехнологий**

Исследования показывают, что одним из условий получения высокоэффективных биопрепаратов является наличие активных и стабильных штаммов-продуцентов, поэтому очевидна необходимость знания их биологических особенностей: культурально-морфологических и физиолого-биохимических признаков, изменчивости, жизнеспособности, целевой активности (Терехова и др., 2007; Соболевская и др., 2008; Поляк и др., 2017).

На процесс роста и развития продуцентов оказывают влияние многие

факторы, к ним относятся температура и pH ферментационных жидкостей, способ и продолжительность культивирования, состав питательных сред (Звягинцев, 2001). При глубинном культивировании адаптация актиномицетов к источникам углерода и азота происходит значительно быстрее, чем при поверхностном, что подтверждается более коротким латентным периодом: лаг фаза сокращается с 24-36 до 18-20 часов. К моменту выхода в стационарную фазу роста экономический коэффициент максимален. В целом культивирование актиномицетов целесообразно проводить в течение 7, 14, 21 суток (Зенова, 1992).

Важной характеристикой для накопления биомассы является обеспеченность культуры источниками углерода, являющимися строительным материалом и источником энергии для клетки (Звягинцев, 2011). Среды для культивирования актиномицетов подбираются индивидуально для каждого продуцента. Они должны содержать в себе источники углерода, азота, а также различные микро- и макроэлементы. Актиномицеты успешно растут на средах, содержащих моно-, дисахариды и сахароспирты, обладает способностью утилизировать глицерин, этиловый спирт. Оптимальное для культивирования актиномицетов значение pH 6-8. Температурный диапазон для получения максимального выхода биомассы актиномицетов находится в пределах 25-28 °С (Зенова, 2000; Синева, Терехова, 2017).

Актиномицеты являются основой современных биопрепаратов, например, направленных на защиту и стимуляцию роста растений: Фитоверм, Вертимек, Мекар, Биокилл, Оберон Рапид (Долженко, 2009; Castillo et al., 2006; Machavariani et al., 2014; Amaresan et al., 2018).

Патентный поиск показал ряд штаммов стрептомицетов, перспективных для создания на их основе средств защиты растений: *S. avermitilis* НИЦБ 132 - продуцент авермектинов эффективный в отношении круглых червей, зудных клещей (Патент №2147320), *S. avermitilis* ССМ 4697 - продуцент авермектинов, оказывающих токсическое действие на клещей (Патент №2156301), *S. chrysomallus* P-21 действует против грибных и вирусных фитопатогенов (Патент № 2226214), *S. cinnamonensis* АС-1638 – обладает узким спектром влияния на



микроорганизмы (Патент №2241755), *S. globisporus* К-35/15 - используется для защиты растений от вредных насекомых – фитофагов (Патент №2630661), *S. hygrosopicus subsp.* ЦКМ В-4561 - обладает фунгицидными, бактерицидными и инсектицидными свойствами (Патент №2243259).

Изучены биотехнологические особенности штамма *S. lateritius* 19/97М в условиях поверхностного и глубинного культивирования (Агансонова и др., 2000). Выявлено, что штамм способен использовать различные субстраты в качестве источника углерода: крахмал, глицерин, моно-, дисахариды. Проведенные исследователями опытно-производственные испытания показали, что использование биопрепаратов на основе данного продуцента увеличивает урожайность злаков в 1,2 раза, а выход здоровых сеянцев в лесном питомнике - в 9,5 раз.

Проведенные исследования И.В. Бойковой с соавторами (2002, 2005, 2007) позволяют рекомендовать препарат Нимацаль-Т/С (при условии его регистрации на территории РФ) для защиты овощных культур (огурца, баклажана и перца) от паутинных клещей рода *Tetranychus* путем двукратной обработки растений в предложенных авторами концентрациях с интервалом 12 дней. Штамм *S. hygrosopicus* Subsp. 24 может быть использован в качестве средства для защиты растений от болезней и вредителей, например, личинок 1 возраста колорадского жука и гусениц.

Создана модель для оценки инсектицидной активности изолятов и обнаружены штаммы актиномицетов, вызывающие летальный эффект на насекомых-вредителей - тараканов и сверчков, которые являются аналогами саранчи (Звенигородский и др., 2004). Результаты исследований О.С. Анисимовой (2008) свидетельствуют о том, что штаммы *S. loidensis* П-56 и *S. herbaricolor* S-100, отселектированные по признаку инсектоакарицидной активности и заложенные на длительное хранение различными методами, рекомендуется использовать для разработки эффективных и экологически безопасных биопрепаратов Индоцид и Гербен для включения их в системы интегрированной защиты растений от вредных сосущих членистоногих.

Изучено влияние двух штаммов актиномицетов рода *Streptomyces* на морковную листоблошку (Сергеева, 2009). Исследования показали, что препараты начинают гарантированно действовать на 3-и сутки после обработки. В работе И.Г. Широких с соавторами (2013) установлено, что штамм *S. hygrosopicus* А-4 целесообразно использовать в качестве биопрепарата для регуляции численности фитопатогенов на завершительной стадии микробной сукцессии, связанной с окончанием вегетационного периода. В работе Н.Б. Лемановой с соавторами (2015) изложены результаты применения двух изолятов р. *Streptomyces* в качестве основы биопрепаратов – стимуляторов роста при выращивании томата и баклажана.

Анализ литературных источников свидетельствует о том, что на основе актиномицетов производятся биопрепараты проявляющие антагонистическую активность, но нет ни одного средства защиты растений, сочетающего одновременно противовирусные, фунгицидные, антиоксидантные и фитостимулирующие свойства.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ к ГЛАВЕ 1.**

Анализ литературных данных показал, что расширение сведений об объеме и разнообразии микроорганизмов аридной зоны, их месте среди прочих организмов, населяющих почву, развивает наши представления о них, как о продуцентах специфических биологически активных веществ и вызывает большой интерес к их исследованию. Существование таких микроорганизмов как цианобактерии и актиномицеты в экстремальных условиях, благодаря их адаптационным возможностям, не только возможно, но и планомерно, так как происходит активное их развитие и наращивание значительных биомасс. Существовая в симбиозах, данные бактерии ведут себя как автономные космополиты, способные развиваться не только в экстремальных условиях, но и выдерживать конкуренцию за источники энергии и биогенные элементы с другими компонентами биоты. Почвенно-экологические условия аридных зон, особенно, высокая соленость, способствует преобладанию в этих

местообитаниях устойчивых к экстремальным факторам цианобактерий и актиномицетов, которые являются богатым источником вторичных метаболитов, проявляющих высокую биологическую активность и могут служить основой для разработки биопрепаратов с полезными свойствами.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 2.1. Объекты исследований

Объектами исследований служили цианобактерии, выделенные из исследуемых водных, почвенных, ризосферных экосистем; актиномицеты, выделенные из засоленных почв; 146 лабораторных циано-бактериальных сообществ и альгологически чистые культуры цианобактерий (*Anabaena constricta* IPPASB-2020; *Phormidium ramosum* В.-Peters IPPASB-2022) и их ассоцианты и водные и водно-спиртовые экстракты; 21 изолят и штаммы актиномицетов (*S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883) и экстракты их суспензий: водно-спиртовой в трех модификациях: 80:20; 50:50; 20:80, метанольный и гексановый; сельскохозяйственные растения – представители семейства мальвовые Malvaceae, злаковые Gramíneae, капустные Brassicáceae, Пасленовые Solanaceae; изоляты грибов родов *Fusarium*, *Phythium*, *Alternaria*; изоляты бактерий *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*.

#### 2.2. Отбор проб

Пробы воды и материалов отбирали из техногенных водоёмов, приуроченных к территориям, испытывающим интенсивное техногенное воздействие: Баскунчакское гипсовое месторождение (озеро Мраморное), Астраханское газоконденсатное месторождение (водоёмы окситенк, ЕСР, ЗПО, Южное, Северное), очистные сооружения Астраханского целлюлозно-картонного комбината (рис. 2). Пробы воды отбирали в естественных водоемах: река Волга, озера Гнилое, Лапоть, Сазаний и Рачий, которые соединяются с основным водотоком – рекой Волга только в период половодья. Всего было исследовано 72 пробы.

Пробы воды на гидробиологический и гидрохимический анализы отбирали в соответствии с ГОСТами и общепринятыми методиками (Киселёв, 1976; Бубнова и др., 1980; ГОСТ 17.1.3.07-82; ГОСТ 17.1.5.05-85; Кузнецов,

Дубинина, 1989). Пробы для выделения цианобактерий отбирали по общепринятым микробиологическим методам в прибрежной части водоёмов (Родина, 1965; Романенко, Кузнецов, 1974).



Рисунок 2 - Географическое расположение территорий Астраханской области, испытывающих интенсивное техногенное воздействие

Отбор почвенных образцов для химического, микробиологического анализов проводили согласно ГОСТ 17.4.4.02-2017. Образцы почв для анализа брали в характерном для данной местности биотопе с учетом ландшафта, рельефа, растительности, типа почвы и ее окультуренности. Для химических анализов почву высушивали в бумажных пакетах, после чего хранили при комнатной температуре. Микробиологические исследования проводили сразу после взятия проб.

Для выделения и учета почвенных фототрофов отбирали образцы почв по общепринятой методике Голлербаха и Штиной (Голлербах, 1969) на пробных площадках размером 1-10 м<sup>2</sup>.

### **2.3. Химический анализ воды и почвы**

Гидрохимические анализы воды, включающие определение рН среды, аммонийного азота, хлоридов, сульфатов, бикарбонатов, сероводорода, выполняли согласно общепринятым методикам (Унифицированные методы..., 1976; Новиков и др., 1981). Нефтепродукты определяли согласно ПНД Ф 14.1:2:4 129-98 на «Флюорат-02», фосфаты - ПНД Ф 14.1:2 112-97, общее содержание солей - ПНД Ф 14.1:2 114-97, ионы Ca<sup>2+</sup> и Mg<sup>2+</sup> - ПНД Ф 14.1:2 98-97.

Количественный химический анализ почвенных образцов проводили традиционными методами анализа почв (Теория и практика..., 2006).

### **2.4. Фиксация и концентрирование проб воды для изучения цианобактерий в составе фитопланктона**

Фиксацию проб воды осуществляли сразу после отбора проб с добавлением фиксирующего реагента – 40 % раствор формалина до концентрации его в 0,5 дм<sup>3</sup> до 4 %. Пробы для исследования фитопланктона хранили в неподвижном состоянии в темном месте. Сроки отстаивания пробы составляли 10 дней.

После осаждения водорослей пробу концентрировали путем сливания (сифонирования) среднего слоя воды. Скорость падения уровня в пробе менее 3 см/ч, до 80 мл. Для этого использовали тонкий стеклянный сифон с загнутым на 1 см вверх концом. Сифонирование заканчивали на уровне слоя воды 1 см до кончика сифона, поскольку необходимо не нарушить осадок и не допустить засасывания поверхностного слоя, в котором могут находиться водоросли. Сгущенная таким образом проба имеет недостаточную концентрацию фитопланктона для микроскопирования. Поэтому пробы взбалтывали и концентрировали до объема 30–35 мл на центрифуге («ОПн- 8») 5 мин при 4000

оборотах/минуту. Далее пипеткой переносили концентрированный хорошо перемешанный материал на предметное стекло (Садчиков, 2003).

### **2.5. Получение накопительных культур водных цианобактерий**

Для изучения цианобактерий и образуемых ими сообществ применяли метод накопительных культур (Гайсина и др., 2008). Накопительные культуры были поставлены в полулитровых сосудах, куда помещали 350 мл воды техногенного или природного водоёма и 100 мл среды  $BG_N-11$ . Культивирование проводили в люминостате при освещении 600-700 лк при температуре 25-30 °С. О росте накопительных культур судили по изменению цвета, образованию пленок, обрастаний, выпадению осадка, выделению газа, образованию матов. Результаты снимали на 14, 28 и 42 сутки инкубирования.

Всего было исследовано 146 накопительных культур. В качестве питательной среды использовали  $BG_N-11$  (Держинская, 2008; Rippka et al., 1979), следующего состава (г/л):  $NaNO_3$  - 1,5;  $K_2HPO_4$  - 0,04;  $MgSO_4 \times 7H_2O$  - 0,075;  $CaCl_2 \times 2H_2O$  - 0,036;  $Na_2CO_3$  - 0,02; ЭДТА - 0,001; лимонная кислота - 0,006; железо лимоннокислое - 0,006; микроэлементы - 1мл; дистиллированная вода – 1 л. Для поддержания уреза воды в сосудах, в течение культивирования, на одном и том же уровне, в связи с испарением, добавляли воду исследуемого водоёма и среду  $BG_N-11$ , раствор которых готовился для каждой накопительной культуры.

Альгологически чистую культуру получали поочередно, пересаживая необходимые колонии на жидкую и плотную среду  $BG-11$ .

### **2.6. Получение накопительных культур почвенных цианобактерий**

Для исследования водорослей и цианобактерий в почве применяли метод накопительных культур на жидких средах (Гайсина и др., 2008). Накопительные культуры ставили путем внесения почвенных проб в колбы объемом 100 мл с жидкими питательными средами (Бристоль,  $BG-11$  (без  $NaNO_3$ ), Успенского, Громова б) (Нетрусов, 2005). Рост накопительных культур устанавливали визуально по помутнению среды, образованию пленки и осадка, обрастаниям на

стенках сосудов и образованию матов. Идентификацию видов проводили как в смешанных культурах, так и в полученных альгологически чистых.

Микроскопирование клеток цианобактерий проводили с использованием бинокулярного микроскопа Unico G 380, визуализатором и фотоаппаратом.

### 2.7. Расчет индексов сходства числа видов в почве

Оценку сходства числа видов, выявленных в разных образцах почв проводили с использованием коэффициентов сходства Жаккара (Jaccard, 1901) (1) и Съёренсена-Чекановски (Бакиева и др., 2012; Czekanowski, 1922; Sorensen, 1948) (2).

$$J = \frac{c}{a+b-c} \quad (1); \quad QS = \frac{2c}{a+b} \quad (2),$$

где:  $c$  - число видов, общих для проб А и В;  $a$  - число видов, присутствующие в пробе первого района;  $b$  - число видов, присутствующие в пробе второго района.

Оценку флористической общности видов водорослей в разных почвенных экосистемах проводили по двум показателям Жаккара и Съёренсена-Чекановски с целью определения вероятности того, что найденное сходство экосистем статистически значимо отличается от случайного распределения и имеет закономерный характер. Индекс Жаккара является качественным, индекс Съёренсена-Чекановски – количественным.

Расчет индекса Шеннона проводили по формуле (Shannon, 1949) (3):

$$H' = -\sum p_i \ln p_i \quad (3),$$

где:  $p_i = n_i/N$  – доля  $i$  – го вида в почве,  $n_i$  – численность  $i$  – го вида (экз.),  $N$  – общая численность цианобактерий или водорослей,  $\ln$  – натуральный логарифм.

### 2.8. Идентификация цианобактерий и водорослей

Идентификацию цианобактерий в составе фитопланктона, почвы и в накопительных культурах, проводили по морфологическим и физиолого-



биохимическим признакам, используя определитель Голлербаха и др., (1953), Топачевского, Масюка (1984), Берджи (1997), *Bergey's Manual...*, (2001).

Идентификацию водорослей проводили по определителям Андреевой (1975), Вассер и др. (1989), Беляковой (2006). В основу идентификации водорослей положены окраска, форма клеток, их расположение, характер ветвления нитей, строение клеточной оболочки.

## **2.9. Исследование физиологических групп микроорганизмов – спутников водных техногенных циано-бактериальных сообществ**

Численность физиологических групп микроорганизмов в циано-бактериальных сообществах определяли с помощью метода предельных разведений и высева на плотные и жидкие питательные среды с последующим определением наиболее вероятного количества клеток по таблице Мак-Креди, разработанной на основании методов вариационной статистики (Родина, 1965; Антипчук, 1979; Егоров, 1983; Методы общей бактериологии, 1983; Теппер и др., 1993). Для получения суспензии (посевого материала) 1 г тяжа циано-бактериального сообщества помещали в чашку Петри и стерильной препаровальной иглой разделяли на нити, затем, постепенно доливали 9 мл воды, встряхивали вручную и на качалке до получения однородной суспензии, которую использовали для посева. Приготавливали разведения суспензии, 1 мл которых использовали для посева. Опыты проводили в трехкратной повторности.

### **2.9.1. Количественный учет бактерий круговорота серы**

Для выделения сульфатредуцирующих бактерий, участвующих в восстановлении серных соединений, использовали среду Таусона в видоизменении Штурм (Родина, 1965, г/л дистиллированной воды): лактат кальция – 3,5;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 4,0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,5;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 1,0;  $\text{CaSO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  – 0,5; соль Мора – 0,5. О развитии сульфатвосстанавливающих бактерий судили по появлению в толще среды колоний черного цвета и газообразованию.

Тионовые бактерии, окисляющие сероводород, выделяли с помощью среды Бейеринка (Родина, 1965, г/л дистиллированной воды):  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$  – 5,0; – 1,0;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  – 0,2;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  – 0,1;  $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  – 0,1. О развитии тионовых бактерий судили по помутнению среды через 2—4 дня и появлению на ее поверхности пленки молекулярной серы, которая образуется при окислении тиосульфата.

Основой культивирования аноксигенных фототрофов - пурпурных и зелёных бактерий служила среда Ван-Ниля (Теппер, 1993, г/л водопроводной воды):  $\text{NaHCO}_3$  – 5,0;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  – 1,0;  $\text{Na}_2\text{S} \times \text{H}_2\text{O}$  – 1,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,0;  $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  – 0,5;  $\text{NaCl}$  – 5,0; ацетат натрия – 1,0; раствор микроэлементов – 1 мл. Для развития пурпурных серобактерий pH среды доводили до 8 - 8,4 добавлением маннита. О наличии фотосинтезирующих бактерий судили по образованию налета на стенках опытных сосудов пурпурного и зеленого цвета.

Для выделения бесцветных бактерий, окисляющих восстановленные соединения серы, применяли среду Бавендама (Теппер, 1993, г/л дистиллированной воды):  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,05;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,05;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 1,5;  $\text{KCl}$  – 0,05;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  – 0,01;  $\text{CaCO}_3$  – 10,0. О росте бесцветных бактерий судили по появлению на поверхности среды серовато-белой хрупкой пленки.

### **2.9.2. Количественный учет бактерий круговорота азота**

Для выделения азотфиксирующих бактерий использовали среду Эшби, (Теппер и др., 1993, г/л водопроводной воды): маннит – 20,0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,2;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,2;  $\text{NaCl}$  – 0,2;  $\text{K}_2\text{SO}_4$  – 0,1;  $\text{CaCO}_3$  – 5,0; агар – 20,0. Численность азотфиксирующих бактерий определяли в процентном соотношении обросших слизью комочков цианобактерий, на твердой среде Эшби. Посевной материал раскладывали в шахматном порядке по 33 комочка на поверхность среды в чашках Петри.

Протеолитические и аммонифицирующие бактерии выращивали на основе рыбопептонного бульона (РПБ) с дистиллированной водой (Егоров, 1976). О

развитии бактерий судили по помутнению среды, образованию в ней хлопьев и осадка, наличию пленки на поверхности.

Нитрифицирующие бактерии, окисляющие аммиак, выделяли на основе среды Виноградского для двух фаз (Кузнецов, Дубинина, 1989). Первая фаза (г/л дистиллированной воды):  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 2,0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 1,0;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,5;  $\text{NaCl}$  – 2,0;  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,4; мел в осадке. Мел добавляли в очень небольшом количестве в каждую колбу отдельно. Вторая фаза (г/л дистиллированной воды):  $\text{NaNO}_2$  – 1,0;  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  – 1,0;  $\text{NaCl}$  – 0,5;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,5;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,3;  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,4. Присутствие нитратов в среде определяли с помощью серной кислоты и дифениламина. Реакцию на нитриты проводили с реактивом Грисса.

Основой для культивирования денитрифицирующих бактерий, восстанавливающих нитрат, служила среда Гильтая (Егоров, 1983, г/л дистиллированной воды): аспарагин – 1,0;  $\text{KNO}_3$  – 2,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 2,0;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 2,0;  $\text{CaCl}_2$  – 0,2;  $\text{FeCl}_3$  – следы. К среде добавляли несколько мл индикатора бромтимолового синего, для того, чтобы следить за ходом процесса также и по изменению реакции среды (при развитии денитрифицирующих бактерий pH сдвигается в щелочную сторону). Через 10 дней инкубации культуры подвергали анализу: отмечали появление пузырьков газа под пробкой и изменение цвета среды.

### 2.9.3. Выделение сапротрофов из галофильного сообщества

Для выделения сапротрофов галофильного сообщества использовали РПБ с солёностью 10%. Посев исследуемого материала осуществляли в рыбопептонный бульон с 10% солёностью из разведений 1:10-1:10<sup>7</sup>. Две пробирки оставляли стерильными до конца опыта в качестве контроля для оценки роста. После внесения посевного материала между горлышком и пробкой каждой пробирки укрепляли полоски фильтровальной бумаги, пропитанные лакмусом и уксуснокислым свинцом (Егоров, 1976, 1983). Культивирование проводили при температуре 30°C. О развитии сапротрофов в рыбопептонном бульоне судили по помутнению среды, наличию плёнки на поверхности, выделению  $\text{NH}_3$  и  $\text{H}_2\text{S}$ .

После обнаружения роста сапротрофов в жидкой среде, осуществляли высев на поверхность агаризованной среды рыбо-пептонного агара (РПА) с той же солёностью.

## **2.10. Исследование актиномицетов в составе спутников почвенных циано-бактериальных сообществ**

Актиномицеты в составе почвенных циано-бактериальных сообществ выделяли методом предельных разведений с высевом на крахмально-казеиновую среду (Нетрусов и др., 2005). Высевали по 1 мл в чашку Петри из разведений 1:10-1:10<sup>7</sup>. Выращивание культур проводили в течение 7 суток при t = 28°C в термостате ТС-1/80 СПУ. О наличии актиномицетов судили по росту характерных колоний.

## **2.11. Выделение и количественный учет актиномицетов в составе почвенных микробных комплексов**

Для выявления и количественного учета эколого-трофических групп микроорганизмов методом предельных разведений проводили посев на плотные коммерческие питательные среды: ГРМ-агар, среда Эшби, голодный агар, среда Чапека, а также на среды для выявления актиномицетов: среда Гаузе №2, крахмально-казеиновая среда, агар крахмально-аммиачный, агар глицерин-аргининовый, агар глицерин-нитратный (Теппер и др., 1993; Нетрусов и др., 2005). Среда Гаузе имеет следующий состав (г/л дистиллированной воды): крахмал растворимый – 20; KNO<sub>3</sub> – 1; MgSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O – 0,5; NaCl – 0,5; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,5; FeSO<sub>4</sub> – следы; pH – 7,2 - 7,4. Крахмально-казеиновая среда имеет следующий состав (г/л дистиллированной воды): крахмал растворимый - 10,0; казеин - 0,3; KNO<sub>3</sub> - 2,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 2,0; MgSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O - 0,05; NaCl - 2,0; CaCO<sub>3</sub> - 0,02; FeSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O - 0,01; агар - 20,0. Агар крахмально-аммиачный имеет следующий состав (г/л дистиллированной воды): (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - 2,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 1,0; MgSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O - 1,0; NaCl - 1,0; CaCO<sub>3</sub> - 3,0; крахмал растворимый - 10,0; агар - 20,0. Агар глицерин-аргининовый имеет следующий состав (г/л

дистиллированной воды): глицерин - 12,5; аргинин - 1,0;  $K_2HPO_4$  - 1,0;  $MgSO_4 \times 7H_2O$  - 0,05; NaCl - 1,0;  $FeSO_4 \times 7H_2O$  - 0,01;  $CuSO_4 \times 5H_2O$  - 0,001;  $ZnSO_4 \times 7H_2O$  - 0,001;  $MnSO_4 \times 4H_2O$  - 0,001; агар - 20,0. Состав глицерин-нитратного агара следующий (г/л дистиллированной воды): галактоза - 5; глицерин - 5;  $KNO_3$  - 1;  $Na_2HPO_4$  - 2,5; агар - 3,0.

Выращивание культур проводили в течение 1-7 суток при  $t = 28^\circ C$  в термостате ТС-1/80 СПУ.

## **2.12. Штаммы *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 и среды культивирования**

В опытах использовали двухсуточные и трехсуточные суспензии отобранных штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883; 5 вариантов экстрактов (водно-спиртовый в трех модификациях: 80:20; 50:50; 20:80, метанольный и гексановый) штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883.

Несмотря на то, что вторичные метаболиты актиномицетов синтезируются в основном в стационарной фазе процесса ферментации (Егоров и др., 2004; Berdy et al., 1994), их компонентный состав у исследуемых штаммов изучен в лаг-фазе роста культуры, так как исследуемые бактерии в данной стадии обладают высокой биологической активностью, а концентрация  $10^9$  КОЕ/мл соответствует концентрации клеток в коммерческих биопрепаратах.

Идентификация штаммов проведена в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ФГБНУ ВНИИСХМ, г. Санкт-Петербург, Пушкин) с помощью метода секвенирования по Сэнгеру фрагмента последовательности гена 16S рРНК (*rrs*). В данной коллекции штаммы депонированы. Штамм *S. carpaticus* депонирован в государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболensk» (ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии») под номером В-9993.

Глубинное культивирование актиномицетов проводили на средах, на которых выделены соответствующие изоляты, без использования агар-агара (Егоров, 1995; Зенова и др., 2000). Общее микробное число клеток в суспензии определяли методом глубинного посева на питательный агар и подсчетом клеток в камере Горяева (Звягинцев, 1991; Нетрусов и др., 2005).

В процессе культивирования на жидких питательных средах осуществляли контроль следующих параметров: рН на рН-метре-иономере «Эксперт-001», отсутствие посторонней микрофлоры путем микроскопирования и высева на ГРМ-агар.

Данные штаммы хранятся в коллекции кафедры биотехнологии, зоологии и аквакультуры ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет» и научной лаборатории биотехнологий. Для хранения штаммов используется метод периодических пересевов (4-6 раз в год) на крахмально-казеиновой среде. Культивирование после пересева проводится при температуре 28°C в течение 7-14 дней. Затем культуры хранятся в холодильнике при температуре +4°C.

Микроскопирование актиномицетов проводили с использованием бинокулярного микроскопа Unico G 380, визуализатором и фотоаппаратом.

### **2.13. Получение экстрактов штаммов актиномицетов**

Штаммы выращивали при температуре плюс 28°C и рН = 7 в течение 72 часов при непрерывном перемешивании на шейкере (120 об/мин) на картофельной среде (Гаузе и др., 1983). Концентрацию клеток в суспензии определяли путём высева суспензии на плотную картофельную среду (Нетрусов и др., 2005).

Метанольный и водно-спиртовой экстракты готовили из сухой биомассы исследуемых штаммов *S. carpathicus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 с титром клеток 10<sup>9</sup> КОЕ/мл, полученной путем высушивания в ротационном вакуумном испарителе (ИКА RV 10 digital). Сухие биомассы штаммов заливали метанолом или раствором дистиллированной воды и этанола (20:80; 50:50; 80:20) в соотношении 1 мг/мл (Бойкова и др., 2007).

После центрифугирования, удаления осадка, высушивания жидкости в ротационном испарителе при температуре от 60 до 70 °С, досушивания в сушильном шкафу (ШС-80-01 СПУ) при температуре 37 °С в течение 3х суток получали сухие экстракты.

Для приготовления гексановых экстрактов 250 мл суспензии (концентрация клеток  $10^9$  КОЕ/мл) штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 экстрагировали 5 мл гексана в течение 3 минут в делительной воронке (Krylova et al., 2003). Гексановый экстракт высушивали в ротационном испарителе. Экстракты сохраняли в морозильной камере при температуре -18 °С.

Для получения опытных образцов сухую биомассу суспензии и сухие экстракты штаммов разводили стерильной дистиллированной водой в соотношениях: 0,5 мг/мл и 1 мг/мл.

#### **2.14. Получение экстрактов и фракции цианобактерий**

Для получения водно-спиртовых экстрактов образец сырой биомассы цианобактерий высушивали при температуре 37 °С в сушильном шкафу (ШС-80-01 СПУ) в течение суток, затем доводили до постоянного веса в течение трех суток. Абсолютно сухую биомассу измельчали в ступке до размера частиц 1-2 мм, заливали раствором дистиллированной воды и этанола (50:50; 20:80; 80:20) в соотношении 10мг/1мл. Спустя час экстракты тщательно отфильтровывали через газовый фильтр.

Фракцию получали методом колоночной хроматографии, пропуская водно-спиртовой экстракт цианобактерий *Anabaena constricta* IPPAS B-2020 (1:1) через колонку с силикагелем (КСМГ, фракция 0,125-0,20 мм) высотой 14 см. Колонку заливали элюентной системой (80% спирта и 20% воды). Через 90 минут получили одну фракцию лимонного цвета. Высушенную фракцию массой 5 мг разводили 5 мл стерильной дистиллированной воды и использовали для опытов.

Для исследования антиоксидантной активности готовили водный экстракт

биомассы цианобактерий. Образец абсолютно сухой биомассы измельчали в ступке до размера частиц 1-2 мм, заливали дистиллированной водой в соотношении 10мг/1мл. Спустя час экстракты тщательно отфильтровывали через газовый фильтр.

Для исследования метаболитов (НОС) почвенного сообщества №21 получали гексановый экстракт культуральной жидкости, с концентрацией цианобактерий 0,5 г на 1 л среды BG-11.

Для выделения экзогенных метаболитов (НОС) альго-бактериальных сообществ методом газовой хроматографии и масс-спектрометрии получали гексановые экстракты. Для этого 250 см<sup>3</sup> отфильтрованной культуральной среды экстрагировали 5 мл гексана.

### **2.15. Идентификация цианобактерий молекулярно-генетическими методами**

Для молекулярно-генетической идентификации цианобактерий использовали последовательность гена 16S рРНК. ДНК выделяли фенол-хлороформным методом (<http://www.bio-protocol.org/e1428> [http://molbiol.ru/protocol/24\\_01.html](http://molbiol.ru/protocol/24_01.html)). Амплификацию фрагментов гена 16S рРНК проводили, используя специфические цианобактериальные праймеры CYA106F 5'-CGGACGGGTGAGTAACGCGTGA-3' CYA781R 5'-GACTACWGGGGTATСТААТСССWTT-3', которые давали фрагмент длиной около 700 п.н. (Nübel et al., 1997). Полученные продукты ПЦР разделяли электрофорезом в агарозном геле, вырезали участки геля, содержащие продукт ПЦР и выделяли ДНК из геля. Полученную в результате секвенирования последовательность гена 16S рРНК сравнивали с известными цианобактериальными последовательностями в базе данных Genbank NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) и программы BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Для конструирования филогенетических деревьев использовали программу MEGA 7.0 и метод Neighbor-Joining (Tamura et al., 2011).



Статистическая достоверность кластеров оценивалась с помощью бутстреп-анализа (1000 реплик).

Культуры цианобактерий *Anabaena constricta* и *Phormidium ramosum* В.-Peters депонированы в коллекции культур микроводорослей (IPPAS) ФГБУН Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН под номерами IPPASB-2020 и IPPASB-2022, соответственно. Последовательность 16S рРНК штамма цианобактерий IPPAS B-2020 депонирована в базе данных GenBank NCBI под номером ID OK041021, штамма цианобактерий IPPAS B-2022 – под номером ID OK041022.

## **2.16. Определение фитотоксичности изолятов актиномицетов на семенах томата**

Для отбора активных изолятов с фитостимулирующими свойствами определяли фитотоксичность суспензии актиномицетов в лабораторных опытах на семенах томата (*Solanum lycopersicum*) Новичок (ГОСТ 12038-84).

Экспозиция замачивания семян в трехсуточной суспензии составляла 1 час. Обработанные семена помещали по 20 штук и проращивали на увлажненных ватных дисках (по 20 мл стерильной воды) в чашках Петри. В опыте использовали 2 контрольных варианта: 1 – замачивание семян в водопроводной воде, 2 - замачивание семян в стерильной крахмально-казеиновой среде. Повторность опыта трехкратная. Учет всхожести проводили на 7-е и 14-е сутки.

## **2.17. Определение культурально-морфологических и биохимических свойств и идентификация штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 молекулярно-генетическими методами**

Сравнительное изучение морфологических (форма цепочек спор) и культуральных (окраска воздушного мицелия, окраска субстратного мицелия, наличие растворимых пигментов, наличие меланоидных пигментов) диагностических признаков при росте штаммов актиномицетов выполнили на

следующих средах: минеральный агар I, солевой раствор А, овсяный агар, овсяный агар ISP3, глицерин-нитратный агар, глюкозо-аспарагиновый агар, глицерин-аспарагиновый агар ISP5, пептонно-дрожжевой агар с железом ISP6, среда ISP9, крахмально-аммиачный агар ISP4 (Гаузе и др., 1983).

Для изучения морфологического строения репродуктивных структур культуры актиномицетов выращены на среде, наиболее благоприятной для спороношения, минеральном агаре 1, в чашках Петри или на скошенном агаре в пробирках. Тип цепочек и характер поверхности спор определяли у зрелых культур на 14 день роста. Кусочек агара с мицелием помещали на предметное стекло, срезав предварительно весь лишний агар, и просматривали в световой микроскоп.

Культуральные свойства исследовали путем определения цвета воздушного и субстратного мицелия, цвета растворимых пигментов, которые окрашивают среду. Пигменты, продукты вторичного метаболизма, являются важной биохимической характеристикой актиномицетов (Гаузе и др., 1983).

Определение цвета проводили на 7, 14, 21 день роста культур. Цвет воздушного мицелия определяли на минеральном агаре 1, так как данная среда благоприятна для образования спороносящего воздушного мицелия. Определение цвета воздушного мицелия проводили при дневном освещении.

Цвет субстратного мицелия (определяли по цвету обратной стороны колонии) обусловлен образованием различных пигментов. Данный цвет изменяется в процессе роста культур вследствие образования нескольких пигментов. В процессе длительного культивирования и хранения культуры иногда теряют способность к образованию пигментов. Определение окраски субстратного мицелия относится также к определению цвета растворимых, окрашивающих сред пигментов.

Образование меланоидных пигментов определяли на пептонно-дрожжевом агаре, содержащем железо, на 2-4 сутки роста. Если при этом образовывался темно-зелено-бурый, бурый или черный растворимый пигмент, то считалось, что культура образует меланоидные пигменты.

Биохимические анализы изолятов актиномицетов проводили: на оксидазу - согласно ГОСТ 32064-2013, на каталазу - ГОСТ 30425-97, на сероводород - ГОСТ 31659-2012, на индол - ГОСТ 30726-2001. Образование сероводорода обнаруживали на питательной среде Треснера, которую засеивали взвесью спор 14-и суточных культур актиномицетов. Отмечали результаты (почернение среды) через 48 часов при 28 °С. Способность штаммов восстанавливать нитраты в нитриты исследовали на жидкой среде Чапека с 1% глицерина.

Для идентификации выделенных активных изолятов актиномицета выделяли геномную ДНК, используя набор реактивов AxyPrep Multisource Genomic DNA Miniprep Kit («Corning», USA). Для амплификации участка гена 16S рРНК (около 1500 пн) применяли праймеры fD1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') и rD1 (5'-CTTAAGGAGGTGATCCAGCC-3') (Weisburg et al., 1991). ПЦР проводили в 50 мкл реакционной смеси, содержащей 5 мкМ смеси нуклеотидтрифосфатов («Хеликон», Россия), по 50 pmol каждого праймера («Евроген», Россия), 0,5 мкл *Taq*-полимеразы (5 ед./мкл) («Хеликон», Россия) и 1 мкл (100–200 нг) геномной ДНК. Реакцию проводили в амплификаторе C1000™ Thermal Cycler («BioRad», США). ПЦР выполняли в течение 36 циклов: предварительная денатурация при 95 °С, 3 мин 30 сек; 35 циклов денатурации при 94 °С, 1 мин, отжига праймеров при 54 °С, 1 мин и элонгации при 72 °С, 2 мин. 10 сек.; финальная элонгация при 72 °С 7 мин.

Выделенную ДНК визуализировали с помощью электрофореза в 1%-ном агарозном геле с использованием маркера Lambda DNA/HindIII («Fermentas», США) для оценки размера фрагментов и количества ДНК. Фрагменты нужного размера вырезали из геля и очищали с помощью набора PureLink™ Quick kit («Invitrogen», США) в соответствии с рекомендациями производителя.

Определение нуклеотидной последовательности ПЦР-продукта проводили на генетическом анализаторе ABI 3500xl («Applied Biosystems», США). Поиск гомологичных последовательностей проводили с помощью базы данных NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) и программы BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Для конструирования филогенетических

дереьев использовали программу MEGA 6.0 и метод Neighbor-Joining (Tamura et al., 2011). Эволюционные расстояния рассчитаны с использованием модели Maximum Composite Likelihood. Статистическая достоверность кластеров оценивалась с помощью бутстреп-анализа (1000 реплик).

### **2.18. Проведение полногеномного анализа штамма *S. carpaticus***

#### **RCAM04697**

Геномную ДНК выделяли фенол-хлороформным методом (Wiley, 1997). Полногеномное секвенирование осуществлено на платформе Illumina MiSeq, с использованием наборов Nextera DNA Library Preparation Kit и MiSeq Reagent Kits v3. Мономолекулярное нанопоровое секвенирование ДНК осуществлено на платформе MinION, согласно рекомендациям производителя, с использованием набора для быстрого баркодирования (RBK004) и проточной ячейки MinION (R9.4.1). Программное обеспечение для проведения секвенирования - MinKNOW v18.05.5 (время – 48 часов, 180 мВ), демультиплексирование – с помощью программы Guppy v6.0.1. Гибридную сборку генома без предварительного треммирования прочтений осуществили с помощью программы Unicycler v0.4.7.

### **2.19. Получение ультратонких срезов клеток штамма *S. carpaticus***

#### **RCAM04697**

Для ультраструктурного исследования штамма *S. carpaticus* RCAM04697 на 3 сутки инкубации отбирали фрагменты биопленки, выращенной на крахмально-казеиновой среде. Кусочки формировали размером примерно 2x2мм. Образцы фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере (рН 7,4) в течение 2 часов при комнатной температуре. После двухкратной промывки фосфатным буфером с сахарозой, образцы дофиксировали 2 % раствором OsO<sub>4</sub> в течение 2 часов при комнатной температуре. После отмывки указанным выше буфером образцы обезвоживали в серии растворов этилового спирта восходящей концентрации. Перед помещением в 96 % спирт образцы выдерживали в 70 % спиртовом растворе уранилацетата в течение 12 часов при температуре + 4°C. Затем образцы

отмывали от уранилацетата и продолжали обезвоживание 100 % спиртом и чистым ацетоном в три смены по 15 минут каждая. Далее образцы пропитывали смолой в серии растворов эпона в ацетоне возрастающих концентраций и заливали в чистый эпон. Полимеризацию проводили в термостате при температуре 37°C (24 ч), 60°C (48 ч).

Ультратонкие срезы (толщиной 90-100 нм) получали на приборе EM UC26 (Leica, Wetzlar, Germany). Их ультраструктурный анализ проводили в электронном микроскопе Tecnai 12 (FEI, Philips, Czech Republic).

## **2.20. Определение влияния экстремальных значений гидрохимических факторов среды на цианобактерии**

Исследование влияния различных факторов на жизнеспособность цианобактериальных сообществ включали изучение воздействия pH, температуры, фосфора, минерализации. О влиянии выбранных факторов на цианобактериальные сообщества судили по изменению окраски, разрастанию дерновинок, приросту биомассы, морфологических изменений в сообществе, что определялось микроскопированием препарата «раздавленная капля».

Посевной материал готовили, растирая в ступке дерновинки накопительных культур цианобактерий, образовавших маты, с последующим помещением на качалку при 24 об/мин на 3 часа. Полученную суспензию в количестве 1 мл использовали для посевов.

Биомассу определяли весовым методом с предварительным высушиванием до постоянного веса (Мейнелл, Мейнелл, 1967; Федоров, 1979). Сухая биомасса составила 1,6 г/л.

В экспериментах по влиянию минерализации на жизнеспособность цианобактериальных сообществ, для определения биомассы в конце опытов в опытные сосуды добавляли 25 мл стерильной дистиллированной воды и центрифугировали на центрифуге «ОПн- 8» при 500 об/мин 10 минут, после чего фильтровали, высушивали до постоянного веса и определяли биомассу.

В опытах по влиянию pH на циано-бактериальные сообщества реакцию среды измеряли с помощью ACIDIMETR 333.

Фотографии циано-бактериальных сообществ получены с помощью микроскопа Amplival (Zeiss) и люминесцентного микроскопа ЕС ЛЮМАМ – РПО11 с фотонасадками.

### **2.20.1. Определение влияния pH**

Эксперименты проводили в сосудах в растворе среды  $VG_N-11$  и воды, отобранной из водоёма ЗПО, в соотношении 9/1 при pH от 3 до 10. Для получения соответствующей реакции среды от pH 3 до pH 10 использовали буферные смеси  $Na_2CO_3$  и HCl в различных соотношениях. В качестве сравнения использовали накопительную лабораторную культуру *Phormidium tenuissimum*, развивающуюся при значениях pH среды 8,0. Культивирование проводили в течение 10 суток при 20°C в люминостате.

### **2.20.2. Определение влияния температуры**

Для эксперимента по влиянию температуры был выбран температурный ряд: 5°C, 10°C, 15°C, 20°C, 30°C, 40°C, 50°C и 65°C, который обусловлен анализом научной литературы.

Циано-бактериальные сообщества культивировали в сосудах в растворе среды  $VG_N-11$  и воды, отобранной из водоёма ЗПО, в соотношении 9/1, при реакции среды равной 9, как наиболее благоприятной для жизнедеятельности. В 10 мл раствора, высевали по 1 мл суспензии посевного материала. Инкубирование проводили в течение 10 суток в хладотермостатах и термостатах ТС-1/80 СПУ.

### **2.20.3. Определение влияния концентраций фосфатов**

Для исследования влияния различных концентраций фосфора на жизнедеятельность циано-бактериальных сообществ были взяты циано-бактериальные сообщества, выделенные из озер Северное, Южное, ЗПО, ЕСР, находящихся на территории Астраханского газоконденсатного месторождения,

с содержанием в воде фосфатов – 0,24 мг/л; 0,08 мг/л; 1,9 мг/л, 4,1 мг/л; соответственно. Для культивирования сообществ применяли среду BG<sub>N</sub>-11. Фосфор вносили в виде K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, как наиболее часто употребляемой соли при культивировании цианобактерий, в следующих концентрациях: 0,4 г/л, 1 г/л, 5 г/л, 10 г/л. Минимальную концентрацию фосфатов для культивирования принимали равной 0,04 г/л, такая концентрация фосфатов свойственна среде BG<sub>N</sub>-11. Культивирование проводили в пенициллиновых пузырьках с 10 мл среды BG<sub>N</sub>-11, в которые высевали по 1 мл суспензии посевного материала. Культивирование проводили в течение 20 суток при температуре 20°C и реакции среды pH 9 в люминостате.

#### **2.20.4. Влияние концентрации солей**

Для исследования влияния общего содержания солей на жизнедеятельность циано-бактериальных сообществ, выбраны два сообщества, выделенные из озера Южное с солёностью 96,0 г/л и из ЕСР с солёностью 2,0 г/л. Для эксперимента, использовали смесь хлоридов, сульфатов, карбонатов, процентное соотношение которых отвечает воде исследуемых водоёмов. Смесь солей вносили в следующих концентрациях: 10 г/л, 50 г/л, 100 г/л и 400 г/л. Культивирование проводили в конических колбах с 50 мл среды BG<sub>N</sub>-11, в которые высевали по 1 мл суспензии посевного материала в течение 10 суток при 20°C в люминостате, при реакции среды pH 9, как наиболее благоприятной для жизнедеятельности.

### **2.21. Определение фитотоксичности цианобактерий и их сообществ**

#### **2.21.1. Определение фитотоксичности в опыте с кресс-салатом**

Для исследования фитостимулирующей активности использовали 8 коллекционных лабораторных сообществ цианобактерий (№2, 5, 6, 11, 12, 14, 15, 21) и культуру *Anabaena constricta* IPPAS B-2020, выделенных из различных почвенных экосистем Астраханской области. Цианобактерии поддерживали путем пересева через 1-2 месяца на жидкую среду BG-11 в колбах Эрленмейера

объемом 100-250 мл и культивирования при естественном освещении и температуре 22-25 °С.

Исследование фитотоксичности и фитостимулирующей активности проводили с помощью теста на семенах кресс-салата сорта Дукат. Для эксперимента на токсичность семена кресс-салата помещали во влажные камеры - стерильные чашки Петри с фильтровальной бумагой в трех повторностях. Предварительно проводили стерилизацию семян, обработав 70% этанолом в течение 3-5 мин, после чего отмывали от 3 до 5 раз стерильной дистиллированной водой. В каждую камеру помещали 50 семян, которые увлажняли суспензией с 10 мл стерильной дистиллированной воды и 0,3 г опытной биомассы цианобактерий. Суспензию готовили путем добавления в дистиллированную воду измельченных на мелкие фрагменты тяжелой цианобактерий (для уменьшения градиента концентрации суспензии), затем взбалтывали в течение 3 мин. Контрольные семена замачивали в стерильной дистиллированной воде. Семена, обработанные суспензией и дистиллированной водой, проращивали в течение трех суток при дневном освещении и температуре 25 °С.

### **2.21.2. Определение фитотоксичности в опыте с пыреем бескорневищным**

В опыте использовали семена пырея бескорневищного сорта «Озерненский».

Для исследования использовали лабораторные циано-бактериальные сообщества, выделенные из различных почвенных экосистем Астраханской области (№2, 5, 6, 11, 12, 15, 21), с активными фитостимулирующими свойствами, которые изучали в предварительно проведенных экспериментах с помощью теста на семенах крессалата. Циано-бактериальные сообщества культивировали на жидкой среде BG-11 в колбах Эрленмейера объемом 100-250 мл при естественном освещении и температуре 22-25 °С.

Для исследования фитотоксичности циано-бактериальных сообществ семена пырея бескорневищного помещали во влажные камеры - стерильные



чашки Петри с фильтровальной бумагой. Предварительно проводили стерилизацию семян, обработав 70% этанолом в течение 3-5 мин, после чего отмывали от 3 до 5 раз стерильной дистиллированной водой. В каждую камеру помещали 50 семян, которые увлажняли суспензией с 10 мл стерильной дистиллированной воды и 0,3 г опытной биомассы циано-бактериальных сообществ. Суспензию готовили путем добавления в дистиллированную воду измельченных на мелкие фрагменты тяжелой циано-бактериальных сообществ, затем взбалтывали в течение 3 мин. Контрольные семена замачивали в стерильной дистиллированной воде. Семена, обработанные суспензией и дистиллированной водой, проращивали в течение десяти суток при дневном освещении и температуре 25 °С.

### **2.21.3. Определение влияния циано-бактериальных сообществ на рост томатов в ранней фазе развития растений**

Для исследования использовали лабораторные циано-бактериальные сообщества (№2, 5, 6, 11, 12, 14, 15, 21), выделенные из различных почвенных экосистем Астраханской области. Циано-бактериальные сообщества поддерживали путем пересева через 1-2 месяца на жидкую среду BG-11 в колбах Эрленмейера объемом 100-250 мл при естественном освещении и температуре 22-25 °С.

Для изучения способности циано-бактериальных сообществ стимулировать всхожесть растений томатов сорта «Новый принц», был поставлен лабораторный опыт, используя агрозем с опытного участка Всероссийского научно-исследовательского института орошаемого овощеводства и бахчеводства (ВНИИОБ). Для опыта использовали пластиковые кассеты с ячейками с отверстиями в нижней части объемом 50 мл, заполненные агроземом. Высаживали по одному семени в ячейку, глубина заделки – 1,0-1,5 см. Влажность почвы на протяжении опыта поддерживали на уровне оптимальной, соответствующей 60% от полной влагоемкости. Опыт проводили при комнатной температуре и естественном освещении в трех повторностях.

Бактеризацию семян томатов осуществляли в течение одного часа суспензией, которую готовили путем добавления в дистиллированную воду 0,4 г измельченных на мелкие фрагменты тяжелой циано-бактериальных сообществ (для уменьшения градиента концентрации суспензии), затем взбалтывали в течение 3 мин. Контрольные семена замачивали на один час в стерильной дистиллированной воде.

Всхожесть семян оценивали путем подсчета нормально проросших семян на 6й, 10й и 17й день культивирования. При обработке результатов учитывали всхожесть семян, длину побегов и количество листьев растений в контрольном и опытных вариантах.

#### **2.21.4. Определение эффективной концентрации циано-бактериальных сообществ для обработки растений**

Объектами исследования служили лабораторные культуры циано-бактериальных сообществ №2, №11, №15, №21, изолята бактерий вида *Bacillus megaterium*, препарат «Эпин» (гормон роста растений - эпибрассинолид), семена томатов сорта «Дар Заволжья». Пластиковые стаканы объёмом 250мл заполняли 200 гр нестерильной почвы, отобранной на опытном аграрном участке технопарка АГУ. В каждый стакан высаживали по 5 семян томатов на глубину 5 мм. Предварительно проводили стерилизацию семян в 70% этаноле в течении 3 минут. Затем семена несколько раз промывали в дистиллированной воде, после чего часть семян обрабатывали фитостимуляторами, в контроле семена обрабатывали стерильной дистиллированной водой в течение 1 часа.

Для опыта использовали циано-бактериальные сообщества, которые культивировали на питательной среде Громова 6 в течение 7 суток при естественном освещении и температуре 25°C. Состав среды Громова 6 следующий:  $\text{KNO}_3$  - 1,0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  - 0,2;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  - 0,2;  $\text{CaCl}_2$  - 0,15;  $\text{NaHCO}_3$  - 0,2; Fe+EDTA5 - 1,0 мл; агар-агар - 7 – 15г; вода дистиллированная до 1 литра; раствор микроэлементов:  $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,22;  $\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$  – 1,81;  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  – 0,079;  $\text{NaBO}_3 \times 4\text{H}_2\text{O}$  – 2,63;  $(\text{NH}_4)_6 \times \text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$  – 1,0;  $\text{FeSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$  – 9,3;  $\text{CaCl}_2$

– 1,2;  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times \text{H}_2\text{O}$  – 0,02; ЭДТА – 0,010, вода дистиллированная – 1000 мл.

Для приготовления суспензии циано-бактериальные сообщества разделяли на мелкие фрагменты, помещали в 10 мл стерильной дистиллированной воды. Влажная масса сообществ составила 0,3г, 0,5г, 0,8г, сухая биомасса составила 0,05г, 0,08г, 0,13г, соответственно. Для определения сухого веса сообщества высушивали при температуре  $37^\circ\text{C}$  в течение суток, затем доводили до постоянного веса в течение двух суток.

Для бактеризации семян томатов использовали суспензию бактерий *Bacillus megaterium* на основе бобового отвара с концентрацией клеток  $0,9 \cdot 10^7$  кл/мл. Для приготовления суспензии вносили 2 петли биомассы исследуемого изолята, культивируемого на бобовом агаре в 200 мл бобового отвара и культивировали трое суток при температуре  $28^\circ\text{C}$  при постоянном перемешивании 120 об/мин на перемешивающем устройстве ПЭ 6300. Титр клеток определяли в камере Горяева (Нетрусов, 2005). Раствор «Эпин-экстра» разводили в семь раз, согласно инструкции.

Пролив растений под корень фитостимуляторами осуществляли в фазу появления 2-го настоящего листа вручную, из расчета 1 мл на 1 растение. Сроки полива растения определялись визуально по состоянию почвы. В опыте фиксировали всхожесть, высоту растений и количество листьев.

Опыт проводили в четырех повторностях в течение 40 суток при естественном освещении и температуре  $25^\circ\text{C}$ .

#### **2.21.5. Определение влияния циано-бактериальных сообществ на рост хлопчатника**

Семена хлопчатника сорта АС-1 были любезно предоставлены нам ВНИИОБ. Для сравнительной оценки влияния на рост хлопчатника использовали следующие биостимуляторы: Эпин (эпибрассинолид), цианобактерии, бактерии рода *Bacillus*, минеральные удобрения «амофоска» и дистиллированная вода в качестве контроля.

Для исследования фитотоксичности биостимуляторов, семена хлопчатника

обрабатывали 70% этанолом (Нетрусов, 2005). Семена помещали в пластиковые стаканы с 250 гр. просеянным через сито стерильным песком (ГОСТ 21820,1-76). Песок увлажняли стерильной дистиллированной водой до 60% полной влагоемкости. В один стакан помещали 10 семян хлопчатника.

Для обработки семян хлопка применяли Эпин в трех концентрациях:  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-9}$ .

Для бактериализации семян хлопка цианобактериями приготавливали суспензию. В 10 мл стерильной дистиллированной воды вносили 0,5 г сырой биомассы циано-бактериальных сообществ, предварительно измельченных препаративными иглами на мелкие фрагменты для уменьшения градиента концентрации. В опыте использовали циано-бактериальные сообщества № 2, № 21, №15, № 26, культивируемые на питательной среде Громова 6.

Для бактериализации семян хлопка бактериями *Bacillus megaterium* использовали суспензию на основе бобового агара с концентрацией клеток  $4,9 \times 10^7$  кл/мл. Титр клеток определяли в камере Горяева (Нетрусов, 2005).

В качестве минерального удобрения использовали сложное азотно-фосфорно-калийное «Амофоска» с процентным соотношением N:P:K=22:11:11. Удобрение разводили в дистиллированной воде согласно инструкции 0,25 г на 100 мл стерильной дистиллированной воды.

Контрольные семена замачивали в стерильной дистиллированной воде.

Обработку семян стимуляторами и дистиллированной водой проводили в течение 1 часа, после чего высаживали в стаканы. Опыт проводили в четырех повторностях. Хлопчатник культивировали в лабораторных условиях 35 суток при естественном освещении и температуре 25 °С. Сроки полива растения определяли визуально по состоянию почвы. Полив растений под корень осуществлялся вручную средой Кнопа.

Пролив растений под корень, циано-бактериальной суспензией, суспензией на основе бактерий *Bacillus megaterium*, раствором минерального удобрения, а также опрыскивание верхней надземной части растения раствором Эпина осуществляли в фазу появления 1-го настоящего листа вручную, из

расчета 5 мл на 1 стаканчик (т.е. 10 растений).

Высоту растения измеряли на 7-й и 21-й день, в фазу 2го настоящего листа. Количество листьев на растении определяли путём их подсчёта на всех растениях, с последующим выведением среднего арифметического. Площадь листовой поверхности определяли расчетно-математическим методом (Доспехов, 1985).

## **2.22. Определение фунгицидной активности культур цианобактерий и штаммов актиномицетов**

Фунгицидную активность определяли методом диффузии в агар (Теппер и др., 1993; Нетрусов и др., 2005; МУК 4.2.1890-04).

В качестве тест – объектов использовали грибы видов: *Fusarium sporotrichioides*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium poae*, *Phythium ultimum*, *Alternaria tenuissima*, которые являются фитопатогенными и способствуют появлению корневых гнилей у растений, что снижает рост и урожайность растений и ведет к их гибели. Грибы предоставлены лабораторией технологии микробных препаратов ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии РАСХН.

В опыте использовали сырую биомассу циано-бактериальных сообществ №15, №2, №11, №21, сырую биомассу культуры *Anabaena constricta* IPPAS В-2020; водно-спиртовые экстракты сообществ №2 и №21 и культуры *Anabaena constricta* IPPAS В-2020 (50:50); фракцию водно-спиртового экстракта *Anabaena constricta* IPPAS В-2020.

Для выявления фунгицидной активности актиномицетов использовали суспензии штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883.

Грибы культивировали на бобовом агаре в течение 14 - 28 суток. Для приготовления водной суспензии грибов в чашку Петри с культурой гриба наливали 10 мл стерильной дистиллированной воды и шпателем Дригальского соскребали мицелий. Затем фильтровали полученную суспензию через 4 слоя

стерильной марли в мерную колбу. Подсчитывали титр спор микромицетов водной суспензии в камере Горяева: *Fusarium culmorum* –  $0,7 \times 10^7$  спор/мл; *Fusarium poae* –  $0,7 \times 10^7$  спор/мл; *Fusarium graminearum* –  $0,3 \times 10^7$  спор/мл; *Fusarium sporotrichioides* –  $0,7 \times 10^7$  спор/мл; *Phythium ultimum* -  $0,5 \times 10^7$  спор/мл; *Alternaria tenuissima* -  $0,7 \times 10^7$  спор/мл;

В готовую водную суспензию гриба добавляли питательную среду – бобовый агар, охлажденный до 40 °С, в соотношении 1:10. Разливали питательный агар с суспензией спор грибов в чашки Петри. В застывшем агаре каждой чашки делали 5 лунок с диаметром 5 мм, которые заполняли исследуемым материалом. В центральной лунке помещали контроль в количестве 100 мкл. В случае с исследованием биомассы, фракции цианобактерий, суспензий актиномицетов в качестве контроля служила дистиллированная вода, при исследовании водно-спиртовых экстрактов, контролем был водно-спиртовой раствор 1:1.

Фунгицидную активность оценивали на 3-5 сутки по диаметру зоны ингибирования микромицета. Диаметр зоны ингибирования измеряли с помощью линейки.

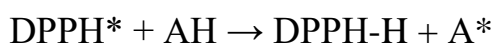
Морфологические изменения, происходящие с фитопатогенными грибами под воздействием цианобактерий изучали с помощью микроскопа Микмед 5 с визуализатором и компьютерной программой VidCap.

### **2.23. Определение антиоксидантной активности цианобактерий и актиномицетов**

В экспериментах по определению антиоксидантной активности использовали культуральную жидкость, водный и водно-спиртовой экстракты (50:50) почвенных циано-бактериальных сообществ №2, №21 и культуры *Anabaena constricta* IPPAS В-2020. При исследовании водных цианобактерий использовали сырую биомассу и культуральную жидкость культуры *Phormidium ramosum* IPPASB-2022, а также водно-спиртовые (50:50) и водные экстракты культуры *Phormidium ramosum* IPPASB-2022 и сообщества №2.

Изучение антиоксидантной активности суспензии и экстрактов трех штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 проводили в 6 вариантах (суспензия, водно-спиртовые экстракты в трёх соотношениях (20:80; 50:50; 80:20), метанольный и гексановый экстракты) с концентрацией 1 мг/мл.

Определение антиоксидантной активности проводили по методу колориметрии свободных радикалов, основанном на реакции DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил ( $C_{18}H_{12}N_5O_6$ ,  $M=394,33$ ), растворенного в метаноле, с образцом антиоксиданта (АН) по схеме (Molyneux, 2004):



В результате восстановления DPPH антиоксидантом снижается пурпурно-синяя окраска DPPH в метаноле, а реакция контролируется по изменению оптической плотности при 517 нм обычными методами спектрофотометрии.

Антиоксидантную активность рассчитывали по формуле:

$$AOA = (D_k - D_{оп} / D_k) * 100\%,$$

где  $D_k$ ,  $D_{оп}$  – оптическая плотность в контрольном и опытном образцах соответственно (Хасанов В.В. с соавт., 2004).

Для приготовления рабочих растворов применяли 96% этиловый спирт. Первоначальная концентрация ДФПГ в реакционной смеси составляла  $7 \times 10^{-5}$  моль/л. 20 мкл различных образцов добавляли в 2 мл раствора ДФПГ. Смесь энергично встряхивали и оставляли на 60 мин. Исследования проводили в трех повторностях. Для расчета антиоксидантной активности высчитывали средние значения оптической плотности.

#### **2.24. Определение антибактериальной активности цианобактерий**

Объектами явились свежеприготовленный водно-спиртовой экстракт культуры *Phormidium ramosum* IPPASB-2022 и экстракт с экспозицией 6 месяцев при температуре 4 °С, сырая биомасса культуры *Phormidium ramosum* IPPASB-2022. Контролем для водно-спиртовых экстрактов являлся водно-спиртовой раствор в соотношении 1:1. Контролем для сырой биомассы являлась

дистиллированная вода.

Для определения антибактериальной активности использовали стандартный метод диффузии в агар на питательной среде МПА (Нетрусов и др., 2005; МУК 4.2.1890-04). Для получения равномерного газона на поверхность агара в чашку наливали 0,2 мл суспензии. Исследованы были три бактериальные культуры: *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*. Одну петлю с колонии бактерий разводили в одном мл физ. раствора. Жидкость равномерно распределяли по поверхности чашки с помощью шпателя. С помощью стерильных дротов делали по пять лунок в каждой чашке Петри, в которые заливали экстракты. Инкубировали посеы при температуре 37 °С в течение трех суток. Для учета результатов определяли диаметр задержки роста, пользуясь миллиметровой линейкой.

### **2.25. Определение колонизирующей способности цианобактерий**

Объектами исследования служили почвенные циано-бактериальное сообщество №2 и № 21, семена растений семейства Пасленовые (*Solanaceae*): томаты сорта «Дар Заволжья» и перец болгарский сорта «Калифорнийское Чудо».

Семена томатов стерилизовали 70% раствором этилового спирта, в течение 5 минут, после чего трехкратно промывали стерильной дистиллированной водой и проращивали в стерильных чашках Петри с фильтровальной бумагой и 10 мл дистиллированной воды при комнатной температуре в течении трех дней. Пророщенные семена выращивали в стерильных условиях по одному в 10 пробирках, заполненных 5 мл 0,1% голодного агара. Предварительно в агар вносили биомассу циано-бактериальных сообществ №2 (в двух вариантах №2 (1) - свежепересеянное и №2 (2) – культивируемое в течение 3 месяцев на среде Громова б) и №21, равномерно распределяя в толще агара. Количество циано-бактериальных сообществ составляло 1г сырой биомассы на 100 мл агара. В сухом виде масса сообществ составляла №21 – 0,020 г, №2 – 0,046 г. Пробирки с проростками культивировали при естественном освещении в комнатной



температуре.

Исследование прикрепления цианобактерий к корням проводили с помощью светового микроскопа Unico G380, фотографировали с помощью программного обеспечения VidCap.

На 30 сутки экспозиции корни длиной 1 см вносили в стерильную дистиллированную воду и помещали на перемешивающее устройство «Экрос» на 1 час при 45 об/мин. После чего повторно исследовали под микроскопом. Далее корни помещали в среду Громова №6 и через 1 месяц проводили количественный учет цианобактерий с помощью измерения коэффициента светопропускания и оптической плотности на спектрофотометре «ПромЭкоЛаб» ПЭ – 5300 при длине волны 625 нм.

## **2.26. Определение влияния пестицидов на цианобактерии**

Для проведения опыта использовали гербицид «Глифос» на основе глифосата, который на первом этапе исследования разводили в соответствии с инструкцией по применению для получения рабочего раствора. В пробирку с 2,5 мл питательной среды ВGN-11 добавляли 1 мл суспензии цианобактерий (в 10 мл дистиллированной воды внесли 0,5 г сырой биомассы сообщества №21) и 1 мл рабочего раствора гербицида. В остальные пробирки с питательной средой добавляли разведения данного рабочего раствора в количестве 1 мл:

- 1:1 – 2,5 мл рабочего раствора и 2,5 мл дистиллированной воды;
- 1:5 – 1 мл рабочего раствора и 4 мл дистиллированной воды;
- 1:10 – 0,5 мл рабочего раствора и 4,5 мл дистиллированной воды;
- 1:100 – 0,5 мл разведения 1:10 и 4,5 мл воды.

На втором этапе рабочий раствор глифоса заменили на его концентрат:

- 1:1 – 2,5 глифоса и 2,5 мл дистиллированной воды;
- 1:5 – 1 мл глифоса и 4 мл дистиллированной воды;
- 1:10 – 0,5 мл глифоса и 4,5 мл дистиллированной воды;
- 1:100 – 0,5 мл разведения 1:10 глифоса (рабочий раствор) и 4,5 мл

ВОДЫ.

Для контроля в пробирку с питательной средой и инокулятом вместо 1 мл элюата добавляли 1 мл дистиллированной воды. Через 38 суток пробирки с образцами взбалтывали, после чего измеряли коэффициент светопропускания на фотоэлектроколориметре AP-101 для определения активизации или подавления роста цианобактерий. Затем рассчитывали оптическую плотность.

Опыт проводили в 2 повторностях.

Образцы с интенсивным ростом циано-бактериального сообщества исследовали микроскопически на выявление морфологических изменений.

### **2.27. Определение ингибирования роста корня редиса штаммами *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883**

Фитотоксичность суспензии и экстрактов (гексанового, метанольного, водно-спиртового (80:20, 50:50, 20:80) отобранных активных штаммов исследовали методом ингибирования роста корня редиса (*Rarhanus sativus*) Хелро при 20 °С в течение 3 суток в двух концентрациях: 0,5 мг/мл и 1 мг/мл (Селивановская, 2011).

Наличие ингибирующего эффекта выявляли, сравнивая всхожесть семян и длину корня в контрольных и опытных вариантах. Контрольные образцы представлены в двух вариантах: контроль №1 – стерильная дистиллированная вода, контроль №2 – стерильная питательная среда (крахмально-казеиновый бульон).

Для проведения биотестирования готовили чашки Петри, на дно которых укладывали круг из фильтровальной бумаги.

В каждую чашку помещали по 20 семян редиса, затем наливали 5 мл суспензии или экстрактов, или контроля. Экспозиция составила 4 суток при 20°С. Затем рассчитывали всхожесть и измеряли длину корешка. Опыт проводили в трех повторностях.

Расчет результатов, по которому определяли ингибирующий эффект, оказываемый элюатом и его разведениями, осуществлялся по формуле:

$I (\%) = 100 - (L_0 - 100 / L_K)$ , где

$I$  - ингибирование, вызываемое присутствием элюата или его разведения;

$L_K$  - средняя длина корня в контроле;

$L_0$  - средняя длина корня в присутствии элюата или его разведения.

## **2.28. Определение активности штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 в отношении вирусных патогенов растений**

### **2.28.1. Создание инфекционного фона для определения противовирусной активности**

Искусственное заражение рассады томата проводили на стадии 3-4 настоящих листьев ВОМ и ВМТо путем нанесения на листовые пластинки инокулюмов, полученных путем растирания пестиком инфицированных фитовирусами растений. Проростки картофеля искусственно заражали на стадии 3-4 настоящих листьев УВК и ХВК. Идентифицированные изоляты вирусов (ВОМ, ВМТо, УВК, ХВК) взяты из коллекции филиала ФГБУ «Россельхозцентр» по Астраханской области.

Обработку растений томата и картофеля суспензиями штаммов *N. umidischolae* RCAM04882, *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04883 проводили двукратно методом опрыскивания через 7 дней после контаминации возбудителями вирусной инфекции. Интервал времени между обработками составил 5 дней. Контрольные растения опрыскивали водопроводной водой. Повторность опыта четырехкратная (по 20 растений в каждом варианте).

Выявление пораженности вирусной инфекцией на томате и идентификация фитовирусов проводилась визуальным, индикаторным и серологическим методами через 3 суток после второй обработки. На картофеле идентификация вирусов проведена аналогичным образом с дополнительным применением метода ПЦР-диагностики.

### 2.28.2. Метод растений-индикаторов

Противовирусную активность суспензий штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 с титром  $10^9$  КОЕ/мл исследовали на рассаде томата (*Solanum lycopersicum*) сорта Новичок и картофеле (*Solanum tuberosum*) сорта Ред Скарлетт в индикаторной лаборатории филиала ФГБУ «Россельхозцентр» по Астраханской области.

Для идентификации вирусной инфекции использовали тестирующий набор растений-индикаторов, включающем виды: *Nicotiana glutinosa* L., *N. sylvestris* Speg.et Comes., *N. rustica* L., *N. tabacum* L.v. Samsun 959, *N. debney* Domin., *Datura stramonium* L., *Gomphrena globosa* L., *Cucurbita digitata* L. (Власов, 1960; Проценко, 1966).

Для индикаторного метода диагностики семена тестирующих растений-индикаторов высевали в горшки диаметром 25-30 см, а затем пикировали по одному в горшки меньшего диаметра (7-12 см). Используемый торф – верховой кипованный (рН=6,8-7,2). Температура воздуха в период выращивания составляла 20-25°C, что являлось оптимальным режимом для индикаторных растений. В осенне-зимний период использовали светоустановки. В течение вегетации за растениями осуществляли агротехнический уход.

Инокуляцию вирусной инфекции осуществляли на стадии 3-4 листьев. Листья образцов растирали пестиком в фарфоровой ступке, предварительно продезинфицированной кипячением в течение 20 минут.

Для более эффективного травмирования листовой поверхности и увеличению, таким образом, попадания возбудителя в растение, в инокулюм или на поверхность листа до заражения абразивных веществ добавляли карборунд. Искусственному заражению подвергались молодые, интенсивно растущие растения. Перед инокуляцией растения затеняли на 24 часа, что способствовало повышению их чувствительности к заражению. В качестве контроля использованы здоровые растения.

Листья натирали фарфоровым пестиком, смоченным в инокулюме. Через несколько минут инокулюм смывали водой из пульверизатора. После

инокуляции растения снова затеняли, чтобы они легче переживали следствие механического травмирования листьев. В дальнейшем растения содержались в летний период при естественном освещении, в осенне-зимний – в светоустановке. Наблюдения за индикаторами начинали через 1-2 дня после заражения и проводили регулярно в течение четырех недель, обращая внимание как на инокулированные листья, так и на молодые, отрастающие вновь. Признаки местной реакции появляются через 3-12 дней после инокуляции, системной реакции – через 7-30 дней.

### **2.28.3. Иммунохроматографический метод на иммунострипах**

Материалом для диагностики вирусов методом ИХА служили иммунострипы (ImmunoStrip Test Kit Flashkits, США), которые состоят из пластины микротитра, пропитанной щелочным ферментом, покрытой с обеих сторон антителами выявляемого возбудителя болезни, и пакета с буфером для экстракции образцов (Гиббс и др., 1978; МУК 4.2.3533-18). Для анализа часть листа (0,15 г.) исследуемого растения помещали в пакет с буфером и разминали его. Иммунострип помещали в пакет, погружая только 0,5 см в буферный раствор с инокулятом до метки «sample» и оставляли на 3-5 минут до появления результата.

Использование иммунострипов позволяет получить практически мгновенный ответ о наличии в растении инфекционного начала, предположенного при визуальном наблюдении. Всё тестирование одного образца занимало 10-15 мин.

### **2.28.4. Метод ПЦР-диагностики в режиме реального времени**

Материалом для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме «реального времени» с использованием микрочипового амплификатора нуклеиновых кислот «АриаДНА» служили пробы ДНК и РНК, полученные из клубней или зеленой массы картофеля (Инструкция..., 2015).

Набор микрочипов «Фитопатогены картофеля. ДНК» предназначен для выявления специфических последовательностей ДНК в геноме *Phytophthora infestans*, *Pectobacterium atrosepticum*, *P. carotovorum* Subsp. *Carotovorum*, *Dickeya dianthicola*, *D. solani*, *Clavibacter michiganensis* Subsp. *Sepedonicus* (CMS) и *Ralstonia solanacearum* методом ПЦР.

Набор микрочипов «Фитопатогены картофеля. РНК» предназначен для выявления специфических последовательностей РНК вирусов ЮБК, ХБК, МБК, АВК, СВК, ВСЛК, вирус метельчатости верхушки (моп-топ), а также вирида методом полимеразной цепной реакции с предшествующей обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме «реального времени» с использованием микрочипового амплификатора нуклеиновых кислот «АриаДНА».

Выделение ДНК из подготовленного материала проводили в соответствии с инструкцией к используемому набору (например, «ДНК-сорб-В», производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора).

Анализ результатов проводили с помощью программного обеспечения микрочипового амплификатора нуклеиновых кислот в режиме реального времени «АриаДНА».

## **2.29. Определение трансформации экзогенных метаболитов (НОС) альго-цианобактериального комплекса в накопительной культуре**

Опытная накопительная культура, полученная на основе речной воды, отобранной в сентябре 2009 года в реке Ахтубе (рукав реки Волги) на территории Астраханской области, культивировалась в лаборатории биотехнологий Астраханского госуниверситета на основе питательной среды ВG<sub>N</sub>11 для цианобактерий. Процентное соотношение речной воды и среды при постановке опыта составило 75% к 25%, соответственно. Культивирование проводили при температуре 22-25 °С и естественном освещении. Для выделения экзометаболитов получали гексановые экстракты, приготовление которых описано выше. При экстракции неполярными растворителями (гексаном,

петролейным эфиром, бензином и т.д.) из растений и водорослей извлекается большая группа веществ, обладающих биологической активностью (Чудина, 2011).

Экстракты сохраняли в морозильной камере до проведения хромато-масс-спектрометрического исследования. В работе приведены данные по трем точкам наблюдений за микроэкосистемой: 1-я проба - постановка накопительной культуры с внесением речной воды и питательной среды; 2-я проба – спустя после 2-х недель культивирования; 3-я проба – после месяца культивирования.

Состав НОС микроводорослей в накопительной культуре выявляли в полученных гексановых экстрактах на хромато-масс-спектрометрическом комплексе TRACE DSQ II (Thermo Electron Corporation) с квадрупольным масс-анализатором. Использовали колонку модели «TRACE TR-5MS GC Column, 15m, 0.25mmID, 0.25µ Film». В качестве газа-носителя служил гелий. Масс-спектры снимали в режиме сканирования по полному диапазону масс (30-580 m/z) в программированном режиме температур (35° - 3 мин, 2 °/мин до 60 ° – 3 мин, 2 °/мин до 80 ° – 3 мин, 4 °/мин до 120 ° – 3 мин, 5 °/мин до 150 ° – 3 мин, 15 °/мин до 240 ° – 10 мин) с последующей пошаговой обработкой хроматограмм. Идентификацию обнаруженных веществ проводили с использованием библиотек масс-спектров «NIST-2005» и «Wiley». Для более точной идентификации применяли индексы Ковача, полученные с использованием стандартов алканов C<sub>7</sub>–C<sub>30</sub>. Количественный анализ выполняли с использованием декафторбензофенона и бензофенона в качестве внутренних стандартов.

Оценку сходства комплексов НОС, выявленных в разные сроки наблюдения проводили с использованием коэффициентов сходства Жаккара (Jaccard, 1901) (1) и Съеренсена-Чекановски (Czekanowski, 1922; Sorensen, 1948) (2).

$$J = \frac{c}{a+b-c} \quad (1); \quad QS = \frac{2c}{a+b} \quad (2),$$

где: c - число общих НОС для проб А и В; b - НОС, присутствующие в

пробе В; а - НОС, присутствующие в пробе А.

В обозначенные выше сроки также проводился микробиологический анализ опытной накопительной культуры, включающий выявление некоторых групп бактерий, микромицетов, а также идентификацию и количественный учет водорослей и цианобактерий. Идентифицировали цианобактерии и водоросли по морфологическим признакам, используя определитель Голлербаха и др. (1953), Андреевой (1975), Вассер (1989), Беяковой (2006). Для выявления и количественного учета эколого-трофических групп микроорганизмов методом предельных разведений проводили посев на плотные питательные среды: ПА (сапротрофы), ПА/10 и ПА/100 (олиготрофы), Гаузе (актиномицеты), Селибера (липолитические) следующего состава (г/л):  $K_2HPO_4$  – 1;  $MgSO_4 \times 7H_2O$  – 0,45;  $CaCl_2 \times 6H_2O$  – 0,15;  $(NH)_2HPO_4$  – 3; NaCl – 0,15; растит. масло ; агар-агар – 20,0; вода дистиллированная - 1000 мл (Теппер, 2004)., Чапека (сахаролитические), «голодный» (для выявления автохтонной микрофлоры).

### **2.30. Определение компонентного состава метаболитов цианобактерий и актиномицетов методами ТСХ и ВЭТСХ**

В опытах с использованием методов ТСХ и ВЭТСХ применяли культуральные жидкости и водно-спиртовые экстракты (50:50) водной цианобактериальной культуры №2 и культуры *Phormidium ramosum* IPPASB-2022; культуральные жидкости почвенных циано-бактериальных сообществ №21, №15, №2, культуры *Anabaena constricta* IPPASB-2020.

Изучение компонентного состава метаболитов суспензии и экстрактов штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 (экстракты с концентрацией 1 мг/мл) проводили в 6 вариантах (суспензия, водно-спиртовые экстракты в трёх соотношениях (20:80; 50:50; 80:20), метанольный и гексановый экстракты) методами ТСХ и ВЭТСХ.

Аналитическую ТСХ проводили с использованием пластин ПТСХ-АФ-А-УФ (10x15 см) марки «Сорбфил» (ООО «ИМИД», Россия) покрытых силикагелем Macherey-Nage. Хроматографирование проводили восходящим



методом (Кирхнер, 1981). Для детектирования после хроматографирования применяли камеру с кристаллическим йодом и облучение ультрафиолетовым светом. Характеристикой каждого вещества при ТСХ служит значение  $R_f$ , которое равно отношению расстояния от стартовой линии до центра зоны вещества к расстоянию от стартовой линии до линии фронта. Значение  $R_f$  – величина постоянная для данного соединения в данной системе и зависит от ряда условий: способа элюирования, качества и активности сорбента, толщины слоя, качества растворителей, количества нанесенного вещества, длины пробега растворителей, положения стартовой линии и почти не зависит от температуры.

Для хроматографирования метаболитов цианобактерий использовали системы растворителей с разной степенью полярности: гексан, этилацетат, гексан : этилацетат (3:1), этанол : вода (1:9), этанол : вода (9:1), этанол : вода (1:1), хлороформ, хлороформ : уксусная кислота (5:2), уксусная кислота, бутанол : уксусная кислота : вода (4:1:5), бутанол, этанол : гексан (1:1), этанол : уксусная кислота (1:1), бензол : метанол : уксусная кислота (45:8:4), бензол : метанол (9:1), бензол, метанол, этилацетат : метанол : вода (16:1:1). Время элюирования составило от 15 до 110 минут.

Для хроматографирования метаболитов актиномицетов использовали 38 систем растворителей (элюирующих систем) с разной степенью полярности: ацетон, бензол, бензол:метанол (1:1), бензол:метанол:уксусная кислота (1:1:1), бутанол, бутанол:уксусная кислота (1:1), бутанол:уксусная кислота:вода (1:1:1), гексан, гексан:этилацетат (1:1), метанол, уксусная кислота, хлороформ, хлороформ:уксусная кислота (9:1), этилацетат, этанол:гексан:этилацетат (1:1:1), этанол:уксусная кислота (1:1), этилацетат:метанол:вода (1:1:1), этилацетат:тетрахлорэтан:вода (1:1:3), этилацетат:метанол (2:1), вода:лимонный натрий:лимонная кислота (2:1:5), бутанол:вода:этанол (4:2:1), бутанол:метанол (1:1), этанол:вода (4:1), этанол:вода (2:8), этанол:вода (5:5), этанол:вода (8:2), метанол:бензол:хлороформ (4:2:1), хлороформ:этилацетат (1:2), бензол:метанол (3:1), пропанол:этилацетат:вода (5:1:3), хлороформ:метанол (1:1), пропанол:уксусная кислота:вода (3:3:2), ацетонитрил, ацетонитрил:вода (2:2),

изопропиловый спирт, этанол:вода (7:3), хлороформ:метанол (9:1), хлороформ:метанол (95:5).

После разделения анализируемой смеси элюирование прекращали и проводили определение вещества в хроматографических зонах. Для этого пластины облучали ультрафиолетовым светом, а затем помещали в камеру с кристаллическим йодом с сорбентом.

Анализ метаболитов цианобактерий и актиномицетов методом ВЭТСХ проводили в НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИГенетика с использованием пластинок «Sorbfil» ПТСХ-П-В-УФ. В качестве элюирующей системы применяли: этилацетат : бутанол : муравьиная кислота : вода в соотношении 25:15:5:5. Проявление хроматограмм осуществляли с помощью паров йода. В качестве веществ сравнения использовались ГСО рутина и кверцетин (Фогт и др., 2008). Для количественной обработки хроматограммы использовали автохроматограф GAMAG TLS Sampter 4 (ATS4). Количественную обработку полученных результатов проводили на компьютере с использованием программы winCATS.

### **2.31. Определение синтезируемых органических кислот цианобактерий и актиномицетов методом ВЭЖХ**

Определение органических кислот проводили в водно-спиртовых экстрактах (50/50, 80/20, 20/80) сухой биомассы почвенных цианобактериальных сообществ №2 и №21, водно-спиртовых экстрактов (80/20, 20/80) культуры *Anabaena constricta* IPPASB-2020.

Исследование водно-спиртовых экстрактов (50:50) водного цианобактериального сообщества №2 и культуры *Phormidium ramosum* IPPAS B-2022 проводили также методом ВЭЖХ.

Изучение органических кислот суспензии и экстрактов штаммов *S. carpathicus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 (экстракты с концентрацией 1 мг/мл) проводили в 6 вариантах (суспензия, водно-спиртовые экстракты в трёх соотношениях (20:80; 50:50;

80:20), метанольный и гексановый экстракты) методом ВЭЖХ.

Определение органических кислот в водно-спиртовых экстрактах проводили в НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИГенетика с использованием анионообменных колонок и супрессионной системы с кондуктометрическим детектированием. Для определения органических кислот использовали жидкостной хроматограф Waters – Alliance 2695 с диодно-матричным детектором Waters 2996 при длине волны 220 нм.

### **2.32. Методы исследования биологически активных веществ биомассы цианобактерий**

Содержание аскорбиновой кислоты, глюкозы, фосфора, азота определяли в биомассе почвенных циано-бактериальных сообществ №2, №15, №11, №21.

Определение аскорбиновой кислоты в биомассе цианобактерий проводили титрованием краской Тильманса (Широков, 1964)

Расчет аскорбиновой кислоты рассчитывали по формуле:  $\text{мг, \%} = T \times a$ , где T – титр 2,6 – дихлорфенолиндофенола; a – количество краски, затраченной на титрование.

Глюкоза количественно окисляется йодом в щелочной среде (Широков, 1964). Избыток йода титровали 0,1 N раствором гипосульфита в присутствии индикатора - 1%-ного раствора крахмала. По количеству йода, израсходованного при реакции, вычисляли соответствующее ему количество глюкозы.

Содержание фосфора в биомассе определяли фотометрическим ванадиевомолибдатным методом (ГОСТ 26657-85). Сущность метода заключается в способности ортофосфорной кислоты в кислой среде в присутствии ванадат- и молибдатионов образовывать фосфорно ванадиевомолибдатную гетерополикислоту желтого цвета. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию фосфора в растворе.

Содержание азота определяли фотоколориметрическим методом с использованием реакции индофенольной зелени. Определение азота в растворах после мокрого озоления растительных материалов основано на использовании

фотоколориметрического метода, при котором ион аммония окисляется хлором до хлорамина, образуя с салицилатом натрия окрашенное индофенольное соединение с максимумом светопоглощения около 655 нм.

### **2.33. Спектрофотометрический анализ цианобактерий**

Спектрофотометрический анализ проводили на спектрофотометре Промэколаб ПЭ-5300В. Объектом исследования являлись культуральные жидкости циано-бактериальных сообществ № 2, №15, №11, №21. Анализ проводили при длинах волн от 312 до 1000 нм, с шагом через 50 нм. Перед тем как провести анализ, профильтровывали культуральную жидкость через четыре слоя бумажного фильтра. В кювету наливали по 2 мл жидкости.

### **2.34. Газохроматографическое определение активных метаболитов (НОС) цианобактерий**

Объектом для хроматографического исследования выбрано циано-бактериальное сообщество № 21, так как в лабораторных исследованиях оно показало высокую антифунгальную активность.

Гексановый экстракт (приготовление описано выше) исследовали методом газовой хроматографии и масс-спектрофотометрии (ГХ/МС) (Herbert C.G. et al., 2003) на хромато-масс-спектрометре Shimadzu GC/MS (модели QP-5050A, Shimadzu, Япония). Использовали колонку типа DBI, 30 м; 0,53мм (идентификатор) и 1,5 мкм толщину пленки (J&W, США). В качестве подвижной фазы использовали газ-носитель — гелий. Использовали следующий режим программирования температуры: температура колонки составляла 50°C (удерживается 1 мин), затем градиентный подъем температуры 10°C/мин до 100°C (удерживается 1 мин), затем градиентный подъем температуры со скоростью 5°C/мин до 250°C, (удерживается 5 мин), затем градиентный подъем со скоростью 5°C/мин до 270°C (удерживается 2 мин) и градиентный подъем со скоростью 3,5°C/мин до 280°C (удерживается 1 мин). Температура детектора и инжектора 250°C и 280°C соответственно. Вводимый объем пробы 2 мкл с

расходом 20 мл/мин. Идентификацию обнаруженных веществ проводили с использованием библиотек масс-спектров «NIST-2005» и «Wiley».

### **2.35. Установление основных групп веществ метаболитов штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 методом качественных реакций**

Определение флавоноидов, алколоидов, гликозидов и сапонинов суспензии и экстрактов бактерий проводили методом качественных реакций (Астафьева и др., 2015).

Флавоноиды изучали реакцией с раствором аммиака: к 1 мл фильтрата добавляли 3-5 капель раствора аммиака. Так, флавоны, флаванолы, флаваноны приобретают желтое окрашивание, при нагревании переходящее в оранжевое или красное; халконы и ауроны – оранжевое или красное; антоцианы - синее или фиолетовое.

Реакцией осаждения Вагнера-Бушарда определяли наличие алкалоидов: в пробирку с 2 мл экстракта добавляли 3-5 капель реактива Вагнера-Бушарда. Кроме того, данную группу веществ исследовали реакцией Марки: к 2 мл экстракта добавляли 3-5 капель реактива Марки (серная кислота + формалин 40%-ный в соотношении 25:1). В результате данных опытов алкалоиды выпадали в бурый осадок.

Гликозиды исследовали реакцией Келлер-Килиани на углеводную часть молекулы следующим образом: готовили 2 раствора - в первую пробирку наливали 1 – 2 мл ледяной уксусной кислоты, во вторую - 1 – 2 мл концентрированной серной кислоты. В первую пробирку добавляли 1 мл исследуемого экстракта. Затем из первой пробирки осторожно по стенке приливали раствор во вторую пробирку. При наличии гликозидов на границе двух слоев появлялось бурое, темно-бурое окрашивание, сверху окрашенной полосы постепенно возникал сине-зеленый или зеленый слой.

Реакцией пенообразования (модификация физического метода)

анализировали присутствие сапонинов. Экстракт (водный) встряхивали в пробирке в течение 15 секунд. Не исчезающая в течение 15 минут пена говорит о возможном присутствии сапонинов.

### **2.36. Газохроматографическое определение активных метаболитов (НОС) штамма *S. carpaticus* RCAM04697**

Качественный и количественный состав низкомолекулярных органических соединений (НОС) суспензии и гексанового, водно-спиртового (50:50), метанольного экстрактов штамма *S. carpaticus* RCAM04697 исследовали методом ГХ/МС на газовом хромато-масс-спектрометре SHIMADZU GCMS-QP2010 Ultra в лаборатории гидробиологии ФГБУН Института озераведения РАН. Использовали неполярную колонку МТХ-1; 30 м; 0,25 мм; 0,25 мкм. В качестве газа-носителя служил гелий.

Масс-спектры снимали в режиме сканирования по полному диапазону масс (30-1090 m/z) в программированном режиме температур (35° – 3 мин, 2°/мин до 60° – 3 мин, 2°/мин до 80° – 3 мин, 4°/мин до 120° – 3 мин, 5°/мин до 150° – 3 мин, 15°/мин до 240° – 10 мин) с последующей пошаговой обработкой хроматограмм.

Идентификацию выявленных НОС проводили с использованием библиотек масс-спектров «NIST-2014» и «Wiley» (<https://www.nist.gov/news-events/news/2014/07/latest-nist-mass-spectral-library-expanded-coverage-features>; Willey et al., 2011). Количественный анализ выполняли с использованием декафторбензофенона и бензофенона в качестве внутренних стандартов.

### **2.37. Методы определения эффективности применения цианобактерии в биодеградационных компонентах высокоминерализованных загрязненных вод**

Для исследования биодеградационных сточных вод после посола рыбы использовали водные циано-бактериальные сообщества №1, №2 и культуру *Phormidium ramosum* IPPASB-2022, культивируемые на среде BG<sub>N</sub>-11 с соленостью 5-10 %.

Для проведения опыта отбирали сточную вода (тузлук) после посола нескольких видов частиков рыб: сазан (*Cyprinus carpio*), обыкновенный судак (*Sander lucioperca*) и щука (*Esox lucius*), с 25%-ной концентрацией соли. Такие сточные воды, как правило, имеют в своем составе высокую концентрацию твердых частиц, большое количество органических веществ, повышенную концентрацию солей (хлорид натрия), высокие значения масел, жиров и белков.

Для выявления эффективности биодеградации органических веществ сточных вод цианобактериями был поставлен эксперимент, состоявший из четырех проб:

1. контрольная сточная вода (без внесения цианобактерий);
2. сточная вода с внесенным водным циано-бактериальным сообществом №1;
3. сточная вода с внесенным водным циано-бактериальным сообществом №2;
4. сточная вода с внесенной чистой культурой *Phormidium ramosum* IPPAS В-2022.

Экспозиция составила 5 месяцев.

### **2.37.1. Методы определения физических показателей воды при биодеградации**

Качественное определение запаха (характер запаха) проводили при комнатной температуре, покрытой часовым стеклом. Естественный запах определяли, используя следующую классификацию (Шалбуев, 2006):

- А - ароматический-огуречный, цветочный;
- Б – болотный, илистый, тинистый;
- Г – гнилостный, фекальный, сточный;
- Д – древесный, запаха мокрой щепы, древесной коры;
- З – землистый, прелый, свежевспаханной земли;
- П – плесневый, затхлый, застойный;
- Р – рыбий, рыбьего жира, рыбы;
- С – сероводородный, тухлых яиц;
- Т – травянистый, скошенной травы, сена;

H – неопределенный, запахи естественного происхождения.

Интенсивность запаха определяли по пятибальной шкале (Шалбуев, 2006): 0 – запаха нет; 1 – очень слабый; 2 – слабый; 3 – заметный; 4 – отчетливый; 5 – очень сильный.

При определении цвета сточной воды использовали визуальный метод, при котором пробу сточной воды не консервировали. Определение проводили через два часа после ее отбора. На белый лист бумаги поместили цилиндр (диаметром 20-25 мм) из бесцветного стекла и влили в него исследуемую сточную воду (высота слоя 10 см), предварительно профильтрованную, так как в ней наблюдались примеси и осадок (Шаов и др., 2003).

Мутность воды определяли спектрофотометрическим методом. Исследуемую воду предварительно отфильтровали, отбросив первые порции фильтрата. Светопропускание фильтрата измеряли в кюветах с толщиной слоя 10 мм, применяя в качестве раствора сравнения дистиллированную воду. Измеряли оптическую плотность сточной воды при различных длинах волн поглощенного света: 600, 540, 510, 460, 420 нм. Длина волны света, максимально поглощаемого водой, является характеристикой ее цвета.

### **2.37.2. Методы определения химических показателей воды при биодegradации**

pH воды определяли на pH-метре-иономере «Эксперт-001».

Пенистость определяли по следующей методике (Шаов и др., 2003): пробирку наполняли водой до 3/4 части, добавляли 2 капли 0,1%-ного раствора метилового синего и подвергали энергичному взбалтыванию в горизонтальном направлении, наблюдая меру пенообразования и ее устойчивость:

а) если пена исчезает в течение 1-2 сек., тогда явление не называется вспениванием, и сточная вода в этом случае не содержит органических загрязнений;

б) если после 10 минутного взбалтывания пена сохраняется максимум до 30 сек., тогда сточная вода содержит малое количество органических веществ;



в) если пена устойчива в течение 3-10 минут, тогда при взбалтывании воды наблюдается среднее пенообразование: в этом случае вода содержит среднее количество органических веществ;

г) если пена устойчива в течение нескольких часов, тогда вода при взбалтывании сильно вспенивается, содержит большое количество органических веществ.

Сухой остаток определяли методом выпаривания на водяной бане. Остаток высушивали до постоянного веса при температуре  $105^{\circ}\text{C}$ , охлаждали в эксикаторе и взвешивали (Шаов А.Х. и др., 2003). Чашку с сухим остатком прокаливали в тигельной печи при температуре  $600^{\circ}\text{C}$  до постоянного веса (приблизительно 1-2 часа). Оттоженный остаток охлаждали в эксикаторе, затем взвешивали. Вычисляли сухой остаток.

## **2.38. Определение физиологических групп микроорганизмов-спутников в составе циано-бактериальных сообществ, участвующих в биодegradации**

### **2.38.1. Методы исследования гетеротрофных спутников**

Количество и состав микроорганизмов - спутников изучали в водных циано-бактериальных сообществах №1 и №2, описанных выше.

Для приготовления посевного материала брали 1 г тьжа циано-бактериального сообщества, взвешивали, разделяли препаративными иглами на мелкие фрагменты и добавляли к 9 мл стерильной воды. Готовили четыре последовательных разведения, 1 мл которых использовали для посева. При глубинном посеве на вышеприведенные среды использовали  $10^{-3}$  и  $10^{-4}$  разведения.

Для исследования гетеротрофных микроорганизмов-спутников циано-бактериальных сообществ использовали среды МПА и рыбный агар (РА) на основе кильки для выделения сапротрофов, среды МПА/10, МПА/100 и голодный агар для выделения олиготрофов, среду Гаузе и среду Чапека для выделения амилолитических и сахаролитических микроорганизмов, соответственно. Среды готовили с соленостью 8%.

Актиномицеты выделяли на среде Гаузе (Теппер, 2004).

Для выделения олиготрофов использовали среды МПА, МПА/10, МПА/100, голодный агар. Сапротрофов выделяли на агаризованной среде, субстратом которой выступала рыба: 200 г сырой кильки растираются в ступке, заливали 0,5 л дистиллированной воды. Раствор взбалтывали 20 минут, сутки держали при температуре 4 °С, затем фильтровали через бумажный фильтр. Доводили дистиллированной воды до 1 л и добавляли 15 г агар-агара.

### **2.38.2. Методы исследования спутников, участвующих в круговороте азота**

Численность физиологических<sub>2</sub> групп круговорота азота в циано-бактериальных сообществах определяли с помощью метода предельных разведений и посева на плотные и жидкие питательные среды с последующим определением наиболее вероятного количества клеток по таблице Мак-Креди, разработанной на основании методов вариационной статистики (Родина, 1965; Антипчук, 1979; Егоров, 1983; Методы общей бактериологии, 1983; Теппер и др., 1993).

Нитрифицирующие бактерии, окисляющие аммиак, выделяли на основе среды Виноградского для двух фаз (Кузнецов, Дубинина, 1989). С каждого разведения производили посев в колбы со средой Виноградского в трех модификациях: 3 %, 5 % и 8 % NaCl. Присутствие нитратов в среде определяли с помощью серной кислоты и дифениламина. Реакцию на нитриты проводили с реактивом Грисса.

Аммонифицирующие бактерии выращивали на основе мясопептонного бульона (МПБ) в трех модификациях: с добавлением 3 %, 5 % и 8 % NaCl (Егоров, 1976). О развитии бактерий судили по помутнению среды, образованию в ней хлопьев и осадка, наличию пленки на поверхности. В пробирки помещали лакмусовую и сероводородную полоски для индикации выделяемых в процессе аммиака и сероводорода. Пробирки плотно закрывались пробками.

Процесс денитрификации изучали на среде Гильтая (Егоров, 1995) с концентрацией NaCl 3 %, 5 % и 8 %, высевая все 4 разведения. Оценивали помутнение, хлопья, осадок, наличие CO<sub>2</sub> и N<sub>2</sub>.

Для выделения азотфиксирующих бактерий использовали среду Эшби, (Теппер и др., 1993). С каждого разведения высевали по 1 мл на среду Эшби.

### **2.38.3. Методы выделения спутников на модифицированных средах**

Для получения микроорганизмов-спутников циано-бактериальных сообществ, деструктирующих органические соединения воды после посола рыбы, создавали накопительные культуры на основе среды BG<sub>N</sub>-11 с соленостью 3%, 5%, 8% и добавлением питательного агара (ПА), рыбьего жира и органического субстрата (килька).

Засеянные колбы выдерживали при умеренной температуре 20-25 °С от нескольких дней до 2-3 месяцев, отмечая появление визуально заметных признаков роста: тип обрастаний (налет, пленка, слой, корка, нарост, бахрома, пряди, космы), характер обрастаний (слизистый, рыхлый, плотный, кожистый, губкообразный, грубый, тонкий, толстый, ватообразный, грубый), цвет обростов, геометрия распределения.

Для выделения микроорганизмов-спутников циано-бактериальных сообществ высевали глубинным методом 1 г измельченного циано-бактериального мата на твердые питательные среды состава, аналогичного средам культивирования с добавлением ПА в количестве 3,5 г/л, жира в количестве 28 г/л и раствора органического субстрата соответственно. Идентификацию бактерий проводили с учетом морфологических, культуральных и физиолого- биохимических признаков по общепринятым стандартам (Берджи, 1997; Bergey' s Manual..., 1984). Микроскопирование клеток проводили с использованием бинокулярного микроскопа Unico G 380, визуализатором и фотоаппаратом.

### **2.38.4. Определение протеолитической и липолитической активностей**

## **микроорганизмов**

Для выявления протеолитической способности использовали молочный агар - среду, состоящую из равных частей стерильного обезжиренного молока и стерильного водного агара (3 %). Жиры, которые образуют на поверхности молока достаточно плотную пленку, удаляли, а молоко стерилизовали при 0,5 атмосферах. После стерилизации его подогревали и добавляли при постоянном помешивании к стерильному расплавленному и остуженному до 50 °С водному агару. Полученную среду разливали в чашки Петри. Микроорганизмы высевали штрихом по диаметру чашки. Продолжительность культивирования 2-10 суток. Гидролиз казеина обнаруживали по зоне просветления среды вокруг колоний или выросших по штриху микроорганизмов. Особенно четко она видна после обработки среды 5 % раствором трихлоруксусной кислоты. Зону гидролиза отмечали в баллах.

Для выявления липолитической активности посев микроорганизмов проводили на среду Селибера с добавлением жирных кислот. На поверхность агаровой пластинки высевали штрихом исследуемый микроорганизм. На наличие липазы указывает образование вокруг штриха или колонии непрозрачной зоны кальциевых солей жирных кислот.

### **2.39. Методы получения и применения экспериментальных образцов препаратов на основе цианобактерий и актиномицетов**

#### **2.39.1. Разработка технологии получения и применения экспериментальных образцов на основе *Anabaena constricta* IPPASB-2020**

Оптимизацию условий культивирования проводили в вихревом биореакторе БИОК-022 с контроллером (ЗАО «Саяны», Россия), имеющим рабочий объем 5 л, с использованием подобранной питательной среды BG-11. Посевной материал для биореактора получали в конических колбах объемом 0,5 л, засевая тяжами цианобактерий среду BG-11, культивируемые в течение 14 дней. Посевной материал вносили в количестве 20 % от ее общего объема.

Процесс выращивания культуры в биореакторе вели при соблюдении

следующих условий:

- температура культивирования  $(28 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ;
- непрерывная работа шейкера при скорости перемешивания 60 об/мин при показателе  $p\text{O}_2$  (не ниже 20%);
- pH – 7,1-7,3;
- освещение – 4000 кельвин.

Для стерилизации питательной среды и других жидкостей использовали стерилизатор паровой настольный с автоматическим управлением процесса стерилизации ГК-10-2 (ОАО «ТЗМОИ», Россия). Отбирали промежуточные и заключительные пробы для микроскопирования препаратов, измерения pH, оптической плотности.

Через 5 суток проводили высушивание биомассы при  $37 ^\circ\text{C}$ . Сухую биомассу в количестве 5 гр разводили в 1 водопроводной воды и обрабатывали растения.

### **2.39.2. Периодическое культивирование штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 в биореакторе с целью получения биомассы и антимикробных метаболитов**

Оценку продуктивности клеток штаммов RCAM04697, RCAM04882, RCAM04883 осуществляли при культивировании на крахмально-казеиновой среде, среде Гаузе №2, картофельной среде (Гаузе и др., 1983). Режим культивирования: температура плюс  $28^\circ\text{C}$ , время 72 часа при непрерывном перемешивании на шейкере (120 об/мин). Концентрацию клеток оценивали путем посева суспензии на аналогичные плотные питательные среды (Звягинцев, 1991; Нетрусов и др., 2005) и определения оптической плотности при длине волны 340 нм (Астафьева и др., 2015).

Оптимизацию условий культивирования проводили в вихревом биореакторе БИОК-022 с контроллером (ЗАО «Саяны», Россия), имеющим рабочий объем 5 л, с использованием подобранной питательной среды (картофельный отвар). Посевной материал для биореактора получали во

встряхиваемых колбах объемом 0,75 л со 100 мл среды. Для засева колб использовали бактериальные суспензии трехсуточных культур *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883, смытые с чашек Петри из расчета начальной оптической плотности в колбах  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/мл по стандарту мутности МакФарланд. Процесс выращивания культуры в биореакторе вели при соблюдении следующих условий:

- температура культивирования  $(28 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ;
  - непрерывная работа шейкера при скорости перемешивания 120 об/мин при показателе  $p\text{O}_2$  (не ниже 20%);
  - давление воздуха в биореакторе 0,04-0,05 МПа;
  - удельный расход воздуха в минуту 1,0-1,5 л/л среды.
- , подсчета концентрации клеток методом предельных разведений.

Из контрольно-измерительных приборов использовали датчики pH и  $p\text{O}_2$ , спектрофотометр ПЭ-5400В (ООО «ПромЭкоЛаб», Россия), весы лабораторные электронные ВЛТЭ-150 (ФГУП СПб Завод «Госметр», Россия), термометры. Для стерилизации питательной среды и других жидкостей использовали стерилизатор паровой настольный с автоматическим управлением процесса стерилизации ГК-10-2 (ОАО «ТЗМОИ», Россия).

### **2.39.3. Методы получения экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883**

Экспериментальные образцы биопрепаратов для полевых испытаний готовили путем добавления в качестве загустителя к трехсуточным суспензиям штаммов (каждый по отдельности) *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 (живые клетки, споры и продукты метаболизма) с титром клеток  $10^9$  КОЕ/мл карбоксиметилцеллюлозы в количестве 1%.

В результате получали концентрированные экспериментальные образцы биопрепаратов.

## 2.40. Методы изучения безопасности цианобактерий и актиномицетов

### 2.40.1. Оценка безвредности цианобактерий и актиномицетов в отношении дафний

Безвредность штаммов для животных проверяли в экспериментах *in vivo* на дафниях (*Daphnia magna* Straus) (Селивановская и др., 2011).

Определение токсичности с использованием *D. magna* Straus проводили в инкубационных стаканах. Гибель особей фиксировали визуально.

Для исследования использовали 50-миллиметровые стаканы, в которые добавляли по 20 мл тестируемого вещества (по вариантам): суспензий штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 и их разведений (0,25%; 0,5%; 0,1%; 2%; 3%; 4%; 5%; 10%), водопроводной воды (контроль №1); стерильной картофельной среды (контроль №2).

В экспериментах с цианобактериями использовали: суспензию (5 гр сухой биомассы в 1 литре воды), суспензию с водопроводной водой 1:1, суспензию с водопроводной водой 1:1, водопроводную воду (контроль №1); стерильную среду BG-11 (контроль №2).

В данные сосуды помещали по 5 рачков в возрасте 6-24 часов. В течение эксперимента кормления дафний не производили. Через 24 и 48 часов инкубирования (при комнатной температуре) визуально определяли количество погибших особей. Опыт поставлен в трехкратной повторности.

Определение ингибирующего эффекта, оказываемого суспензиями штаммов и их разведениями проводили согласно формуле:

$$I (\%) = (N_{к, \text{исх}} - N_{к, \text{гиб}}) * 100 : (N_{о, \text{исх}} - N_{о, \text{выж}}), \text{ где}$$

I - ингибирование, вызываемое присутствием элюата или его разведения;

$N_{к, \text{исх}}$  - исходное количество особей в контроле;

$N_{к, \text{гиб}}$  - количество погибших особей в контроле;

$N_{о, \text{исх}}$  - исходное количество особей в присутствии элюата или его разведения;

$N_{о, \text{выж}}$  - количество погибших особей в присутствии элюата или его

разведения.

#### 2.40.2. Методы изучения патогенности штамма *S. carpaticus*

##### RCAM04697

При изучении патогенности определяли вирулентность, диссеминацию, токсичность, токсигенность на белых крысах и белых мышах (МУ 2620 – 82). Животные в новых условиях до начала эксперимента проходили адаптацию не менее 14 дней.

Во время эксперимента животных содержали в контролируемых условиях: при температуре окружающего воздуха  $22 \pm 2$  °С, относительной влажности  $65 \pm 5\%$ . Для размещения применяли клетки, оборудованные стальными решетчатыми крышками с кормовым углублением. В качестве подстилочного материала использовали древесные опилки. Содержание животных и проведение экспериментов соответствовало Принципам надлежащей лабораторной практики (ГОСТ 33044 -2014).

Вирулентность изучали при однократном внутрижелудочном и внутрибрюшинном введении суспензии клеток *S. carpaticus* RCAM04697 в физиологическом растворе. Белым крысам и белым мышам внутрибрюшинно вводили по  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$ ; внутрижелудочно - по  $10^7$ ,  $10^8$ ,  $10^9$  клеток на животное. Контрольным животным вводили стерильный физиологический раствор. В опыте использовали по 6 животных на дозу при каждом введении.

Для изучения диссеминации через 30 суток после внутрижелудочного и внутрибрюшинного введения белым мышам бактериальной суспензии в тех же дозах, что при изучении вирулентности, делали посев методом отпечатков срезов внутренних органов животных (сердца, легких, печени, почек и селезенки) на соответствующие плотные питательные среды.

При изучении токсичности суспензию клеток *S. carpaticus* RCAM04697 нагревали при 80°С в течение 30 минут. Прогретую суспензию внутрибрюшинно вводили мышам по  $10^7$ ,  $10^8$  и  $10^9$  клеток на животного (по 6 особей на дозу). Контрольным животным вводили стерильный физиологический раствор. В



течение срока наблюдения - 15 суток - гибели мышей не было.

Токсигенность изучали на беспородных белых мышах при внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении фильтратов 3-х и 7-ми суточных культуральных жидкостей. Фильтрат 3-х суточной культуральной жидкости вводили внутрижелудочно в 3-х дозах при максимальной 2,1 мл; внутрибрюшинно — в 3-х дозах при максимальной 1,6 мл. Фильтрат 7-ми суточной культуральной жидкости — внутрижелудочно в 3-х дозах, максимальная 1,9 мл; внутрибрюшинно — в 3-х дозах, максимальная 1,4 мл. Когда вводимый объем превышал 1,0 мл, дозу делили пополам и вводили в 2 приема с интервалом в 4 часа. Контрольным животным вводили стерильную питательную среду в таких же объемах. В опыте использовали по 6 животных на дозу при каждом введении. Срок наблюдения составил 5 суток.

#### **2.41. Методики полевых экспериментов по проверке эффективности экспериментальных образцов биопрепаратов на основе цианобактерий и актиномицетов**

##### **2.41.1. Методы химического и микробиологического исследования почв**

Отбор почвенных образцов для химического, микробиологического анализа проводили согласно ГОСТ 17.4.4.02-2017. Химический анализ почвенных образцов с территорий деляночных полевых испытаний проводили традиционными методами анализа почв (Теория и практика..., 2006).

Для выявления и количественного учета эколого-трофических групп микроорганизмов, включая агрономически ценные формы (азотфиксаторы, целлюлозоразрушающие, аммонификаторы (сапротрофы) и др.), методом предельных разведений проводили посев на плотные питательные среды: ГРМ (сапротрофы), ГРМ/10 (олиготрофы), Гаузе (актиномицеты), агар Эшби (азотфиксирующая микрофлора), Селибера (липолитические), Чапека (сахаролитические), «голодный» агар (для выявления аборигенной микрофлоры).

## 2.41.2. Методика полевых испытаний по влиянию цианобактерий на развитие хлопчатника (семейство Мальвовые)

Для исследования влияния цианобактерий на развитие сельскохозяйственных культур семейства Malvaceae, на примере хлопчатника сорта АС 1, проведен полевой эксперимент на территории Всероссийского научно-исследовательского института орошаемого овощеводства и бахчеводства ГНУ ВНИИОБ с 13 мая по 22 сентября 2013 года.

Перед высадкой в грунт семена замачивали в течение 2 часов в бактериальных суспензиях и растворах фитостимулирующих препаратов в лабораторных условиях. Закладку опыта осуществили методом организованных повторений с разбросным способом их размещения (Доспехов, 1985). Перед высадкой в грунт, территорию разделяли на гряды шириной 20 см длиной 5 метров.

Эксперимент проводили в 2 вариантах, которые отличались количеством обработок. В первом варианте обработка проводилась 1 раз на стадии 4-6 листа, во втором варианте - 2 раза – на стадии 4-6 листа, бутонизации и цветения. В лунку высаживали по 2 семени. Каждый вариант был выполнен в трех повторностях. Итого в эксперименте было задействовано по 600 семян на каждый вид обрабатываемого материала. В ходе эксперимента, семена и побеги обрабатывали пятью различными фитостимулирующими объектами:

1. почвенное циано-бактериальное сообщество №2 в концентрации 0,5 г на 10 мл;
2. бактерии *Bacillus megaterium* в концентрации  $10^7$  кл/мл;
3. эпибрасинолид (эпин), в концентрации  $10^{-7}$ ;
4. химическое минеральное удобрение Амофоска, в концентрации рабочего раствора;
5. контроль - дистиллированная вода.

За время опыта, проводили оценку всхожести семян (ГОСТ 21820,1-76). На стадии 4-6 настоящих листов измеряли количество листьев и высоту растений.

14 июня провели первый пролив. Циано-бактериальное сообщество

использовали в концентрации 0,5 г биомассы на 10 мл раствора. Пролив осуществляли под корень, по 5 мл каждого раствора (циано-бактериальное сообщество, бактерии *Bacillus megaterium*, минеральное удобрение Амофоска). Эпибрассинолид распыляли по поверхности растений (5 мл на одно растение). Контроль проливали дистиллированной водой.

На стадии бутонизации 09 июля 2013 года провели второй пролив на 2 участке. Пролив осуществляли под корень каждого растения, из расчета по 10 мл раствора на одно растение. 16 июля 2013 года был проведен второй замер морфометрических показателей

Для определения высоты растений, длины корня использовали линейку. Конец линейки устанавливали на поверхность почвы, длину стебля измеряли от поверхности почвы до макушки растения. В результате высчитывали среднюю высоту растений. Количество листьев на растении определяли путём их подсчёта на всех растениях, с последующим выведением среднего арифметического. Площадь листовой поверхности определяли расчетно-математическим методом (Лакин, 1990).

Массу листьев определяли взвешиванием на электронных весах ВЛТЭ-150 (ФГУП СПб Завод «Госметр», Россия). В период бутонизации высчитывали количество красных и зеленых бутонов, в период цветения – количество цветков. Массу урожая подсчитывали в конце вегетационного периода. С десяти растений каждого варианта собирали по 5 коробочек и взвешивали.

Полученные результаты обрабатывались общепринятыми методами математической статистики с помощью программ Excel и Biostat (Доспехов, 1985; Лакин, 1990).

### **2.41.3. Методика полевых испытаний по влиянию цианобактерий на развитие перца (семейство Пасленовые)**

Опыты проводили в открытом грунте на территории технопарка Астраханского государственного университета п. Начало Астраханской области на семенах перца сорта «Калифорнийское чудо».

Растения высаживали на 3-рядовых делянках. Расстояние между растениями 40 см. В каждом варианте высаживали 50 растений в трехкратной повторности. Продолжительность опыта - 4 месяца. Схема опыта включала варианты: двукратная обработка цианобактериями – бактеризация семян и пролив в фазу 2-4 настоящего листа (без внесения удобрений); контроль – без внесения удобрений. Значение температуры в течение опыта составило от 10 до 40 °С.

Для обработки семян и растений перца использовали культуру цианобактерий *Anabaena constricta* IPPAS В-2020 в виде суспензии (5 гр абсолютно сухой биомассы цианобактерий на 1 л стерильной дистиллированной воды). Перед посевом проводили бактеризацию семян, которые выдерживали в течение 1 часа в суспензии с цианобактериями, а контрольные семена - в воде. В течение опыта на стадии плодоношения измеряли длину корня, высоту растений, массу одного плода, количество плодов и урожайность.

Количество микромицетов рода *Fusarium* в почве определяли высевом почвенных разведений на бобовый агар и микроскопированием (Теппер, 2004).

#### **2.41.4. Методика полевых испытаний по влиянию цианобактерий на развитие томатов (семейство Пасленовые)**

Опыты проводили в открытом грунте на территории ФГБНУ ВНИИОБ г. Камызяк Астраханской области на семенах томатов сорта «Дар Заволжья». Растения высаживали в ряды – 10 растений /ряд, расстояние между рядками – 40 см. Расстояние между растениями 40 см. В каждом варианте высаживали 50 растений в трехкратной повторности. Продолжительность опыта 3 месяца. Схема опыта включала варианты: трехкратная обработка цианобактериями – бактеризация семян, пролив в фазу 2-4 настоящего листа, пролив в фазу цветения и бутонизации растений (без внесения удобрений); контроль – без внесения удобрений. Значение температуры в течение опыта составило от 10 до 40 °С.

Перед посевом проводили бактеризацию семян томатов, которые

выдерживали в течение 1 часа в суспензии с цианобактериями, а контрольные семена - в водопроводной воде. Для получения суспензии 5 гр абсолютно сухой биомассы культуры цианобактерий *Anabaena constricta* IPPAS В-2020 вносили в 1 л стерильной дистиллированной воды, тщательно перемешивали. В фазу 2-4 настоящего листа и в фазу цветения и бутонизации растений, осуществляли пролив под корень в количестве 10-15 мл суспензии на одно растение.

Количество микромицетов рода *Fusarium* в почве определяли высевом почвенных разведений на бобовый агар и микроскопированием (Теппер, 2004).

#### **2.41.5. Деляночные полевые испытания экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 на томате**

Полевые испытания экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 проводили на базе филиала ФГБУ «Россельхозцентр» по Астраханской области (г. Астрахань) и ИП ГКФХ Умхаджиев Саид Лом-Алиевич (Астраханская область, Енотаевский район, с. Михайловка).

Во всех деляночных полевых испытаниях использовали основные методики и схемы, общепринятые в селекционных и научно-исследовательских учреждениях. Статистическую обработку данных выполняли по Б.А. Доспехову (Доспехов, 1985).

Предшественниками томата и картофеля являлись зерновые культуры. Посев и посадку осуществляли по технологии, рекомендованной для возделывания использованных культур с учетом погодных условий.

Полевой опыт на томатах сорта Ажур F1 проводили в пяти вариантах: контроль 1 – без обработок, контроль 2 - с обработкой коммерческим биопрепаратом Лепидоцид СК (эталон), три варианта с обработкой экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883.

Обработку экспериментальными образцами биопрепаратов на основе

исследуемых штаммов проводили в утренние часы (расход рабочей жидкости — 300 л/га, норма расхода — 4 л/га). За время проведения испытания проведено 7 обработок.

Испытания проводили в открытом грунте на территории филиала ФГБУ «Россельхозцентр» по Астраханской области. Предпосевная обработка почвы включала перекопку на глубину 23-25 см. Закладку опыта осуществили методом организованных повторений с разбросным способом их размещения (Доспехов, 1985). Весь период вегетации растения поливали водопроводной водой с помощью капельного орошения.

Перед высевом семена замачивали в чашках Петри по вариантам. Высев проведен 11 марта в специальные рассадные ящики, которые находились в теплице. Температурный режим теплицы характеризовался следующими показателями: среднесуточная температура днем в солнечную погоду составляла 23-29°C, в пасмурную 21-23°C; ночью 17-21°C. Интенсивность естественного освещения в Астраханской области в марте являлась достаточной, поэтому рассада не страдала от недостатка света и дополнительного освещения не требовалось.

Из абиотических факторов существенное влияние на рост и развитие томатов, формирование урожая оказывали погодные условия. Анализ агроклиматических факторов в 2016 году показал, что за период январь – апрель выпало 113,6 мм атмосферной влаги, что на 20,6 мм больше среднемноголетнего значения. В пределах нормы выпали дожди в первой декаде мая. Однако вторая и третья декады месяца характеризовались засухой с суммой осадков 7,4 мм, при норме 22 мм. В целом дефицит атмосферной влаги в мае составил 37,3%, при температуре воздуха на 31,4% выше нормы.

Развитие опытных растений в июне проходило при повышенных температурах и неравномерном выпадении осадков. В первой декаде, когда растения находились в фазе бутонизации, дожди полностью отсутствовали, а среднесуточная температура воздуха на 4,5 °C превышала норму. Практически отсутствовали осадки и в третьей декаде июня. Но, во второй декаде их выпало

в 3,2 раза больше нормы. Период цветения и образования плодов в июле проходил также при дефиците атмосферной влаги, причем количество выпавших осадков равнялось только 5,4 мм при среднегодовом значении 47 мм. Ход среднесуточных температур составил 20,3 °С. Вегетация растений в августе продолжалась в условиях недостатка влаги, который составил 20 мм или 45,5%. При норме осадков 44 мм выпало только 24 мм.

В целом за вегетационный период (май-сентябрь) в зоне нахождения опытного участка выпало 94,3 мм осадков при норме 163 мм или 57,8%. Дефицит увлажнения равнялся 68,7 мм или 42,2%.

Рассаду выращивали в полных горшочках объемом - 0,3 л одного диаметра из пластмассы. На дне горшочков располагались отверстия для улучшения водновоздушного режима в корнеобитаемом слое. Полив рассады проводился вручную.

Вторая обработка, при которой корневую систему рассады погружали в экспериментальные образцы биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 с титром клеток  $10^9$  КОЕ/мл проведена перед высадкой в открытый грунт на стадии 4-6 настоящих листьев. В контроле 1 растения погружали в водопроводную воду, в контроле 2 – в раствор препарата Лепидоцида на 20 минут.

Третья и четвертая обработки проведены на стадии активного роста растений в виде пролива под корень экспериментальными образцами биопрепаратов. В опытных вариантах и контроле 2 (эталон) пролив проведен 6 мая и 24 июня.

Обработку растений методом опрыскивания экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 в опытных вариантах и биопрепаратом Лепидоцид в варианте - контроль 2 (эталон) осуществляли 18 мая (пятая обработка), 29 июня (шестая обработка) и 6 июля (седьмая обработка).

#### **2.41.6. Деляночные полевые испытания экспериментального образца**

**биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 на картофеле**

Полевой опыт на картофеле (*Solanum tuberosum*) сорта Ред Скарлетт представлен двумя вариантами: 1) обработка картофеля экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697; 2) контрольный участок без обработок.

Обработку экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 проводили в утренние часы (расход рабочей жидкости — 300 л/га, норма расхода — 4 л/га). За время проведения испытания проведено 3 обработки с промежутком 10 дней.

Анализ агроклиматических факторов в 2017 году за вегетационный период проведения испытаний показал, что апрель характеризовался неустойчивым температурным фоном, отличался поздними заморозками, сильными ветрами, обильными осадками. За декаду выпало от 0,3 до 24 мм, 3-426% от нормы.

В мае средние месячные температуры воздуха оказались близки к средним многолетним значениям (16,6-18,4<sup>0</sup>С). Осадки выпадали редко, за месяц на территории области выпало от 7 до 67 мм, 28-279% от нормы. У картофеля, в зависимости от сроков посадки, наблюдали образование боковых побегов, отмечали появление соцветий, цветение. Почва на глубине 10 см прогревалась до 19-23<sup>0</sup>С. Влагообеспеченность, благодаря своевременным поливам, оставалась хорошей. В полуметровом слое почвы содержалось от 90 до 160 мм продуктивной влаги, что благоприятствовало клубнеобразованию.

В июне максимальные температуры воздуха повышались в последние дни месяца до 35-38<sup>0</sup>С. Минимальные температуры в воздухе и на поверхности почвы в первой декаде июня понижались до 4-9<sup>0</sup>С. За месяц выпало от 11 до 88 мм (41-352% от нормы). На посадках картофеля продолжался рост клубней и сбор урожая. Условия для роста клубней складывались преимущественно удовлетворительные. В почве благодаря проводимым на опытном участке поливам содержалось достаточное количество влаги. Почва на глубине 10 см в последние дни прогревалась до 30<sup>0</sup>С и выше.

В июле преобладал повышенный температурный фон, отмечался



значительный недобор осадков (1-17 мм, 7-72% от нормы). Средние месячные температуры воздуха составили 26,4-27,1<sup>0</sup>С и оказались выше средних многолетних значений на 1,2-2,2<sup>0</sup>С. Запасы продуктивной влаги в полуметровом слое почвы на посадках картофеля составляли около 80 мм.

Август характеризовался засушливой погодой. За месяц с температурой 30<sup>0</sup>С и выше отмечено 27-30 дней. Минимальные температуры в воздухе понижались до 12-15<sup>0</sup>С, на поверхности почвы до 12-14<sup>0</sup>С. Осадки в большинстве дней августа не выпадали. В сентябре средние месячные температуры воздуха являлись выше средних многолетних значений на 2,1-2,9<sup>0</sup>С, а количество осадков составило 10-26 мм, 48-113% от нормы.

Испытания включали три обработки: первая и третья заключались в проливе под корень экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpathicus* RCAM04697, вторая проведена с помощью ранцевого опрыскивателя. Агротехнические мероприятия, которые проводились на участке, являлись общепринятыми для зоны нижнего Поволжья.

#### **2.42. Методы статистики**

Обработку результатов осуществляли стандартными общепринятыми методиками. Оценку разброса данных в экспериментах проводили подсчетом средних величин и среднего квадратичного отклонения для выявления доверительного интервала при 95%-ном уровне значимости. Для расчетов применяли программы BioStat и Microsoft Excel.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ к ГЛАВЕ 2.**

В работе использованы микробиологические, молекулярно-генетические, биотехнологические, физико-химические, биохимические, токсикологические, биологические и статистические методы исследования, а также методы биотестирования.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

### **ГЛАВА 3. АРИДНОСТЬ И АГРО И ТЕХНОГЕНЕЗ КАК ФАКТОРЫ ОБРАЗОВАНИЯ АДАПТИРОВАННЫХ К ЭКСТРЕМАЛЬНЫМ УСЛОВИЯМ СООБЩЕСТВ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ВОДНЫХ И ПОЧВЕННЫХ ТЕРРИТОРИЯХ**

#### **3.1. Аридность и техногенез как факторы формирования экстремальных условий в водоемах и почвах**

Интенсивное освоение природных ресурсов привело к появлению на территории Астраханской области водовмещающих объектов, искусственных и имеющих естественное ложе, где накапливаются отходы производства в виде сточных вод, которые при подтоплении смешиваются с грунтовыми водами. Эти техногенные водоёмы можно считать экстремальными местообитаниями, так как расположены они в районе пустыни и полупустыни, в аридной резкоконтинентальной климатической зоне со значительными колебаниями температуры, пыльными бурями, высокоминерализованными грунтовыми водами, соляными куполами, подпирающими верхние горизонты почвенного покрова.

В таких водоёмах можно предположить присутствие цианобактерий (Заварзин, 2003). В некоторых техногенных водоёмах на территории Астраханской области это было показано И.С. Дзержинской (1993), Г.Ю. Райской (2003).

Особая роль среди месторождений строительных материалов в Нижнем Поволжье принадлежит крупнейшему в России Баскунчакскому месторождению гипса, которое расположено в пустынной зоне. С 1933 года ведётся эксплуатация Баскунчакского гипсового завода, в качестве продукции выпускается гипсовый камень и сыромолотый гипс. Добычу гипса производят в районе подземного соляного массива из карьера глубиной до 40-42 м. Сверху гипс перекрывается песчано-глинистыми отложениями средней мощности 5-6 м. Добыча гипса происходит с помощью взрывных работ. Глыбы, обрушившиеся после взрыва, вывозят на машинах из карьера на поверхность, где подвергают дальнейшей

обработке. В основании карьера вскрыт водоносный ненапорный горизонт, вследствие этого на дне карьера образовалось озеро, под названием Мраморное, общей площадью 5000 м<sup>2</sup>, с максимальной глубиной 10 м. Вода в озере прозрачная с сероводородным запахом, дно илистое.

В Астраханской области, начиная с 1982 года ведётся промышленное освоение богатых залежей природного газоконденсата с уникально высоким (до 34,1 об.%) содержанием сероводорода. Территория АГКМ находится в северо-западной части Прикаспийской низменности, которая располагается в полупустынной природно-климатической зоне, внутри её сильно обводнённый ландшафт дельты р. Волги. Месторождение открыто в 1976 году. Протяжённость месторождения 110 км, максимальная ширина в центре 40 км. В разведанной части содержится 3,8-4,2 трлн. м<sup>3</sup> газа, причём, углеводородная часть содержит около 900 млн.т конденсата. В углеводородной части содержится примерно 130 млн.т этана и столько же пропан-бутановой фракции (Справочник по АГКМ, 2001). Пластовая смесь АГКМ характеризуется как высокосернистая со следующим составом (г/м<sup>3</sup>): азот – 24,5; диоксид углерода – 250,0; сероводород – 340,0; сера меркаптановая – 2,20; сероуглерод – 2,2; сероокись углерода – 0,20; органические кислоты – 3,3; углеводороды – остальное. Переработка газа осуществляется на ГПЗ. Конденсат представляет собой лёгкие фракции нефти. Из него получают автомобильный бензин А-76, дизельное топливо, котельное топливо, бутан технический.

Почвы района АГКМ слаборазвитые, песчаные и супесчаные, бурые с пылеватой структурой и содержанием гумуса 0,47-0,5%. Они обладают хорошей влагопроницаемостью и малой влагоёмкостью (Лапаева, 2001).

В составе водоносного комплекса исследуемой территории выделяются подземные (грунтовые) воды современных аллювиальных отложений и подземные (грунтовые) воды морских хвалыно-хазарских отложений. Непосредственно для территории Астраханского газоконденсатного комплекса характерны подземные воды морских хвалыно-хазарских отложений. Мощность водоносного горизонта изменяется от 12,2 м и резко увеличивается до 20 м при

отсутствии локального водоупора между хвалынскими и хазарскими отложениями. Минерализация подземных вод изменяется в широких пределах с преобладанием вод с минерализацией 15...25 г/дм<sup>3</sup> и 25...36 г/дм<sup>3</sup>. По химическому составу подземные воды в основном сульфатно-хлоридные, магниевые-натриевые (Кутлусурина, 1996).

Для исследования на территории АГКМ выбраны следующие водоёмы: искусственные сооружения - окситенк и ЕСР, и образовавшиеся в результате техногенного преобразования - ЗПО, озера Северное и Южное, расположенные вблизи ПУОП. Все эти водовмещающие объекты относятся к системе очистных сооружений АГКМ.

Одной из особенностей проекта АГКМ является отсутствие сброса возвратных вод в поверхностные водоёмы, утилизация их проводится на рельефе. После очистки сточные воды аккумулируются в ЕСР, после чего утилизируются на ЗПО (Райская, 2003).

Система очистных сооружений состоит из механической предварительной очистки (нефтеловушки, флотаторы, отстойники) и биологической очистки (окситенки) и предназначена для приёма и биологической очистки сточных вод газоперерабатывающего завода, жилпосёлков и стройбаз Аксарайского промузла. Проектная производительность по переработке промстоков составляет 5750 м<sup>3</sup>/сутки и ограничивается мощностью установки предочистки (нефтеловушка, флотация). Производительность блока биологической очистки, куда поступает смесь хозяйственных сточных вод и предварительно очищенных от грубодисперсной части нефтепродуктов производственных сточных вод, составляет 24300 м<sup>3</sup>/сутки.

Окситенк представляет собой искусственный водоём, с выложенным днищем из железобетона и системой аэрации. Установлено, что эффективность очистки сточных вод составляет 21,5-45%, что обусловлено не только деятельностью активного ила окситенка и микроорганизмов сточных вод, но и в большей степени – обрастаниями, представляющими собой альгобактериальные сообщества.

ЕСР по своей гидрологической структуре представляет совершенно самостоятельный тип водоёма, не имеющий аналогов в природной среде (Райская, 2003). Сброс в ЕСР подогретых до 37-40°C вод происходит постоянно, вне зависимости от сезона года. Это искусственный водоём, который представляет собой в плане квадратную чашу размером 1100x1100 м, разделённую перегородкой на две чаши общим полным объёмом до 5,5 млн. м<sup>3</sup>. Для перехвата фильтрационного потока через ложе водоёма вдоль внутреннего периметра дамбы выполнено противофильтрационное устройство.

Начиная с 1987 года, на северо-востоке от ЕСР функционирует участок под земледельческие поля орошения, как неотъемлемая часть единого комплекса ЕСР-ЗПО по сбору и утилизации стоков (Андрианов, 1996, 2002). Площадь орошаемого участка брутто – 472 га, нетто – 451 га. Глубина водоёмов не более 1 м. ЗПО предполагались использовать под шестипольный кормовой севооборот. В полной мере проектные мероприятия не осуществлены и в настоящее время ЗПО работают в режиме инфильтрационных полей орошения, с небольшой глубиной, около 1 м.

Применяемая технология утилизации сточных вод приводит к деградации пустынного ландшафта в результате подтопления и заболачивания территории АГК и появления техногенных озёр типа водоёмов в районе ЗПО, получивших название Северное и Южное.

Водоёмы Северное и Южное расположены с северной и южной стороны ПУОП. ПУОП имеет общую площадь равную 354x340 м<sup>2</sup> и рассчитан на захоронение 442 000 м<sup>3</sup> за 25 лет (или 13735,12 т/год). Эксплуатируется с 1984 года. Каждый участок разбит на карты, рассчитанные на захоронение отходов в течение 2 лет объёмом 32000 - 35000 м<sup>3</sup>. Карты полигона строились методом - выемка в грунте, углы откосов спланированы 1:2. Все карты имеют противофильтрационный экран из глины. В картах первого участка, предназначенных для захоронения бытовых отходов, внутренние откосы и дно укреплены слоем глины h- 0,2 м. Карта 1 участка в настоящее время закрыта. Второй и третий участок, предназначенные для захоронения бытовых и

производственных отходов доработаны и укреплены слоем глины 0,5 м. Глубина карт захоронения - 2,5 м. Слой глины уплотнен с целью достижения коэффициента фильтрации  $10^{-7}$  см/сек. Захоронение в картах производится послойно с пересыпкой уплотненных отходов изолирующим грунтом. На сегодняшний день большая часть первого участка полигона, предназначенного для размещения бытовых отходов, заполнена и производится засыпка уплотненных отходов изолирующим грунтом. Второй участок заполняется промышленными отходами: битый кирпич, железобетонные плиты. Заполнение идет не регулярно и практически по всей площади. К настоящему времени второй участок заполнен на 20%. Третий участок свободен от отходов. На конец 2002 года на полигон вывезено 184920 т отходов, из которых 10 % составляют бытовые.

Озёра Северное и Южное представляют собой естественные понижения рельефной поверхности, заполненные водой. В данные водоёмы никогда не осуществляли сброс воды. Попадание воды в котловины происходит под влиянием техногенного фактора: за счёт утечек из систем водоснабжения и канализации, полива зелёных насаждений, фильтрации, происходящей при утилизации сточных вод на специально отведённых площадках и т. д. Озеро Южное, площадью 4000 м<sup>2</sup>, имеет максимальную глубину 0,4 м. Вода имеет медный оттенок, дно илистое, покрыто песчаной коркой. Озеро Северное является маленьким водоёмом, размером 4800 м<sup>2</sup>, глубиной не более 0,5 м. Вода озера имеет медно-коричневую окраску, но при этом хорошо заметно визуально большое содержание фитопланктона. Дно илистое, покрыто плёнкой зелёного оттенка, толщина которой равна 3 мм.

Исследуемый водовмещающий объект на территории АЦКК также принадлежит к очистным сооружениям. Очистные сооружения АЦКК во время его строительства предусматривались в виде полей испарения с объёмом сброса стоков в количестве 33,2 млн м<sup>3</sup>/год. Вода должна была поступать в естественные водоёмы типа ильменей, прекратившие своё существование вследствие высыхания. Планировалось, что, из-за высоких летних температур района, на

полях будет происходить интенсивное испарение сточной воды (до 60% в год). Накопление воды зимой должно компенсироваться испарением воды летом и забором воды на полив бахчевых культур, что позволит использовать поля испарения долгие годы, не строя дополнительных очистных сооружений. Однако на практике эта теория показала свою несостоятельность (Держинская, 1987, 1993). Уже в 1981 году поля испарения превратились в каскад 16 прудов-отстойников общей площадью 26 км<sup>2</sup>, сообщающихся между собой сетью искусственных дамб и каналов. В 1994 году производство бумаги на АЦКК было закрыто. В настоящее время количество озёр сократилось до 9, а площадь их уменьшилась до 17,3 км<sup>2</sup> (Петровичева, Держинская, 2002).

Для исследования выбран пруд-отстойник площадью 230000 м<sup>2</sup>, куда кроме сточных вод АЦКК сбрасывались бытовые стоки, сточные воды Астраханского гидролизно-дрожжевого завода, завода резиновой обуви и силикатных изделий, завода по производству сборного железобетона. Вода этого озера характеризуется резким сероводородным запахом и коричневато-бурым цветом. Грунты водоёмов представляют собой черный ил с целлюлозными остатками.

### **3.2. Гидрохимическая характеристика и экстремальные условия в исследуемых техногенных водоёмах**

Водоёмы, даже техногенные, имеют важное значение для пустынной и полупустынной территории, так как они частично компенсируют недостаток влаги, которая необходима для жизни микроорганизмов в условиях сухости аридного климата.

Гидрохимические показатели исследуемых водоёмов определяются составом техногенных загрязнений, поступающих в них или действующих извне. В процессе эксплуатации техногенных объектов АГКМ одними из основных источников поступления загрязняющих веществ в природную среду являются сбросы сточных вод на рельеф и т. д. Основным последствием этого воздействия является подтопление территорий. Источником поступления загрязнителей

являются производственные и бытовые стоки объектов, а также дождевые и малые сточные воды от обвалованных складов горючесмазочных материалов, промышленных и жилых площадок. Основными загрязнителями являются нефтепродукты, метанол, взвешенные вещества, аммонийный азот, хлориды и другие вещества, которые оказывают прямое воздействие на почвы, озёра, растительный покров и подземные воды сезонно-талого слоя, при выпусках на рельеф (Андрианов и др., 1996; Лапаева, 2001).

Загрязнение территории месторождения химическими компонентами отходов производства и потребления отрицательно влияет, прежде всего, на геохимический фон почв, почвогрунтов и подземных вод, на их физико-химические свойства. Не менее опасным может оказаться и вторичное загрязнение природных компонентов вследствие разложения органических составляющих тех или иных отходов, в результате чего могут образовываться высокотоксичные соединения (Андрианов, 2002).

Кроме бытовых отходов, существенный вклад в загрязнение окружающей среды вносят такие отходы, как нефтешламы и нефтезагрязненный грунт, которые составляют значительную часть всех образующихся на АГКМ отходов (Райская, 2003).

Учитывая высокую коррозионную агрессивность и токсичность сырья, своеобразие климатогеографических условий региона, а также соседство месторождения с уникальной природной зоной Волго-Ахтубинской поймы, особое внимание на АГКМ уделяется вопросам охраны окружающей среды и обеспечения газовой безопасности.

Основной поток сточных вод – слабозагрязнённые производственные стоки ГПЗ, которые после предварительной очистки от нефтепродуктов в смеси с хозяйственными стоками поступают на установку биологической очистки канализационных очистных сооружений и далее в ЕСР. Дождевые стоки с промплощадки ГПЗ по отдельному коллектору собираются в ёмкость дождевых стоков, оттуда также направляются в ЕСР. Кроме того, в ЕСР из заводской котельной поступают шламовые стоки, образующиеся при регенерации



ионообменных фильтров цеха химводоподготовки. После ЕСР очищенные стоки в вегетационный период утилизируются на ЗПО (Андрианов, Сокирко, 2000).

Почвы исследуемой территории испытывают воздействие таких общих факторов, сухое и влажное осаждение токсичных компонентов, входящих в состав газовых выбросов, сточных вод, а также химреагентов, применяемых в бурении.

На АЦКК для получения целлюлозы использовался сульфатный способ, т.е. вычленение из древесины целлюлозы путём сульфатной варки и её облагораживание – отбелка. Органические вещества, образующиеся в процессе варки, являются продуктами деструкции древесины. В пруд-отстойник поступают со сточными водами АЦКК частицы коры, целлюлозные волокна, продукты деструкции углеводного и лигнинного комплексов древесины, соли натрия – сульфат, карбонат, сульфит, сульфид, силикат, тиосульфат, едкий натр, сера и её окислы, соединения железа и марганца, токсические и резко пахнущие восстановленные сернистые соединения – сероводород, метилмеркаптан, диметилсульфид, и одно из самых трудноразлагаемых органических веществ – сульфатный лигнин.

В исследования гидрохимического режима водных объектов входило изучение гидрохимических факторов, влияющих на развитие цианобактерий. К ним относятся реакция среды, аммонийный азот, фосфаты, хлориды, сульфаты, бикарбонаты, сероводород, нефтепродукты,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  и общее содержание солей.

Общим для всех водоёмов является присутствие сероводорода. Это свидетельствует о токсичности среды, так как для водоёмов хозяйственно-питьевого назначения значение предельно допустимой концентрации (ПДК) сероводорода является 0,003 мг/л (класс опасности 4) (ГН 2.1.5.1315-03; Контроль химических..., 1998). Максимальное содержание сероводорода обнаружено в окситенке до 3,000 г/л, минимальное – в озере Южное 0,0009 г/л. В воде остальных водоёмов этот показатель варьирует от 0,030 г/л – ЗПО, Северное, Мраморное, пруд-отстойник АЦКК до 0,040 г/л – ЕСР (табл. 2).

Важное значение для жизнедеятельности цианобактерий имеет реакция среды, которая в исследуемых водоёмах варьирует от кислой рН 5,5 в озере Мраморном, до щелочной рН 9,0 в ЕСП, озере Северном, пруде-отстойнике АЦКК.

Кроме повышенной кислотности среды рН 5,5 вода озера Мраморное, по сравнению с остальными исследуемыми водоёмами, отличается низким содержанием биогенных элементов – азота (следовое количество) и фосфора (0,00001 г/л), концентрацией сульфатов 0,0014 г/л и бикарбонатов 0,0976 г/л, ионы  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  обнаружены в значительном количестве 4,0800 г/л и 30,3750 г/л, соответственно. Превышают значения ПДК для рыбохозяйственных водоёмов содержание хлоридов 195,0300 г/л и минерализации 383,6520 г/л, концентрации которых можно рассматривать как экстремальные (табл. 2).

Показатель рН в окситенке колеблется в нейтральных пределах от 6,5 до 8,5. По сравнению с другими исследуемыми водоёмами в окситенке отмечено самое высокое содержание биогенных элементов азота до 0,076 г/л и фосфора до 0,007 г/л и количество нефтепродуктов от 0,005 г/л до 0,040 г/л. Несмотря на то, что минерализация достаточно низкая 2,00 г/л (ПДК = 1,00 г/л), количество хлоридов от 0,600 г/л до 1,540 г/л, сульфатов от 0,200 г/л до 0,776 г/л, бикарбонатов 0,500 г/л, катионов  $\text{Ca}^{2+}$  0,785 г/л и  $\text{Mg}^{2+}$  0,130 г/л выше, чем ПДК этих показателей для рыбохозяйственных водоемов.

Диапазон рН в ЗПО и пруду-отстойнике АЦКК 7,0 до 8,5-9,0. Содержание фосфора и азота в обоих водоёмах, по сравнению с другими, является высоким: в ЗПО количество фосфора от 0,002 г/л до 0,007 г/л, азота – от 0,001 г/л до 0,008 г/л; в отстойнике АЦКК от 0,001 до 0,002 г/л, от 0,001 г/л до 0,020 г/л, соответственно. Концентрация хлоридов – от 0,436 г/л до 0,854 г/л, сульфатов от 0,160 г/л до 0,742 г/л, бикарбонатов 0,415 г/л в ЗПО превышает значения ПДК. В отстойнике АЦКК количество сульфатов и хлоридов не выходит за пределы допустимых концентраций и равно 0,090 г/л-0,099 г/л и 0,080 г/л -0,090 г/л, соответственно. В пруду АЦКК, по сравнению с остальными исследуемыми водоёмами обнаружена самая высокая концентрация ионов  $\text{Mg}^{2+}$  68,339 г/л и  $\text{Ca}^{2+}$

- 0,401 г/л. В обоих озерах обнаружено присутствие нефтепродуктов 0,004 г/л – 0,008 г/л в ЗПО, 0,032 г/л-0,049 г/л в пруде АЦКК.

В озере Южном обнаружен очень высокий минеральный уровень, который выходит за пределы допустимых концентраций, при водородном показателе рН 7,7. Общее содержание солей равно 96,00 г/л, хлоридов 44,7290 г/л, сульфатов 14,1690 г/л, бикарбонатов 0,5740 г/л, катионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  1,2640 г/л и 3,9810 г/л, соответственно. Количество биогенных элементов, по сравнению с остальными водоёмами невысокое, хотя количественное значение азота 0,003 г/л выше значения ПДК. Нефтепродукты обнаружены в следовых концентрациях.

В ЕСР при рН от 7,8 до 9,0, количество биогенных элементов азота – от 0,002 г/л до 0,009 г/л и фосфора от 0,001 г/л до 0,002 г/л, а также хлоридов - 0,437 г/л – 1,129 г/л, сульфатов 0,189 г/л – 0,474 г/л, ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  - 0,699 г/л и 0,064 г/л, соответственно, превышает ПДК, содержание бикарбонатов - 0,189 г/л не выходит за пределы допустимых концентраций. Концентрация нефтепродуктов составляет 0,004 г/л – 0,013 г/л.

Вода озера Северное отличается низким содержанием фосфора – 0,0001 г/л при высокой концентрации азота – 0,007 г/л. Общее содержание солей 6,200 г/л, хлоридов – 2,849 г/л, сульфатов – 0,521 г/л, бикарбонатов – 0,208 г/л, катионов  $\text{Mg}^{2+}$  - 0,1533 г/л превышает ПДК для рыбохозяйственных водоемов. Содержание катионов  $\text{Ca}^{2+}$  - 0,0583 г/л не выходит за пределы допустимых концентраций, нефтепродукты обнаружены в ничтожно малых количествах (табл. 2).

Анализ исследуемых водоемов показывает, что каждый из них отличается друг от друга гидрохимическими особенностями, которые можно считать экстремальными.

К особенностям гидрохимического состава воды озера Мраморное, расположенном в гипсовом карьере, можно отнести значение рН 5,5, концентрацию хлоридов, сероводорода и минерализацию (табл. 3).

Вода окситенка ГПЗ, представляющего собой искусственный железобетонный бассейн, куда исключено попадание подземных вод, и

загрязняющие вещества вносятся только с потоком сточных вод, отличается самым высоким содержанием сероводорода до 3,0 г/л, по сравнению с другими исследуемыми водоемами (табл. 3).

Водоём ЕСР, который тоже является искусственным водоёмом, где отстаивается очищенная сточная вода, и ЗПО, куда поступает очищенная сточная вода ГПЗ, а также пруд-отстойник со сточной водой АЦКК отличаются присутствием сероводорода и нефтепродуктов (табл.3). В результате исследований Г.Ю. Райской (2003), установлено, что приоритетное место среди загрязнителей сточных вод, поступающих в ЕСР, занимают нефтяные углеводороды. Содержание нефтяных углеводородов, по среднесуточным показателям, равно 4,7 мг/л. Такое содержание нефтепродуктов в сточных водах ЕСР не выходит за нормы установленного регламента «Астраханьгазпром» (50,0 мг/л), но даже самая минимальная концентрация, зафиксированная на выходе из ЕСР (1,2 мг/л) превышает ПДК в 24 раза.

Озеро Южное среди техногенных водоёмов АГКМ и АЦКК отличается максимальными значениями минерализации, хлоридов и сульфатов.

В озере Северном отмечена щелочная реакция среды и высокое содержание сероводорода.

Анализ показал, что к особенностям гидрохимического режима можно отнести присутствие во всех исследуемых техногенных водоёмах сероводорода, в окситенке, ЕСР, ЗПО и пруду АЦКК - нефтепродуктов, в Мраморном – кислой реакции среды, что является результатом техногенного влияния на исследуемые территории, а также повышенная минерализация водоемов Мраморное и Южное, что обусловлено расположением этих водоемов на территории, подпиромой соляными массивами.

Таблица 2 - Гидрохимические показатели исследуемых водных объектов

Ингредиенты	Содержание в воде, г/л							
	Окситенк	ЕСР	ЗПО	Южное	Северное	Мраморное	АЦКК	ПДК х/п вод.
Реакция среды	6,5-8,5	7,8-9,0	7,0-8,5	7,7	9,0	5,5	7,0-9,0	6,5-8,5
Азот аммон.	0,007-0,076	0,002-0,009	0,001 0,008	0,0030	0,0070	следы	0,001-0,020	0,00050
Фосфаты	0,003- 0,007	0,001 0,002	0,002-0,007	0,0001	0,0001	0,00001	0,002	0,00025
Хлориды	0,600-1,540	0,437-1,129	0,436-0,854	44,7290	2,8490	195,0300	0,080-0,090	0,30000
Сульфаты	0,200-0,776	0,189-0,474	0,160-0,742	14,1690	0,5210	0,00140	0,090-0,099	0,10000
Сероводород	0,040-3,000	0,020-0,040	0,001-0,030	0,0003-0,0009	0,0200 -0,0300	0,0040- 0,0300	0,020-0,030	0,000003
Нефтепрод.	0,005-0,040	0,004-0,013	0,004-0,008	следы	следы	отс.	0,032-0,049	0,00005
Бикарбонаты	0,500	0,189	0,415	0,5740	0,2080	0,0976	1,421	0,20000
Ca <sup>2+</sup>	0,785	0,699	0,160	1,2640	0,0583	4,0800	0,401	0,18000
Mg <sup>2+</sup>	0,130	0,064	0,299	3,9810	0,1533	30,3750	68,339	0,04000
Общее содержание солей	2,000	2,0	4,0	96,0000	6,2000	383,6520	2,000	1,00000

Таблица 3 - Особенности гидрохимического состава воды исследуемых техногенных водоемов

Водоёмы	Показатели, г/л					
	рН	Сероводород	Хлориды	Сульфаты	Минерализация	Нефтепродукты
Мраморное	5,5	0,004-0,03	195,03	0,001	383,65	отс.
Окситенк	6,5-8,5	0,04-3,00	0,60-1,54	0,20-0,77	2,00	0,005-0,040
ЕСР	7,8-9,0	0,02-0,04	0,43-1,12	0,18-0,47	2,00	0,004-0,013
ЗПО	7,0-8,5	0,001-0,03	0,43-0,85	0,16-0,74	4,00	0,004-0,008
Южное	7,7	0,0003-0,0009	44,72	14,16	96,00	следы
Северное	9,0	0,02-0,03	2,84	0,52	6,20	следы
АЦКК	7,0-9,0	0,02-0,03	0,08-0,09	0,09	2,00	0,032-0,049

### 3.3. Особенности основных типов почв региона исследований

Главным критерием образования почв Астраханской области является засушливый климат и разреженный характер растительности (Норовсурэн и др., 2007; Зенова и др., 2011). Важнейшим экологическим фактором является засоление почв. В Астраханском регионе к засоленным относят почвы, содержащие в каком-либо горизонте более 0,25% водорастворимых солей от общего веса сухого остатка. При таком показателе в Волго-Ахтубинской пойме около 17% почв, в дельте – почти 50%.

Засоление данных типов почв в условиях засушливого климата определяется повышающимися водными стоками, которые в дельте р. Волга приводят к вымыванию кристаллов солей из почвенного горизонта лугов небольшого уровня залегания, а также низко залегающими сильно засоленными материнскими породами (Ковда, 1973; Коринец, 2009; Новикова, 2009; Косолапов и др., 2013).

Солончаки и солонцы — своеобразные природные экосистемы, в которых

высокие концентрации солей и недостаток влаги создают специфические условия для существования живых организмов. Солончак луговой характеризуется интенсивным засолением сульфатного и хлоридно-сульфатного типа, в составе анионов преобладает сульфат-ион (до 13,2-19,2 ммоль/100 г почвы), а в составе катионов водорастворимых солей преобладает ион кальция (до 9,5-14,1 ммоль/100 г почвы) (табл. 4). Для северной части правого и левого берега Волго-Ахтубинской поймы характерны светло-каштановые почвы (Панкова и др., 2014). Они занимают наиболее дренированные и повышенные пространства. Это связано с тем, что на данной территории широко представлены степные западины, в которых встречаются засоленные почвы и солонцы (Ушаков и др., 1996). Мощность гумусовых горизонтов светло-каштановых почв всего 30 - 40 см, количество гумуса невелико - 1 - 3%, причем гумус распределен по профилю неравномерно (табл. 4). Почвообразующими породами являются морские нижнехвалынские отложения. Светло-каштановые почвы в основном среднесуглинистые и, как правило, солонцеватые.

Большая территория в почвенном покрове Астраханской области представлена песками. Основные массивы песков занимают правый и левый берега р. Волги в южной части области. Содержание гумуса в верхнем слое песков составляет 0,19-0,36 %. Песчаный гранулометрический состав и незначительное содержание гумуса обуславливают очень низкую поглотительную способность песков: она составляет 2,5-4,8 ммоль/100 г почвы и незначительно убывает с глубиной. Пески отличаются хорошей отсортированностью и не засолены водорастворимыми солями.

Бурые полупустынные почвы занимают небольшие площади. Распространены они, преимущественно, в дельте Волги на вершинах и по склонам бэровских бугров (Пилипенко и др., 2002). Бурые полупустынные почвы располагаются пятнами среди светло-каштановых и при движении с севера на юг, при усилении засушливости климата, постепенно расширяют свои площади. Обычно они приурочены к выровненным пространствам, однако их можно

Таблица 4 - Результаты химического анализа основных типов почв

## Астраханского региона

Почва	Горизонт , см	рН	Гумус , %	Анализ водной вытяжки, ммоль/100 г почвы						Плотны й остаток, %
				$HCO_3^-$	$Cl^-$	$SO_4^{2-}$	$Ca^{2+}$	$Mg^{2+}$	$Na^+$	
Бурая полупустынная Заросли Польни ( <i>Artemisia</i> ) в полупустыне, Харабалинс кий район	Ad (0-7)	7,7 0	0,47	0,10	0,09	0,05	0,22	0,10	0,24	0,15
	B1 (7-22)	7,5 6	0,05	0,05	0,03	2,71	6,10	0,75	0,16	0,38
	B солевой (22-57)	6,9 9	0,02	0,05	0,14	2,67	4,40	2,00	1,15	0,56
	B2 (57- 87)	7,2 3	0,02	0,07	0,95	2,04	1,60	1,92	3,47	1,18
	B3 (87- 110)	6,8 9	0,02	0,06	2,74	2,12	1,60	2,50	7,16	1,17
Солончак луговой гидроморфный Пастбище, сенокос, Лиманский район	I слой А гумм (0-8)	7,3 1	3,30	0,32	5,16	3,00	2,67	1,59	3,17	1,40
	II слой (8-25)	7,4 0	0,54	0,30	9,77	9,70	4,84	6,65	13,7 5	1,58
	III слой (25-38)	7,5 1	0,38	0,32	12,2 1	10,30	6,18	6,15	11,9 7	2,25
	IV слой (38-60)	7,2 2	0,38	0,28	17,0 7	13,20	3,64	7,74	18,9 2	0,75
Аллювиально- луговая Ивовый лес (Ива белая, <i>Salix alba</i> ), Ахтубинский район	A <sub>1</sub> (0-4)	6,7 0	4,81	0,22	0,18	1,021	1,50	1,66	0,35	0,12
	A <sub>T погр</sub> (4- 10)	7,0 0	3,62	0,38	0,20	1,104	9,50	1,50	0,64	0,15
	II(B <sub>1</sub> ) (10-30)	6,9 6	2,92	0,31	0,28	1,208	1,00	0,16	0,28	0,13
	III(B <sub>2</sub> ) (30-45)	7,0 3	1,63	0,29	0,28	0,688	0,50	0,25	0,22	0,13
	IV(BC) (45-74)	7,0 6	0,86	0,28	0,17	0,083	0,45	0,08	0,20	0,08
Песчаная почва под полянью, п. Досанг, Харабалинс кий район	A0 (0-2)	8,1 7	0,38	0,49	0,51	0,21	0,30	0,25	0,65	0,07
	B (2-54)	9,2 1	0,14	0,52	0,34	0,15	0,35	0,17	0,30	0,08
	C (54-86)	8,9 7	0,05	0,93	0,40	0,38	0,40	0,25	0,74	0,10
Светло- каштановые Искусственны е посадки Сосны ( <i>Pinus</i> ) вблизи г. Богдо, Ахтубинский район	A1 (0-9)	7,9 0	2,37	0,65	0,07	0,02	0,37	0,08	0,32	0,19
	B1 (9-27)	7,8 5	1,72	0,59	0,09	0,02	0,31	0,16	0,37	0,21
	B2 (27- 48)	7,8 8	0,54	0,81	0,05	0,03	0,42	0,31	0,41	0,20



встретить также на бэровских буграх и других увалообразных холмах (Ушаков и др., 1996). Гумуса в верхнем горизонте в песчаных и супесчаных разновидностях около 1 %, в легкосуглинистых – 1 - 1,5 %, и в суглинистых - 1,5 - 2,5%. Емкость поглощения обменных катионов бурых полупустынных почв невелика – 10-15 ммоль. В составе объемных катионов  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  и  $\text{Na}^+$ , причем на долю  $\text{Mg}^{2+}$  приходится до 25%, а  $\text{Na}^+$  - 1-1,5% от емкости поглощения.

В условиях поверхностного увлажнения по отрицательным элементам рельефа сформировались аллювиальные луговые почвы. Высокопродуктивная разнотравно-злаковая луговая растительность развивает на этих почвах мощную корневую систему, охватывающую большой слой почвы и интенсивно оструктурирующую почвенную массу, что вместе с растрескивающимся пылевато-суглинистым ежегодным наилком дает высокую структурность почвы в целом (Ковда, 1951). Общее содержание гумуса в почвах составляет в поверхностном слое от 3,6% до 4,4%. Данные по химическому составу грунтовых вод характеризуют ее как гидрокарбонатно-сульфатная магниевая-кальциевая, что также отражается на перераспределении солей в почвенном профиле (Яковлева и др., 2009).

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ к ГЛАВЕ 3.**

Экстремальные особенности исследуемых территорий (присутствие сероводорода и высокая соленость) способствуют жизнедеятельности в водоемах и почвах специфических микробных ценозов на основе цианобактерий и актиномицетов. Изученные факторы обуславливают снижение интенсивности биологического круговорота и низкое таксономическое разнообразие живых организмов. В настоящее время исследованы климатический и водный режимы, миграция химических элементов, растительность и почвы Астраханской области. Однако микробиоценозы данной зоны остаются слабо изученными.

## **ГЛАВА 4. ЦИАНОБАКТЕРИИ И АКТИНОМИЦЕТЫ КАК ОСНОВА МИКРОБНЫХ КОМПЛЕКСОВ ВОДОЕМОВ И ПОЧВ НИЖНЕЙ ВОЛГИ**

### **4.1. Видовой состав цианобактерий водоемов аридной зоны**

#### **4.1.1. Видовой состав цианобактерий природных водоемов**

На территории Нижней Волги мало изученными остаются водоемы Волго–Ахтубинской поймы, особенно в северной части области. Исследования проводили на водоемах, расположенных на территории биостанции Дубрава в Ахтубинском районе Астраханской области. Все исследуемые водоемы, в отличие от изучаемых техногенных, относятся к евтрофному типу. Это неглубокие водоемы с илистым грунтом, содержащие большое количество органического вещества. В них отмечается массовое развитие водных организмов, происходит обильное развитие фитопланктона, вследствие поступления большого количества биогенных веществ. На береговой линии присутствуют водоросли и растительность.

Водоемы Гнилое, Лапоть, Сазаний и Рачий соединяются с основным водотоком – рекой Волга только в период половодья. В период межени – это отшнурованные небольшие водоемы. Основные виды водной растительности в них – роголистник, уруть, рдест и небольшое количество харовых водорослей.

Озеро Гнилое располагается среди дубового леса. Ширина его колеблется от 15 м до 40 м, длина составляет 5 – 7 км, глубина - от 2,5 до 5 м, дно преимущественно состоит из жидкого ила, черного и темно–зеленого цвета, состоящего из органических остатков и растительности. Вода озера темного цвета, толща плохо просматриваемая, полностью заполнена погруженной водной растительностью, местами достигая поверхности.

Озеро Лапоть имеет размеры (длина до 3,0 км, ширина до 40,0 м, глубина до 3,0 м) с сильно заросшей растительностью (80%) и прозрачной водой. Дно его покрыто слоем жидкого ила толщиной 30 – 60 см, состоящего в основном из органических остатков. Берег водоема – пологий.

Водоем Сазаний небольшой – шириной 30 – 40 м, длиной 2 – 3 км, и

глубиной от 2 до 3 м. Дно его покрыто слоем жидкого ила толщиной 30 – 60 см, состоящего в основном из органических остатков, напоминающих сапропель. Берег водоема Сазаний – пологий, низкий (до 0,5 – 1 м) с типичным для местных водоемов осоковым бордюром с небольшим участием в ценозе нетипичного для данного района тростника и рогоза.

Водоем Рачий – небольших размеров, по конфигурации напоминает клешню рака и отсюда его название. Основная часть (до 60 %) водной поверхности без растительности, зарослями тростника покрыта лишь прибрежная часть. Длина водоема около 1 км, ширина в разных местах колеблется от 5 м до 20 м, глубина – 1,3 – 2,5 м.

Река Волга является главным водотоком в период половодья, и основным источником питания водоемов. Ширина реки Волга на данном участке приблизительно несколько километров от 1,5 до 3 км. Берега обрывистые, песчаные заросшие высшей водной растительностью по береговой зоне. Отбор проб в реке Волга проводился в образованной природной заводии, где приблизительная глубина составляет от 1,5 до 3 м.

В составе фитопланктонного сообщества исследуемых водоемов доминировали представители цианобактерий.

В реке Волга доминировали гетероцистные формы виды *Anabaenopsis arnoldii*, колониальные - *Microcystis pulverea*, нитчатые цианобактерии рода *Oscillatoria* в присутствии *Microcystis ichtioblaube*, *Gloeocapsa sp.* (табл. 5).

Состав цианобактерий озера Гнилого и ерика Рачий является схожим. В них обнаружено массовое развитие колониальных форм цианобактерий *Microcystis pulverea* и *Gloeocapsa sp.* в присутствии нитчатых форм *Phormidium sp.*

В озере Лапоть и ерике Сазаний доминировали трихомные цианобактерии рода *Oscillatoria*. В ерике Сазаний также массово развивались колониальные цианобактерии вида *Microcystis pulverea* в присутствии видов *Oscillatoria subtilissima*, *Oscillatoria agardhii*, *Gloeocapsa sp.*

Таблица 5 - Состав цианобактерий исследуемых природных водоемов

Водоемы	Доминирующие виды цианобактерий
р. Волга	<i>Anabaenopsis arnoldii</i> Apt., <i>Microcystis pulverea</i> (Wood) Elenk., <i>Oscillatoria</i> sp., <i>Oscillatoria subtilissima</i> Kutzing, <i>Microcystis ichtioblaube</i> , <i>Gloeocapsa</i> sp.
оз. Гнилое	<i>Microcystis pulverea</i> (Wood) Elenk., <i>Gloeocapsa</i> sp., <i>Merismopedia tenuissima</i> Lemmermann, <i>Phormidium</i> sp., <i>Spirulina</i> sp.
оз. Лапоть	<i>Oscillatoria</i> sp., <i>Phormidium</i> sp.
ер. Сазаний	<i>Oscillatoria</i> sp., <i>Microcystis pulverea</i> (Wood) Elenk., <i>Oscillatoria subtilissima</i> Kutzing, <i>Oscillatoria agardhii</i> Gomont, <i>Gloeocapsa</i> sp.
ер. Рачий	<i>Microcystis pulverea</i> (Wood) Elenk., <i>Gloeocapsa</i> sp., <i>Oscillatoria</i> sp., <i>Phormidium</i> sp.

В природных водоемах северной части Волго-Ахтубинской поймы обнаружено доминирование нитчатых цианобактерий рода *Oscillatoria* и колониальных форм рода *Microcystis*.

Проточный гидрологический режим реки Волга влияет на состав фитопланктона, в котором доминировали не только вышеуказанные формы, но и гетероцистные представители рода *Anabaenopsis arnoldii* Apt.

Таким образом, в природных водоемах доминирующими формами цианобактерий явились колониальные формы рода *Microcystis*, трихомные формы рода *Oscillatoria* и гетероцистные – рода *Anabaenopsis*.

#### 4.1.2. Видовой состав цианобактерий техногенных водоемов

Преобладание цианобактерий в экстремальных местообитаниях (Горюнова и др., 1969; Судьина и др., 1978; Андреюк и др., 1990; Заварзин, 2003; Цыренова и др., 2011; Самылина, 2017; Stal, 2000) определяет возможность их существования в исследуемых техногенных водоёмах Нижнего Поволжья с экстремальными условиями.

Для исследования цианобактерий в водоёмах были применены классические альгологические методы с получением накопительных культур, которые выявили присутствие следующих родов цианобактерий: *Phormidium*, *Oscillatoria*, *Spirulina*, *Gloeocapsa* (приложение 14).

В озере гипсового карьера – Мраморном, визуально были обнаружены зелёно-коричневые плёнки, толщиной 3 мм, плавающие на поверхности и в толще воды, а также покрывающие дно. Микроскопическое исследование данных плёнок показало наличие в них нитчатых и кокковых форм цианобактерий. Доминирующие цианобактерии определены, как *Oscillatoria* sp. и *Phormidium solitare* (табл. 6).

Таблица 6 - Видовой состав цианобактерий в исследуемых техногенных водоёмах

Водоёмы	Доминирующие цианобактерии
Озеро Мраморное	<i>Phormidium solitare</i> Rabenh., <i>Oscillatoria</i> sp.
Озеро Северное	<i>Oscillatoria ornata</i> (Kutz.) Gom., <i>Spirulina Jenneri</i> (Hass.) Kutz., <i>Phormidium</i> sp.
Озеро Южное	<i>Oscillatoria ornata</i> (Kutz.) Gom., <i>Phormidium tenue</i> Gom.
ЕСР	<i>Oscillatoria chlorina</i> Gom., <i>Oscillatoria tenuis</i> Ag., <i>Gloeocapsa magma</i> Kütz. emend Hollerb.
ЗПО	<i>Oscillatoria tenuis</i> Ag., <i>Phormidium tenuissimum</i> Woronich.

В озере Северное, расположенном вблизи ПУОП на территории АГКМ визуально было отмечено бурное развитие фитопланктона в толще воды и покрытие дна зелёным налётом, толщиной 3 мм. При микроскопировании воды и налёта обнаружено доминирование трихомных цианобактерий, которые идентифицированы как *Oscillatoria ornate*, *Spirulina jenneri*, *Phormidium* sp.

В озере Южное, расположенном около ПУОП АГКМ визуально не было отмечено присутствие фитопланктона. Микроскопическое исследование воды показало присутствие единичных клеток цианобактерий, среди которых обнаружены нитчатые и кокковые формы цианобактерий с преобладанием *Oscillatoria ornate*, *Phormidium tenue*.

В водоёмах ЕСР и ЗПО были обнаружены пятна сине-зелёного цвета, при микроскопировании которых выяснилось, что наиболее часто в ЕСР встречались представители цианобактерий следующих видов: *Oscillatoria chlorina*,

*Oscillatoria tenuis*, *Gloecapsa magma*; в ЗПО - *Oscillatoria tenuis*, *Phormidium tenuissimum*.

Во всех исследуемых техногенных водоемах из фитопланктона и обрастаний преобладают цианобактерии в нитчатых формах родов *Oscillatoria* и *Phormidium*. Анализ видового состава цианобактерий исследуемых водоёмов показал, что род *Oscillatoria* развивается в самом широком диапазоне гидрохимических факторов при концентрации сероводорода от 0,0003 г/л до 0,04 г/л и минерализации от 2,0 г/л до 383,7 г/л, рН от 5,5 до 9,0.

Состав цианобактерий техногенных водоемов отражен в Базе данных, на которую получено Свидетельство о государственной регистрации (приложение 14).

## **4.2. Исследование разнообразия видов цианобактерий в составе водных накопительных культур циано-бактериальных сообществ**

### **4.2.1. Особенности накопительных культур природных водоемов**

Накопительные культуры, в лабораторных условиях получали, используя пробы воды исследуемых водоемов: реки Волга, озер Гнилое и Лапоть, и ериков Сазаний и Рачий.

На 14 сутки экспозиции наиболее интенсивно наблюдался рост в накопительной культуре из озера Гнилое, где отмечены почти все признаки роста. В остальных накопительных культурах процесс развития сообществ был менее интенсивным. Во всех колбах обнаружено изменение окраски на сине-зеленую. Возможно, это связано с большим количеством фитопланктона и питательных веществ в толще воды озера Гнилого, так как прозрачность в нем была низкой, по сравнению с другими.

На 28 сутки обнаружен рост во всех опытных образцах. Образование хлопьев не наблюдалось, но интенсивно образовывался налет сине-зеленого цвета на стенках сосудов. На 42 сутки в накопительных культурах происходило интенсивное развитие циано-бактериальных сообществ. В накопительных культурах визуально обнаружено увеличение биомассы сообществ, интенсивно

изменялся цвет среды на яркий сине-зеленый. По нашему мнению, это связано развитием цианобактерий и водорослей, участвующих в «цветении» водоемов.

Обнаружено, что во всех опытных образцах доминировали цианобактерии в присутствии зеленых и диатомовых водорослей.

Микроскопическое исследование накопительной культуры реки Волга показало превалирование цианобактерий *Oscillatoria sp.*, *Microcystis pulverea* (Wood) Elenk. в присутствии *Gloeocapsa sp.* (табл. 7).

Микроскопическое исследование накопительной культуры озера Гнилое показало доминирование нитчатых цианобактерий *Phormidium sp.*, колониальных *Gloeocapsa sp.* и *Microcystis pulverea* (Wood) Elenk. в присутствии *Spirullina sp.*

Таблица 7 - Состав цианобактерий в накопительных культурах

Накопительные культуры на основе водоемов	Виды цианобактерий и водорослей
	Накопительные культуры
р. Волга	<i>Oscillatoria sp.</i> , <i>Microcystis pulverea</i> (Wood) Elenk., <i>Gloeocapsa sp.</i>
оз. Гнилое	<i>Phormidium sp.</i> , <i>Gloeocapsa sp.</i> , <i>Microcystis pulverea</i> (Wood) Elenk., <i>Spirullina sp.</i>
оз. Лапоть	<i>Phormidium sp.</i> , <i>Oscillatoria sp.</i>
ер. Сазаний	<i>Oscillatoria tenuis</i> Ag., <i>Oscillatoria subtilissima</i> Kutzing, <i>Oscillatoria sp.</i> , <i>Phormidium sp.</i> , <i>Microcystis sp.</i>
ер. Рачий	<i>Oscillatoria sp.</i> , <i>Gloeocapsa sp.</i>

Микроскопическое исследование накопительной культуры озера Лапоть показало присутствие нитчатых цианобактерий родов *Phormidium sp.*, *Oscillatoria sp.*

В накопительной культуре ерика Сазаний доминировали нитчатые осцилляториевые цианобактерии видов *Oscillatoria tenuis* Ag., *Oscillatoria subtilissima* Kutzing, *Oscillatoria sp.*, *Phormidium sp.* Минорными компонентами были цианобактерии *Microcystis sp.*

Микроскопическое исследование накопительной культуры ерика Рачий

показало присутствие нитчатых цианобактерий рода *Oscillatoria sp.* и колониальных форм вида *Gloeocapsa sp.*

Наиболее встречаемыми в накопительных культурах явились нитчатые цианобактерии рода *Oscillatoria*.

В фитопланктонных сообществах исследуемых водоемов часто встречаемыми являлись представители цианобактерий родов *Oscillatoria sp.*, *Phormidium sp.*

Исследования показали, что цианобактерии в накопительных культурах в замкнутых системах на основе воды естественных водоемов наращивают биомассу в виде фитопланктона, хлопьев, плёнок, налётов, и в течение длительного времени - матов.

#### **4.2.2. Особенности накопительных культур техногенных водоемов**

Для изучения образуемых цианобактериями сообществ, в лабораторных условиях применяли метод накопительных культур.

Исследования И.С. Держинской (1992, 1993, 1996), Г.Ю. Райской (2003); О.Б. Сопруновой (2005) показали, что в микроэкосистемах на основе воды исследуемых водоёмов, сточных вод, цианобактерии образуют сообщества в виде матов очень медленно, в течение нескольких лет. Образованная в виде мата структура, позволяет изучить структурообразователей, спутников, ассоциантов сообщества и их деструкционные свойства. В работах вышеперечисленных авторов было также показано, что чем выше содержание биогенных элементов, в частности азота и фосфора, в микроэкосистеме, тем быстрее цианобактерии образуют структуру в виде мата.

Исследуемые водоёмы, как показано выше, бедны азотом и фосфором, поэтому получение циано-бактериальных сообществ, имеющих замкнутую в пространстве структуру, даёт возможность исследовать видовой состав ассоциантов и структурообразователей. Для получения накопительной культуры цианобактерий, к воде исследуемого водоёма добавляли среду BG<sub>N</sub>-11. Таким



образом в накопительных культурах повышается содержание азота и фосфора, тем более что среда ВG<sub>N</sub>-11 по многочисленным исследованиям является одной из самых перспективных для культивирования цианобактерий и наращивания ими больших биомасс.

Необходимо отметить, что во всех накопительных культурах присутствовал сероводород в разных количествах от 0,0003 г/л в воде из озера Южное до 3,00 г/л в воде из окситенка.

Признаками роста накопительной культуры считали: помутнение среды, образование осадка, плёнки по урезу среды, обрастаний на стенках сосудов, хлопьев, матов.

В накопительных культурах через 20 дней культивирования было обнаружено помутнение среды и появление обрастаний на стенках зеленовато-коричневого цвета. Через 6 месяцев экспозиции сообщества цианобактерий представляли плёнки и хлопья зеленоватого оттенка. Структурообразователями выделенных сообществ на основе воды озера Мраморное, при pH 6, минерализации 383,65 г/л, концентрации магния 30,37 г/л, кальция 4,08 г/л, сероводорода 0,004-0,030 г/л, хлоридов 195,03 г/л. явились цианобактерии *Phormidium henningii* и *Spirulina subtilissima* (табл. 8, рис. 3).

Накопительная культура озера Северное по истечении 15 дней экспозиции представляла собой обрастания на стенках и дне сосуда. Сегменты налёта, помещённого в экспериментальные сосуды, покрывались обрастаниями ярко-зелёного цвета и визуально увеличивали свою биомассу. Через 6 месяцев экспозиции в накопительной культуре цианобактерии образовали мат высотой 1 см. Основными эдификаторами выделенного циано-бактериального сообщества, культивируемого на воде озера Северное, при концентрации сероводорода 0,02 - 0,03 г/л, минерализации 6,20 г/л и щелочной реакции среды pH=9, являются *Phormidium valderiae* и *Phormidium tenuissimum*, присутствует также *Oscillatoria ornata*, из одноклеточных *Synechocystis* sp. (рис. 4).

В накопительной культуре озера Южное через 20 суток экспозиции по урезу среды была обнаружена плёнка розового и зелёного цвета и небольшие малиновые и зелёные пятна на стенках сосудов. Через 6 месяцев экспозиции в накопительной культуре образовался мат, высотой 2 см. Основу мата составляют трихомные цианобактерии, идентифицированные как *Phormidium valderiae*, *Phormidium tenue*, *Phormidium tenuissimum*, *Oscillatoria ornata*, культивируемые при меньшей в 33 раза, чем в озере Северном, концентрации сероводорода, более высокой в 15,5 раза минерализации и других экстремальных факторах, характеризующих воду озера Южное: содержания хлоридов - 44,729 г/л, сульфатов - 14,169 г/л, кальция - 1,264, магния - 3,981 г/л (табл. 8, рис. 5).

В накопительных культурах ЕСР и ЗПО по прошествии 20 дней экспозиции были отмечены следующие признаки роста: резкое помутнение среды, появление налёта по урезу среды, стенки и дно сосудов покрылись обрастаниями яркого сине-зелёного цвета. Образование матов в микроэкосистемах ЕСР и ЗПО произошло через 7 месяцев. При инкубировании полученных матов на воде ЗПО, с содержанием сероводорода - 0,0006 - 0,030 г/л, минерализации - 4,2 г/л и сульфатов - 0,160 - 0,742 г/л, эдификатором является *Phormidium valderiae*, трихомы которого переплетены с нитями *Phormidium tenuissimum* и *Phormidium tenue*, а также имеются гроздевидные скопления одноклеточных *Synechococcus* sp. (рис. 7). В накопительной культуре на основе воды ЕСР, при содержании в ней сероводорода - 0,02-0,04 г/л, минерализации - 2,0 г/л и щелочной реакции среды рН 9, доминирующей формой выделенного сообщества являются нитчатые *Phormidium tenuissimum*, среди которых присутствует незначительное количество одноклеточных *Synechocystis salina* (рис. 6).

В окситенке очистных сооружений ГПЗ Сопруновой в 1997 году были обнаружены обрастания сине-зелёного цвета. В микроэкосистемах на основе воды окситенка очистных сооружений АГПЗ, содержащей 0,040 - 3,000 г/л - сероводорода, 0,200 - 0,776 г/л - сульфатов, 0,0045 - 0,040 г/л - нефтепродуктов,

при добавлении 1 грамма обрастаний через 6 месяцев была получена накопительная культура в виде рыхлых, нечетко структурированных матов, исследования которых показали, что основой их структуры являются цианобактерии рода *Oscillatoria* sp.

Таблица 8 - Эдификаторы сообществ техногенных накопительных культур

Накопительная культура	Виды эдификаторов
озеро Мраморное	<i>Phormidium Henningsii</i> Lemm., <i>Spirulina subtilissima</i> Kutz.
озеро Северное	<i>Phormidium valderiae</i> (Delp.) Geitl., <i>Oscillatoria ornata</i> (Kutz.) Gom., <i>Phormidium tenuissimum</i> Woronich., <i>Synechocystis</i> sp.
озеро Южное	<i>Phormidium valderiae</i> (Delp.) Geitl., <i>Phormidium tenue</i> Gom., <i>Phormidium tenuissimum</i> Woronich., <i>Oscillatoria ornata</i> (Kutz.) Gom.
ЗПО	<i>Phormidium valderiae</i> (Delp.) Geitl., <i>Phormidium tenue</i> Gom., <i>Phormidium tenuissimum</i> Woronich., <i>Synechococcus</i> sp.
ЕСР	<i>Phormidium tenuissimum</i> Woronich., <i>Synechocystis salina</i> Wisl.
окситенк очистных сооружений АГПЗ	<i>Oscillatoria</i> sp.
первый пруд-отстойник очистных сооружений АЦКК	<i>Oscillatoria formosa</i> Bory, <i>Schizothrix calcicola</i> (Ag.) Gom.

В первом пруду-отстойнике очистных сооружений АЦКК Дзержинской в 1986 году были отмечены единичные клетки цианобактерий в виде фитопланктона, которые в микроэкосистемах на основе воды пруда-отстойника при концентрации сероводорода – 0,020 - 0,030 г/л, нефтепродуктов 0,032 - 0,049 г/л, магния – 68,339 г/л и щелочной реакции среды через 2 года 6 месяцев образовали циано-бактериальные сообщества в виде эластичных матов толщиной от 1 до 3 мм. Исследования матов показали, что эдификаторами являются цианобактерии, идентифицированные как *Oscillatoria formosa*, *Schizothrix calcicola*.

Полученные сообщества культивируется в течение многих лет в лаборатории на сточных водах и среде ВГ<sub>N</sub>-11.

Для постановки накопительных культур вышеназванных сообществ был взят раствор сточных вод и среды ВG<sub>N</sub>-11, куда помещали 1 грамм цианобактериальных сообществ, культивируемых на сточной воде. Образование матов на среде ВG<sub>N</sub>-11 произошло через год, после постановки накопительных культур.

Структурообразователями мата, выделенного из окситенка очистных сооружений ГПЗ являются цианобактерии, идентифицированные как *Phormidium tenuissimum*, одноклеточные *Synechocystis minuscula* и *Synechococcus elongatus* (табл. 9).

Таблица 9 - Смена доминантов сообществ при длительном культивировании на лабораторной среде ВG<sub>N</sub>-11

Водоёмы, из которых выделены сообщества	Доминанты сообщества, культивируемого на сточной воде	Доминанты сообщества, культивируемого на среде ВG <sub>N</sub> -11
Окситенк очистных сооружений АГПЗ	<i>Oscillatoria</i> sp.	<i>Phormidium tenuissimum</i> Woronich., <i>Synechocystis minuscula</i> Woronich., <i>Synechococcus elongates</i> Nag.
Первый пруд-отстойник очистных сооружений АЦКК	<i>Oscillatoria formosa</i> Bory, <i>Schizothrix calcicola</i> (Ag.) Gom.	<i>Phormidium tenuissimum</i> Woronich., <i>Synechocystis salina</i> Wisl.

Эдификаторами мата, выделенного из пруда-отстойника, явились цианобактерии *Phormidium tenuissimum* и *Synechocystis salina* (табл. 8).

Отсюда следует вывод, что в связи с отсутствием в среде ВG<sub>N</sub>-11 таких экстремальных ингредиентов, как сероводород, нефтепродукты, минерализация, в выделенных из окситенка ГПЗ и отстойника АЦКК сообществах, произошла смена структурообразователей. Результаты наших исследований подтверждают данные Заварзина (2003), о том, что доминирующие группы циано-бактериальных сообществ определяются физико-химическими условиями среды обитания, в основном жесткими факторами, в нашем случае – концентрацией сероводорода, солёностью, рН.

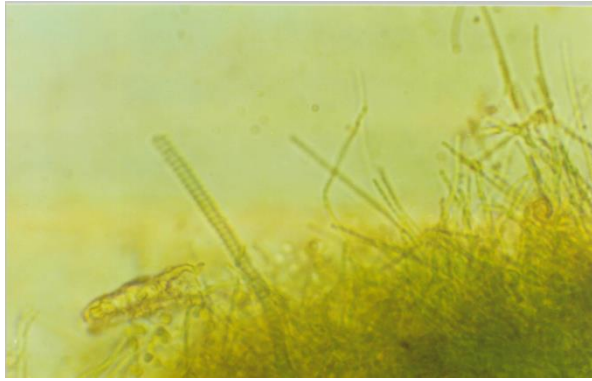


Рисунок 3 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из озера Мраморное (x400)

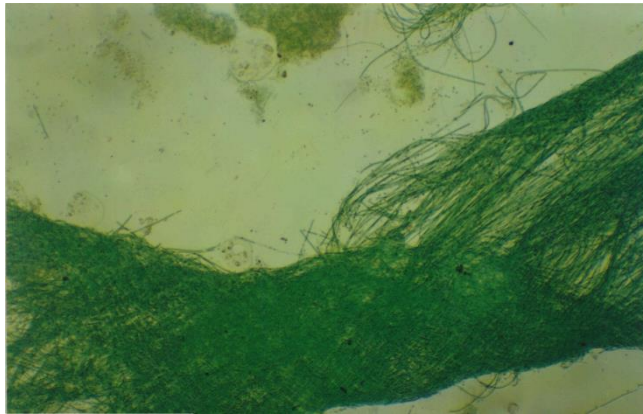


Рисунок 4 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из озера Северное (x120)

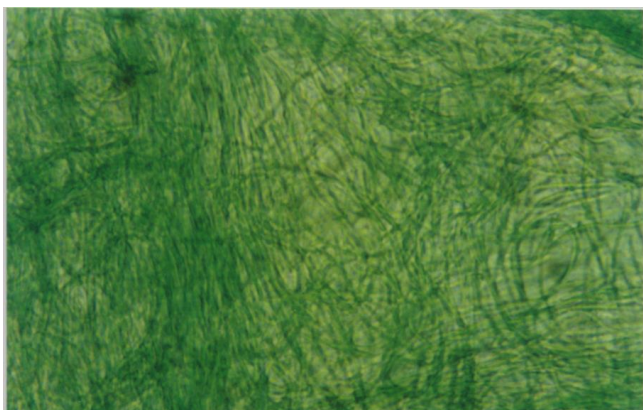


Рисунок 5 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из озера Южное (x600)

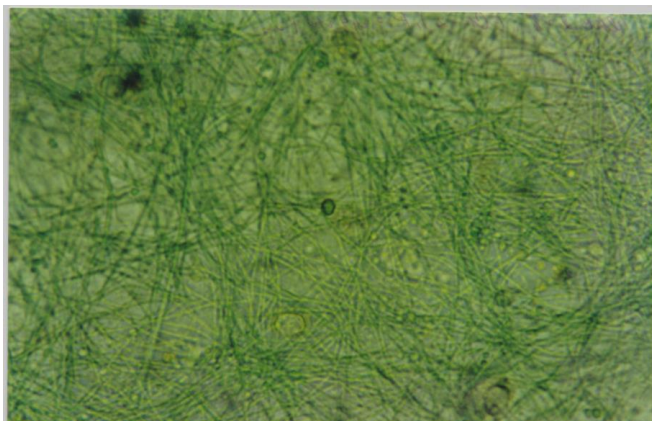


Рисунок 6 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из ЕСР (x600)

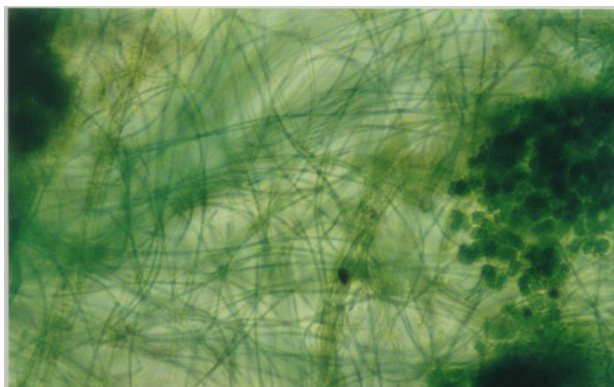


Рисунок 7 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из ЗПО (x600).

Анализ видового состава циано-бактериальных сообществ исследуемых накопительных культур показал, что каждый структурообразователь развивается в определённом диапазоне жёстких факторов.

*Phormidium tenuissimum* встречается во всех накопительных культурах и развивается при самом широком диапазоне рН от 7 до 9 и минерализации от 2,00 до 96,00 г/л, при самых высоких максимальных значениях сероводорода – 0,040 г/л и нефтепродуктов 0,013 г/л.

*Phormidium valderiae* встречается в трёх накопительных культурах, выделенных из: озера Северного, Южного и ЗПО и во всех трёх является эдификатором сообществ. Он развивается в основном при тех же условиях, что

и *Phormidium tenuissimum*, но с более узким спектром pH, сдвинутым в щелочную сторону, от 7 до 9 и минерализации от 4,00 до 96,00 г/л, и при меньшей концентрации нефтепродуктов в 1,7 раза меньше, чем *Phormidium tenuissimum*.

*Phormidium tenue* развивается в двух накопительных культурах на основе воды: озера Южного и ЗПО, в условиях, ещё более узкого значения pH сдвинутого в щелочную сторону (7,1-8,3), бикарбонатов от 0,4150 до 0,5740 г/л, кальция от 0,160 до 1,2640 г/л и магния от 0,2990 до 3,9810 г/л.

*Oscillatoria ornata* встречается в двух накопительных культурах, на воде озер Северного и Южного, с более щелочной нижней границей pH 7,7, с более узкими диапазонами значений хлоридов от 2,8490 до 44,7290 г/л, сульфатов от 0,5210 до 14,1690 г/л и минерализации от 6,20 до 96,00 г/л, при следовых значениях нефтепродуктов.

*Synechocystis salina* обнаружена в накопительных культурах на воде ЕСП и пруда-отстойника АЦКК. В сообществе из ЕСП *Synechocystis salina* развивается при самой низкой минерализации 2,00 г/л, значениях хлоридов в 39,5 раз и сульфатов в 30 раз меньше по сравнению с другими техногенными водоёмами, и при более узком диапазоне количества сероводорода от 0,020 до 0,040 г/л и нефтепродуктов от 0,0035 до 0,013 г/л.

*Synechocystis* sp. обнаружен только в накопительной культуре на воде озера Северного, имеющем pH = 9 и следовое количество нефтепродуктов.

*Synechococcus* sp. обнаружен только в накопительных культурах на воде ЗПО при значениях сероводорода, идентичных большинству исследуемых водоёмов - 0,030 г/л и при самом высоком содержании нефтепродуктов – 0,0076 г/л.

Выявлено, что в самом широком диапазоне гидрохимических факторов развиваются цианобактерии рода *Phormidium*, которые, по нашему мнению, обладают особой физиологической пластичностью и быстрым откликом на изменение физико-химических параметров среды. Следует отметить, что согласно литературным данным, выделенные цианобактерии рода *Phormidium* в

основном встречаются в стоячих водоемах. В более узком спектре гидрохимических показателей в накопительных культурах развиваются одноклеточные цианобактерии: *Synechocystis* sp., *Synechococcus* sp.

Исследования показали, что цианобактерии в исследуемых водных системах не наращивают биомассу в виде матов, кроме окситенка ГПЗ, а присутствуют в составе фитопланктона, плёнок, налётов и пятен. Образование матов в окситенке, по нашему мнению, связано с содержанием в нём аммонийного азота в 8,5 раз и фосфатов в 1,5 раза, превышающих значения этих соединений в водоёмах. Как известно, азот и фосфор – важнейшие биогенные элементы, определяющие продуктивность водных систем и являющиеся одними из главных лимитирующих факторов для роста фитопланктона в различных водных экосистемах. Цианобактерии способны усваивать нитраты, нитриты, азот аммонийный, органический и свободный. Фосфор поглощается клетками цианобактерий в меньшем количестве, чем азот, хотя также важен для них, как и азот (Hammer, 1964; Venkataraman, 1966). В литературе широко описана эвтрофикация водоёмов за счет поступления биогенных элементов - азота и фосфора, в результате чего начинается бурное развитие цианобактерий (Сиренко, 1970, 1972; Царенко, 1983; Андреюк и др., 1990; Кондратьева, 2001; Зайцева, Медведева, 2022; Carmichael, 1997; Facey et al., 2019). Наблюдения в течение 10 лет за культивированием и хранением циано-бактериальных сообществ показало, что в среде ВГ<sub>N</sub>-11 циано-бактериальные сообщества могут поддерживать свою жизнедеятельность, за счет того, что она обогащена азотом и фосфором.

Исследования циано-бактериальных сообществ в накопительных культурах показало, что они образуют структуры в виде матов. Такие структуры наблюдаются в микроэкосистемах на основе воды озер Северное, Южное, ЗПО, ЕСР, окситенка АГКМ и полей испарения АЦКК. В накопительной культуре на основе воды из озера Мраморное образовались циано-бактериальные сообщества в виде плёнок и хлопьев. В результате микробиологического



исследования матов, выяснилось, что по общей структуре и видовому составу, каждое из них представляет единое сообщество, куда наряду с цианобактериями входят и другие микроорганизмы. Эдификатором, или формообразующим компонентом, изучаемых сообществ являются образующие гликокаликс цианобактерии, которые представлены нитчатыми формами в виде волокон и хаотично переплетённых трихом, погружённых в слизь, в которую заключены и одноклеточные цианобактерии и другие бактерии. Основным свойством цианобактериальных матов является слоистая структура и вертикальное распределение функциональных групп микроорганизмов по слоям (Stal et al., 1985; Бактериальная палеонтология, 2002; Заварзин, 2003). Во всех сообществах, независимо от места обитания, можно выделить три зоны: аэробную – с развитием цианобактерий, строго анаэробную – с развитием сульфидогенов и метаногенов, и промежуточную – с развитием факультативных аэробов. Наши исследования подтверждают данное высказывание. В выделенных матах визуально обнаружена слоистая структура. С помощью микробиологических исследований выяснилось, что в оксигенной зоне всех исследуемых сообществ, кроме цианобактерий, обнаружены ещё азотфиксирующие и нитрифицирующие бактерии; во втором слое обнаружены сапротрофы, бесцветные бактерии, аноксигенные фототрофы, в частности пурпурные; в анаэробной зоне присутствуют сульфатредуцирующие бактерии.

#### **4.2.3. Физиологические группы микроорганизмов-спутников в составе техногенных сообществ**

##### **4.2.3.1. Бактерии – спутники круговорота серы**

Для исследования бактерий-спутников выбраны накопительные культуры, выделенные из техногенных водоемов на территории, подвергающейся интенсивной антропогенной нагрузке. Это водоемы ЕСР, ЗПО, озера Северное и Южное на территории Астраханского газового комплекса.

Как уже было сказано выше, наряду с цианобактериями в сообщество входят и другие микроорганизмы. Наблюдения за цианобактериями в культурах и получение аксенических культур свидетельствуют об ухудшении их роста при отсутствии сопутствующих микроорганизмов. Это подтверждает наличие симбиотических взаимоотношений в циано-бактериальном сообществе (Панкратова, 1981, 2001; Андреюк и др., 1990). Среди физиологических групп ассоциантов цианобактерий особый интерес представляют те, которые способствуют жизнедеятельности циано-бактериальных сообществ в техногенных водоёмах. Это, прежде всего микроорганизмы круговорота серы и азота.

Доминирующим циклом трофических взаимодействий в циано-бактериальном сообществе является цикл серы, сопряженный с циклом углерода, (Заварзин, 2003), который был описан ван Гемерденом (Van Gemerden, 1993). В трофических группировках циано-бактериального сообщества наблюдается тесная взаимозависимость между несколькими основными группами бактерий, располагающимися последовательно: 1) кислородными цианобактериями; 2) серобактериями; 3) аноксигенными фототрофами; 4) сульфатредуцирующими бактериями. Все циано-бактериальные маты развиваются в условиях повышенного содержания  $H_2S$ . Фототрофные бактерии (зелёные и пурпурные) осуществляют аноксигенный фотосинтез в экстремальных для роста цианобактерий условиях. В условиях, благоприятных для роста цианобактерий (солёности не выше 16%, щелочности не выше 8%, температуре не выше 45°C) (Герасименко, Ушатинская, 2002), они осуществляют органотрофный рост, окисляя продукты жизнедеятельности цианобактерий, или окисляют сероводород и, таким образом, участвуют в цикле серы. Занимая среднюю часть мата, эти микроорганизмы, с одной стороны, задерживают фотосинтетический кислород, поступающий от цианобактерий, с другой, защищают последних от сероводорода, который продуцируется

сульфатредукторами в нижних слоях мата. Сероводород окисляют также и бесцветные бактерии, находясь в верхней аэробной зоне мата.

При исследовании в техногенных циано-бактериальных сообществах бактерий цикла серы, рядом авторов были выделены следующие физиологические группы: аноксигенные фототрофы: пурпурные и зелёные серобактерии, бесцветные и сульфатредуцирующие (Держинская, 1993).

В исследуемых циано-бактериальных сообществах исследовали наличие микроорганизмов следующих физиологических групп: сульфатредуцирующие, бесцветные, тионовые, аноксигенные фототрофы и протеолитические.

Количественный учет выделенных физиологических групп микроорганизмов показал превалирование численности бесцветных бактерий во всех циано-бактериальных сообществах по сравнению с другими группами. По нашему мнению, это связано с присутствием в среде сероводорода, что подтверждается высокой численностью протеолитических бактерий и присутствием сульфатредукторов, в результате деятельности которых выделяется сероводород.

Во всех исследованных сообществах обнаружена небольшая численность сульфатредуцирующих бактерий от  $6,5 \times 10^2$  до  $1,3 \times 10^4$  кл/г. Несмотря на присутствие сульфатов от 4,7 г/л до 14,2 г/л, лимитирующим фактором для их развития, по нашему мнению, являются аэробные условия в исследуемых техногенных водоемах.

В сообществах из ЕСР и озера Северное преобладающими являются бесцветные  $1,3 \times 10^8$  кл/г и протеолитические бактерии  $3,0 \times 10^7$  кл/г и  $1,3 \times 10^7$  кл/г, соответственно, при численности сульфатредуцирующих от  $6,5 \times 10^2$  кл/г и  $1,3 \times 10^4$  кл/г, соответственно (табл. 9). В сообществе из ЗПО численность тионовых, аноксигенных фототрофов и протеолитических бактерий определена на одном уровне  $6,5 \times 10^5$  кл/г.

Сравнение численности микроорганизмов различных физиологических групп в рассматриваемых сообществах, показало, что наибольшее количество

аноксигенных фототрофов выделено в сообществе из ЕСР -  $6,5 \times 10^6$  кл/г, при этом количество сульфатредуцирующих не превышает -  $6,5 \times 10^2$  кл/г (табл. 10). Количество сероводорода в ЕСР, по сравнению с другими водоемами, является высоким 0,04 г/л, возможно, этим и обусловлено интенсивное развитие анаоксигенных фототрофов. Равнозначное количество анаоксигенных фототрофов обнаружено в сообществе из озера Северное, Южное, ЗПО -  $6,5 \times 10^5$  кл/г, сульфатредуцирующих в сообществе из озера Южное и ЗПО -  $1,3 \times 10^3$  кл/г, бесцветных во всех исследуемых сообществах. Наибольшее количество протеолитических бактерий в наших исследованиях обнаружено в сообществе из озера Северное -  $1,3 \times 10^8$  кл/г, а в сообществе из озера Южное оно снижается почти в 2 раза -  $3,0 \times 10^4$  кл/г, что, связано с высокой минерализацией в этом озере - 96,0 г/л. Количество тионовых бактерий в сообществе из ЕСР и озера Южное не превышало -  $1,3 \times 10^4$  кл/г и  $2,5 \times 10^4$  кл/г.

Таблица 10 - Численность бактерий-спутников цикла серы в исследуемых сообществах

Физиологическая группа цикла серы	Численность бактерий-спутников, кл/г			
	ЕСР	Северное	Южное	ЗПО
Тионовые	$1,3 \times 10^4$	$1,3 \times 10^6$	$2,5 \times 10^4$	$6,5 \times 10^5$
Бесцветные серобактерии	$1,3 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$
Сульфатредуцирующие	$6,5 \times 10^2$	$1,3 \times 10^4$	$1,3 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$
Аноксигенные	$6,5 \times 10^6$	$6,5 \times 10^5$	$6,5 \times 10^5$	$6,5 \times 10^5$
Протеолитические	$3,0 \times 10^7$	$1,3 \times 10^8$	$3,0 \times 10^4$	$6,5 \times 10^5$

В результате, среди физиологических групп бактерий, участвующих в круговороте серы, из техногенных циано-бактериальных сообществ были выделены протеолитические, участвующие в деструкции органических соединений; тионовые и бесцветные, окисляющие сероводород, тиосульфат и/или молекулярную серу с образованием политионатов и сульфатов; анаоксигенные фототрофы, окисляющие сероводород и другие соединения серы; сульфатредуцирующие, играющие важную роль в минерализации органического

вещества и являющиеся основным анаэробным продуцентом сероводорода водных экосистем.

#### 4.2.3.2. Бактерии-спутники круговорота азота

Для нормальной жизнедеятельности сообществ важен также цикл азота. Цианобактерии и их бактериальные ассоцианты, участвуют в круговороте азота, осуществляя трансформацию азотсодержащих веществ органического и минерального происхождения. Цианобактерии служат постоянно возобновляющимся источником энергетического материала для бактерий цикла азота, кроме того эти бактерии повышают уровень углекислого газа и понижают уровень кислорода, разлагают органическое вещество. Денитрифицирующие бактерии обитают в аноксигенных условиях сообщества, возвращая азот в атмосферу. Микроорганизмы сообщества могут осуществлять все реакции окисления и восстановления элементарного азота и азотистых соединений, трансформируя одну форму в другую (от  $\text{NH}_3$  до  $\text{NO}_3$ ), и цианобактерии играют в этом круговороте не последнюю роль. Они могут использовать различные источники азота: аммонийный, аминокислоты, нитраты и нитриты (Flores, Herrero, 1994).

Исследования И.С. Держинской (1993), О.Б. Сопруновой (2005) показали, что бактерии цикла азота были выделены из техногенных циано-бактериальных сообществ.

В изучаемых сообществах также исследовали присутствие физиологических групп круговорота азота: азотфиксаторов, аммонификаторов, нитрификаторов, денитрификаторов.

Исследования показали, что при посеве комочков из всех накопительных культур, около многих из них наблюдается образование слизистых колоний. Процент обрастания комочков цианобактерий азотфиксирующими бактериями составлял от 75% до 85%. Кроме того, был отмечен рост исследуемых тяжей, что

говорит о присутствии в качестве ассоциантов циано-бактериального сообщества азотфиксирующих цианобактерий.

Количественный учет показал максимальную численность нитрифицирующих бактерий  $1,3 \times 10^8$  кл/г во всех исследуемых циано-бактериальных сообществах (табл. 10). По нашему мнению, это связано с достаточно высоким количеством аммонийного азота в водоемах (Южное - 0,003 г/л, ЕСР – 0,009 г/л, ЗПО – 0,008 г/л, Северное – 0,007 г/л), а также развитием большого количества аммонифицирующих бактерий от  $3,0 \times 10^4$  кл/г до  $1,3 \times 10^8$  кл/г, которые в процессе своей жизнедеятельности выделяют аммиак. Денитрифицирующие бактерии не обнаружены в сообществе из озера Южное. Невысокая численность денитрифицирующих бактерий в остальных сообществах от  $1,3 \times 10^2$  кл/г ц/б до  $6,5 \times 10^4$  кл/г ц/б, возможно лимитируется аэробными условиями в исследуемых водоемах (табл. 11).

Сообщество из озера Северное отличается, по сравнению с другими, превалированием численности аммонификаторов  $1,3 \times 10^8$  кл/г, нитрификаторов  $1,3 \times 10^8$  кл/г и азотфиксаторов 85%, при численности денитрификаторов  $1,3 \times 10^2$  кл/г. В сообществе из озера Южное аммонифицирующие бактерии составляли  $3,0 \times 10^4$  кл/г.

Сравнение численности микроорганизмов физиологических групп в рассматриваемых сообществах показало доминирование в сообществе из ЕСР денитрифицирующих -  $6,5 \times 10^4$  кл/г, а из озера Северное аммонифицирующих бактерий  $1,3 \times 10^8$  кл/г, количество которых в сообществе из озера Южное достигало  $3,0 \times 10^4$  кл/г.

Таким образом, из техногенных циано-бактериальных сообществ были выявлены азотфиксирующие, которые обладают способностью усваивать молекулярный азот; аммонифицирующие, играющие большую роль в минерализации азота; нитрифицирующие, участвующие в окислении аммиака до азотной кислоты; и денитрифицирующие бактерии, обеспечивающие возвращение азота в атмосферу.

Таблица 11 - Численность бактерий-спутников цикла азота в исследуемых сообществах

Физиологическая группа цикла азота	Численность бактерий-спутников, кл/г			
	ЕСР	Южное	Северное	ЗПО
Аммонификаторы	$3 \times 10^7$	$3 \times 10^4$	$1,3 \times 10^8$	$6,5 \times 10^5$
Нитрификаторы	$1,3 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$
Денитрификаторы	$6,5 \times 10^4$	-	$1,3 \times 10^2$	$1,0 \times 10^4$
Азотфиксаторы	% обрастания дерновинок			
	85	75	85	80

Известно, что жизнеспособность циано-бактериальных сообществ в неблагоприятных условиях обитания связана с их способностью развиваться в сообществе с другими микроорганизмами, особенно это проявляется на техногенных территориях. Микроорганизмы круговоротов серы и азота в исследуемых сообществах способствуют их жизнедеятельности в техногенных водоемах на территории АГК с высоким содержанием сероводорода.

#### 4.2.3.3. Сапротрофы галофильного сообщества

В солёных водоёмах развивается своеобразное сообщество, включающее относительно небольшое число видов микроорганизмов, приспособленных к развитию при высоких солёностях. В литературе широко описана галофильная цианобактерия *Microcoleus*, которая является объектом, привлекающим внимание микробиологов, поскольку циано-бактериальные маты с участием *Microcoleus* широко распространены в мире (Castenholz, Utkilen, 1984; Krumbein et al., 1994). Развивающееся в условиях переменной солёности, температуры и химического состава циано-бактериальное сообщество является весьма сложным консорциумом трофически связанных микроорганизмов, и выявление этих связей часто представляет собой нетривиальную задачу. Возможность симбиоза обусловлена колониальной слизью, в которой иммобилизованы

гетеротрофы. Полное освобождение цианобактерий от гетеротрофных спутников практически невозможно.

Существование бактерий в солёных условиях обусловлено осмотической устойчивостью этих организмов. Возможны две стратегии осмотической устойчивости. Одна заключается в активной откачке ионов натрия из клетки и замене ионов натрия на калий. Эта система установлена у аэробных галобактерий и некоторых анаэробных галофильных гетеротрофных бактерий (Oren, 1986). По второй стратегии «совместимые» органические соединения (Brown, 1976) пассивно удерживаются в пространстве, ограниченном цитоплазматической мембраной. Эти совместимые осморегуляторные вещества должны удовлетворять нескольким требованиям:

- 1) быть низкомолекулярными и их концентрация внутри клетки должна быть достаточно высокой, чтобы уравнивать внешнее давление;
- 2) быть совместимы с ферментами клетки, т. е. стабилизировать структуру белка;
- 3) быть электронейтральными и относительно инертными и лишь в малой степени участвовать во внутриклеточном метаболизме. Содержание этих веществ в клетках галофильных организмов должно нарастать пропорционально солёности в среде.

Таким образом, галофильное циано-бактериальное сообщество должно иметь присущий только ему обмен осморегуляторных веществ, которые при повышенной солёности составляют существенную часть биомассы и основную часть низкомолекулярных веществ (Жилина, Заварзин, 1991).

Умеренно галофильное циано-бактериальное сообщество выделено нами из озера Южное, в котором солёность составляет 96,0 г/л. Выяснилось, что это сообщество жизнеспособно при общем содержании солей 400 г/л, оптимально развивается при концентрации солей 70 г/л. Большой интерес представляют гетеротрофы-спутники данного циано-бактериального сообщества, осуществляющие деструкцию сложных органических веществ. Использование



потенциальных возможностей такого консорциума является перспективным направлением в совершенствовании технологий утилизации рассолов и тузлуков.

Обнаруженные культуры по культуральным, морфологическим и физиолого-биохимическим свойствам идентифицированы как представители рода *Bacillus*. Следовательно, представители рода *Bacillus* входят в состав бактерий спутников циано-бактериальных сообществ, культивируемых на среде с минерализацией 100 г/л.

### **4.3. Исследование видового состава цианобактерий и циано-бактериальных сообществ в почвенных экосистемах**

#### **4.3.1. Видовой состав цианобактерий почвенных экосистем**

Объектами исследования были выбраны почвы основных ландшафтов Астраханской области, образцы которых отобраны на территории право- и левобережья Волго-Ахтубинской поймы и остальной части Астраханской области.

Анализ водной вытяжки показал, что рН исследуемых почв находится в диапазоне 6,5-8,7 которая соответствует слабокислой и щелочной реакции среды (табл. 12). По величине плотного остатка все почвы, кроме солончаков относятся к незасоленному типу. Один из образцов бурой почвы (Ахтубинский район) по величине плотного остатка - 0,33% является слабозасоленным.

Накопительные культуры почвенных фототрофов получены во всех вариантах опытов. Всего выявлено 86 видов.

В результате проведенных исследований было установлено, что представители отдела *Cyanobacteria* составляют 71,3 % от общего числа изученных почвенных водорослей. Анализ всех почвенных образцов позволил выявить 64 вида цианобактерий, относящихся к 3 классам (*Chroococceae*, *Chamaeciphoneae*, *Hormogoneae*), 4 порядкам (*Chroococcales*, *Pleurocapsales*, *Nostocales*, *Oscillatoriales*), 9 семействам, 19 родам.

Таблица 12 - Характеристика районов исследования

Тип почв	Район исследования и место отбора проб	pH	Плотный остаток (%)
Светло-каштановые	Окрестности оз. Баскунчак	8,2	0,28
	Сухая полупустыня вблизи г Богдо и озера Баскунчак	8,1	0,23
	Искусственные посадки Сосны ( <i>Pinus</i> ) вблизи г. Богдо	7,9	0,19
Песчаные	Береговая линия р. Волги, Ахтубинский район	8,5	0,12
	береговая линия р. Ахтубы, Ахтубинский район	8,7	0,11
	Песчаная почва под полынью, п. Досанг, Харабалинский район	7,1	0,13
	Песчаная коса р. Бузан	7,5	0,11
Бурые полупустынные	Заросли Полыни ( <i>Artemisia</i> ) на антропогенном загрязненном участке, Харабалинский район	7,2	0,16
	Заросли Полыни ( <i>Artemisia</i> ) в полупустыне, Харабалинский район	7,7	0,15
	Почва под Полынью ( <i>Artemisia</i> ), Ахтубинский район	8,1	0,33
	Почва с/х использования, Енотаевского района	8,0	0,13
	Почва полупустыни, Енотаевский район	7,5	0,15
	Почва с/х использования, Володарский район	7,3	0,21
Аллювиальные луговые	Дубовый лес (Дуб черешчатый, <i>Quercus robur L.</i> ), Ахтубинский район	6,7	0,12
	Ивовый лес (Ива белая, <i>Salix alba</i> ), Ахтубинский район	6,7	0,12
	Тополиный лес (Тополь черный, <i>Populus nigra L.</i> ), Ахтубинский район	6,5	0,17
	Лоховый лес (Лох узколистный, <i>Elaeagnus angustifolia</i> ), Ахтубинский район	7,2	0,12
	Ясеньевый лес (Ясень пенсильванский <i>Fraxinus pennsylvanica</i> ), Камызякский район	6,6	0,17
Солончаки	Затопленная зона Володарского района	7,3	2,83
	Почва полупустыни вблизи федеральной трассы, Наримановский район	7,5	1,82
	Почва с/х назначения Икрянинский район	7,4	2,61
	Пастбище, сенокос, Лиманский район	7,3	1,40

В исследованных почвенных объектах Астраханской области, по видовому разнообразию лидирующее положение занимает семейство *Oscillatoriaceae* (31 видовых таксона) – 36,0% от числа обнаруженных видов. В число ведущих,

кроме того попадают 2 семейства, среди которых содержатся кокковые и колониальные формы (*Gloeocapsaceae*, *Microcystidaceae*). Основную долю представителей цианобактерий составляют виды родов: *Phormidium* (16), *Oscillatoria* (12), *Gloeocapsa* (10), *Microcystis* (3), *Anabaena* (3).

Меньшим числом видов отдела *Cyanophyta* отличаются рода *Cylindrospermum* (2), *Spirulina* (2), *Plectonema* (2), *Synechococcus* (2) и др. Среди зеленых водорослей идентифицированы рода *Chlorococcum* (4), *Scenedesmus* (4), *Chlorella* (2), *Bracteacoccus* (1) и др. Из диатомовых водорослей обнаружены рода *Pinnularia*, *Nitzschia*, *Navicula*, *Hantzschia*, *Spirogyra* sp.

Наибольшее число видов водорослей обнаружено в аллювиальных луговых и бурых полупустынных почвах. Цианобактерии занимают лидирующее положение, как по общему числу видов, так и по числу видов в каждом типе почв. Цианобактерии широко распространены в наземных экосистемах (Голлербах и др., 1953; Гаель, Штина, 1974; Костіков и др., 2001; Батаева и др., 2010; Давыдов, 2010; Бакиева и др., 2012). По данным Штиной и др. (1998) для всех пустынных почв характерно наибольшее видовое богатство и доминирующая роль цианобактерий из порядка *Oscillatoriales*. В солончаках и в бурых почвах присутствует максимальное количество цианобактерий 80,0%, по сравнению с другими водорослями. Меньшим числом видов отличаются светло-каштановые почвы.

Количество видов цианобактерий по отношению к зеленым водорослям в пустынных почвах является показателем аридности и экстремальности условий среды (Новичкова-Иванова, 1980; Гецен, 1985; Пивоварова и др., 2012). Долевое участие цианобактерий в максимальном выражении в 4,4 раза для бурых полупустынных почв, в 4,0 раза для солончаков и 3,2 раза для светло-каштановых почв больше, чем зеленых водорослей (табл. 13). Такие показатели близки к показателю 1:3,6 для Сахаро-Гобийской пустыни (Новичкова-Иванова, 1980; Пивоварова и др., 2012).

Таким образом, качественный состав фототрофных сообществ всех

исследованных почв отличается большим разнообразием и включает представителей цианобактерий, зеленых и диатомовых водорослей (табл. 14).

В исследованных аллювиальных луговых почвах лидирующее положение занимает цианобактерии 71,1 %, зеленые водоросли составляют 26,5 % (табл. 14). Диатомовые водоросли составляют 2,4 %.

В накопительных культурах аллювиально-луговых почв обнаружено большое разнообразие цианобактерий и водорослей. Общее число видов составляет 83 (табл. 13). Микроскопическое исследование накопительных культур на аллювиально-луговой почве показало доминирование кокковых зеленых водорослей рода *Chlorella* на среде Бристоль.

Таблица 13 - Число видов цианобактерий и водорослей в почвах разных типов Астраханского региона

Типы почв	Число видов, %			Долевое участие (цианобактерии : зеленые)	Общее число видов
	Цианобактерий	Зеленых водорослей	Диатомовых водорослей		
Аллювиальные луговые	71,1	26,5	2,4	2,7:1	83
Бурые полупустынные	80,0	18,6	1,4	4,4:1	70
Светло каштановые	76,2	23,8	-	3,2:1	21
Песчаные	51,0	38,8	10,2	1,3:1	49
Солончаки	80,0	20,0	-	4,0:1	25

На среде BG -11 преобладают нитчатые цианобактерии родов *Phormidium* и *Plectonema*, в присутствии родов *Gloeocapsa*, *Oscillatoria*, *Chroococcus* и др. Встречается вид *Synechococcus elongates*, который распространен на влажных почвах (John et al., 2005). На среде Громова 6 доминирующими явились нитчатые цианобактерии родов *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Anabaena* и *Plectonema*, также здесь обнаружены диатомовые водоросли рода *Pinnularia*. В аллювиальной луговой почве ясеневое леса преобладают трихомные формы рода *Phormidium*, *Oscillatoria*, *Plectonema* и азотфиксирующие виды родов *Nostoc* и *Anabaena*. По данным Штиной и др. (1998) и Штиной и Голлербаха (1976) после спада воды на поверхности пойменной почвы остаются макроскопические колонии цианобактерий рода *Nostoc*.

Таблица 14 - Состав фототрофов в почвах Астраханского региона

	Цианобактерии, зеленые и диатомовые водоросли	Встречаемость в почвах				
		ал. луг.	св.-кашт.	бур. полуп.	песч.	солон.
1	<b>Цианобактерии</b> <i>Phormidium faveolarum</i> Gom.	+	+	+	+	
2	<i>Phormidium tenue</i> Gom.	+		+	+	
3	<i>Phormidium retzii</i> Gom.	+	+	+	+	
4	<i>Phormidium inundatum</i> Kütz. ex Gom.	+		+		
5	<i>Phormidium autumnale</i> Gom.	+				+
6	<i>Phormidium ambigum</i> Gom. ex Gom.	+		+	+	
7	<i>Phormidium bohneri</i> Kütz. ex Gom.	+	+	+		
8	<i>Phormidium molle</i> Gom.	+	+		+	
9	<i>Phormidium gelatinosum</i> Woronich.			+	+	
10	<i>Phormidium frigidum</i> Kütz. ex Gom.	+		+		
11	<i>Phormidium mucicola</i> Hub.-Pest. et Naum.				+	
12	<i>Phormidium tenuissimum</i> Woronich.	+				
13	<i>Phormidium boryanum</i> Kütz. sensu Star.	+				
14	<i>Phormidium laminosum</i> Gom.	+			+	
15	<i>Phormidium solitare</i> Rabenh.	+				
16	<i>Phormidium</i> sp.	+	+	+	+	+
17	<i>Oscillatoria mucicola</i> Woronich.	+	+	+		
18	<i>Oscillatoria attenuata</i> Woronich.			+		
19	<i>Oscillatoria chlorina</i> Gom.		+			
20	<i>Oscillatoria subtilissima</i> Kütz.				+	
21	<i>Oscillatoria Woronichinii</i> Anissim.	+	+			
22	<i>Oscillatoria tenuis</i> Ag.	+				
23	<i>Oscillatoria annae</i> van Goor	+				
24	<i>Oscillatoria sancta</i> Gom.	+				

25	<i>Oscillatoria irrigua</i> Gom.	+				
26	<i>Oscillatoria tambi</i> Woronich.	+				
27	<i>Oscillatoria. rupicola</i> Hansg.			+		
28	<i>Oscillatoria</i> sp.	+		+		+
29	<i>Gloeocapsa magma</i> Kütz. emend Hollerb.	+	+	+	+	
30	<i>Gloeocapsa minuta</i> ( Kütz.) Hollerb. ampl.	+		+	+	
31	<i>Gloeocapsa montana</i> Kütz. ampl. Hollerb.			+		
32	<i>Gloeocapsa rupestris</i> Kütz.	+				
33	<i>Gloeocapsa compacta</i> Kütz.	+				
34	<i>Gloeocapsa alpine</i> Nag. Emend. Brand	+				
35	<i>Gloeocapsa turgida</i> Kütz. Hollerb.emend	+				
36	<i>Gloeocapsa minor</i> ( Kütz.) Hollerb. ampl.		+			
37	<i>Gloeocapsa punctata</i> Nag. Ampl. Hollerb.				+	
38	<i>Gloeocapsa</i> sp.	+		+	+	
39	<i>Chroococcus</i> sp.	+		+	+	
40	<i>Microcystis aeruginosa</i> Kütz. emend. Elenk.			+		
41	<i>Microcystis pulverea</i> Forti emend Elenk.	+				
42	<i>Microcystis</i> sp.	+	+	+	+	
43	<i>Stratonostoc linckia</i> Elenk.			+		
44	<i>Stratonostoc</i> sp.	+				
45	<i>Nostoc</i> sp.	+		+		+
46	<i>Anabaena variabilis</i> Kütz.	+		+		+
47	<i>Anabaena macrospore</i> Kleb.	+			+	
48	<i>Anabaena</i> sp.	+		+	+	+
49	<i>Amorphonostoc</i> sp.	+				
50	<i>Cylindrospermum stagnale</i> Born. et Flah.	+				
51	<i>Cylindrospermum alatosporum</i> F.E.Fritsch					+
52	<i>Plectonema nostocorum</i> Born.	+		+		

53	<i>Plectonema boryanum</i> Gom.			+		
54	<i>Synechocystis</i> sp.	+		+		
55	<i>Synechococcus elongates</i> Nag.	+				
56	<i>Synechococcus</i> sp.	+				
57	<i>Spirulina tenuior</i> Kirchner	+		+		
58	<i>Spirulina jeneri</i> Elenk.			+		
59	<i>Pleurocapsa</i> sp.				+	
60	<i>Scytonema</i> sp.	+				
61	<i>Microcoleus vaginatus</i> Gom.		+			
62	<i>Microcoleus</i> sp.		+			
63	<i>Lyngbya endophytica</i> Elenk. et Hollerb.	+				
64	<i>Chroococcopsis gigantean</i> Geitl.					+
<b>Зеленые водоросли</b>						
65	<i>Chlorella vulgaris</i> Beijerinck	+		+	+	
66	<i>Chlorella</i> sp.	+	+	+	+	+
67	<i>Binuclearia lauterbornii</i> Prosch.-Lavr.	+				
68	<i>Bracteacoccus minor</i> (Chodat) Petrova	+				+
69	<i>Chlorococcum hypnosporum</i> Starr			+	+	+
70	<i>Chlorococcum humicola</i> (Nägeli) Rabenhorst	+				
71	<i>Chlorococcum infusionum</i> (Schrang) Meneghini	+				
72	<i>Chlorococcum</i> sp.	+	+	+	+	+
73	<i>Scenedesmus quadricauda</i> (Turpin) Brébisson	+		+	+	
74	<i>Scenedesmus obliquus</i> Kütz.	+			+	
75	<i>Scenedesmus hystrix</i> H.Alten				+	
76	<i>Scenedesmus</i> sp.			+	+	
77	<i>Tetraspora</i> sp.	+				
78	<i>Chlamydomonas</i> sp.	+				
79	<i>Chlorohormidium flaccidium</i> A.Braun	+				

80	<i>Coenocystis planctonica</i> Korsh.				+	
81	<i>Coenocystis</i> sp. <b>Диатомовые водоросли</b>				+	
82	<i>Pinnularia borealis</i> Hustedt	+			+	
83	<i>Spirogyra</i> sp.			+		
84	<i>Hantzschia</i> sp.				+	
85	<i>Nitzschia</i> sp.				+	
86	<i>Navicula</i> sp.				+	

Водоросли занимают минорную часть. В аллювиальной луговой почве лохового леса преобладают азотфиксирующие трихомные формы родов *Anabaena* и *Plectonema*.

Микроскопическое исследование аллювиально-луговой почвы дубового и ивового лесов показало доминирование кокковых зеленых водорослей рода *Chlorella* на средах Бристоль и Успенского. На среде BG -11 преобладают цианобактерии рода *Gloeocapsa* и *Phormidium*, в присутствие родов *Oscillatoria*, *Chroococcus*, *Chlorococcum* и *Scenedesmus*. На среде Громова 6 дубового леса доминирующими явились нитчатые цианобактерии рода *Oscillatoria*, также здесь обнаружены диатомовые водоросли рода *Pinnularia*, которые встречаются в пустынных сухих корочках (Flechtner et al., 2008).

Микроскопическое исследование светло-каштановой почвы показало преобладание кокковых зеленых водорослей рода *Chlorella* на среде Успенского, и цианобактерий родов *Microcoleus*, *Gloeocapsa*, *Phormidium*, *Oscillatoria* на средах BG – 11, Бристоль, Громова 6 в присутствии рода *Microcystis*. На среде Бристоль обнаружен только один колониальный вид цианобактерий рода *Gloeocapsa*.

В бурой полупустынной почве лидирующее положение занимают цианобактерии, они составляют 80% от общего числа идентифицированных видов. Зеленые водоросли составляют 18,6 %, диатомовые – 1,4%.

Микроскопическое исследование бурой почвы Ахтубинского района



показало преобладание нитчатых цианобактерий рода *Phormidium* на средах Успенского и Громова 6. На среде BG - 11 доминируют колониальные формы цианобактерий, представленные двумя родами *Gloeocapsa* и *Microcystis*. На среде Бристоль признаки роста отсутствовали. В целом для данной почвы отмечено превалирование нитчатых цианобактерий рода *Phormidium*.

Микроскопическое исследование бурой полупустынной почвы сельскохозяйственного использования Енотаевского района показало преобладание нитчатых цианобактерий рода *Phormidium* на средах BG – 11 и Успенского. На среде Громова 6 преобладают колониальные цианобактерии рода *Microcystis* в присутствии нитчатых цианобактерий рода *Oscillatoria*.

Микроскопическое исследование бурой полупустынной почвы Енотаевского района показало доминирование колониальных цианобактерий рода *Gloeocapsa* на среде BG – 11 в присутствии рода *Chroococcus*. На среде Успенского доминируют азотфиксирующие цианобактерии рода *Anabaena*, на среде Громова 6 - нитчатые цианобактерии рода *Oscillatoria*.

Микроскопическое исследование бурой полупустынной почвы сельскохозяйственного использования Володарского района показало доминирование зеленых водорослей рода *Chlorococcum* на средах Бристоль, BG – 11 и рода *Chlorella* на среде Громова 6. На этих же средах обнаружено присутствие цианобактерий рода *Spirulina*, которые являются сложно выделяемыми в лабораторных условиях формами. На среде Успенского присутствуют только цианобактерии рода *Phormidium*. В целом доминируют кокковые зеленые водоросли, которые принимают активное участие в формировании данного цианобактериально – водорослевого сообщества.

В бурых полупустынных почвах Харабалинского района преобладают представители рода *Phormidium*.

В песчаных почвах зеленые водоросли обнаружены в самом большом количестве 38,8%, в сравнении с другими почвами. Цианобактерии составляют 52% от общего числа идентифицированных видов.

Видовой состав песчаных почв полупустыни Харабалинского района (п. Досанг) представлен родами *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Gloeocapsa*, *Microcystis* и *Phormidium*. Отмечено, что вид *Phormidium foveolarum* (Mont.) Gom., который встречается в данной почве, характерен для сухой песчаной поймы р. Шивилиг-Хем (Тува) (Пивоварова и др., 2012). Род *Chlorella* доминирует на средах Бристоль, BG – 11 и Успенского, а на среде Громова 6 доминируют колониальные цианобактерии рода *Microcystis*. В почвах береговых линий микроскопическое исследование показало преобладание, как зеленых водорослей родов *Scenedesmus* и *Chlorella*, так и цианобактерий родов *Phormidium*, *Anabaena*, *Gloeocapsa*.

Микроскопическое исследование солончаков показало преобладание нитчатых и гетероцистных цианобактерий родов *Phormidium*, *Nostoc*, *Cylindrospermum*. На среде Бристоль и Громова 6 доминируют азотфиксирующие цианобактерии рода *Cylindrospermum*, *Nostoc*, *Anabaena*, здесь также обнаружены зеленые водоросли рода *Chlorella*, *Bracteacoccus*, в частности *Bracteacoccus minor* – который является видом – космополитом (Костиков и др., 2001; Ettl, Gärtner, 1995). Водорослевые сообщества в солончаках развиваются в зависимости от степени и химизма засоления (Звягинцев, Зенова, 2007). Род *Nostoc* часто встречается в корках водорослей в пустынях (Turkey, Adhikary, 2005). На средах BG – 11 и Успенского наблюдается преобладание трихомных цианобактерий рода *Phormidium*, *Oscillatoria*, а также конгломератов *Chroococcopsis*. Известно, что в солончаках преобладают солеустойчивые цианобактерии (Штина, Голлербах, 1976; Штина и др., 1998).

Проведенные исследования показали, что цианобактерии рода *Phormidium* и *Oscillatoria* отличаются значительным видовым разнообразием и являются широко распространенными в наземных экосистемах формами (Давыдов, 2010; Зенова, Штина, 1990; Костиков и др., 2001; Lund, 1945). В почвах аридных территорий, в том числе в почвах Нижнего Поволжья среди водорослей доминируют цианобактерии рода *Phormidium* (Штина, Голлербах, 1976).

Меньшим числом видов представлен отдел *Baccillariophyta*.

Анализ видового состава альгофлоры показал, что к числу наиболее распространенных видов относятся *Phormidium faveolarum*, *Phormidium tenue*, *Phormidium retzii* – космополит (Komárek, Anagnostidis, 2005), *Phormidium ambiguum*, *Phormidium inundatum*, *Phormidium bohneri*, *Oscillatoria woronchnii*, *Oscillatoria mucicola*, *Gloeocapsa magma*, *Gloeocapsa minuta*, *Anabaena variabilis*, *Plectonema nostocorum*.

В результате анализа экологических особенностей обнаружено доминирование Р – жизненной формы, к которой относится род *Phormidium*. Это нитевидные цианобактерии, не образующие слизи, рассеянные в толще почвы, ксерофиты, устойчивые против засухи.

Оценка общности видового состава цианобактерий и зеленых водорослей в изучаемых типах почв по индексам сходства Жаккара и Съёренсена-Чекановски (табл. 15) показала, что максимальный коэффициент сходства составил 0,54 и 0,37 для цианобактерий, и 0,80-0,67 для зеленых водорослей.

Наибольшее сходство цианобактерий отмечалось в бурых полупустынных и аллювиальных луговых почвах 0,37 и 0,54, бурых полупустынных и песчаных 0,36 и 0,53. Необходимо отметить, что в бурых полупустынных и аллювиальных луговых почвах наблюдалось наибольшее биологическое разнообразие цианобактерий, индекс Шеннона составил 4,44 и 4,30, соответственно.

Но количество гумуса в верхних горизонтах, которое зачастую является основополагающим для развития микроорганизмов, выше в аллювиальных луговых почвах – 4,8%, чем в бурых полупустынных почвах – 0,5%.

Возможно, сходство видов связано с наименьшей засоленностью почвы и нейтральной реакцией среды. Высокие коэффициенты сходства 0,36 и 0,53 для бурых полупустынных и песчаных почв обоснованы схожим содержанием гумуса в диапазоне от 0,19 до 1,50 %, а также близким территориальным расположением почв.

Таблица 15 - Сходство видового состава цианобактерий и зеленых

водорослей в разных типах почв, оцененное по индексам сходства Жаккара (**полужирный шрифт**) и Сьёренсена-Чекановски (*курсив*).

Цианобактерии / зеленые водоросли	Аллюв. луговые	Бурые полупуст.	Светло- каштан.	Песчан.	Солонч.
Аллювиал. луговые	х	<b>0,37/0,27</b>	<b>0,16/0,15</b>	<b>0,27/0,29</b>	<b>0,17/0,21</b>
Бурые полупуст.	<i>0,54/0,42</i>	х	<b>0,20/0,33</b>	<b>0,36/0,67</b>	<b>0,25/0,43</b>
Светло-каштановые	<i>0,28/0,27</i>	<i>0,33/0,50</i>	х	<b>0,14/0,22</b>	<b>0,14/0,50</b>
Песчаные	<i>0,43/0,45</i>	<i>0,53/0,80</i>	<i>0,24/0,36</i>	х	<b>0,24/0,30</b>
Солончаки	<i>0,29/0,35</i>	<i>0,40/0,60</i>	<i>0,25/0,67</i>	<i>0,39/0,46</i>	х

Индекс Шеннона для цианобактерий в песчаных почвах составил 3,51. Цианобактерии имеют приспособительные особенности, которые активно проявляются в таких экстремальных аридных зонах, как Астраханский регион. Множественность механизмов адаптаций на различных уровнях организации (таксономическом, физиолого-биохимическом) обуславливает возможность интенсивного освоения субстрата (Пивоварова и др., 2012).

Наибольшее сходство зеленых водорослей обнаружено в бурых полупустынных и песчаных почвах, аналогично цианобактериям.

Наибольшие отличия по видовому составу цианобактерий наблюдались между светло каштановыми, насыщенными гумусом почвами и слабогумифицированными песчаными почвами, а также между светло каштановыми почвами и солончаками.

Наибольшие отличия по составу зеленых водорослей обнаружены в светло каштановых и аллювиальных луговых почвах, что обусловлено, по нашему мнению, разницей кислотности среды, являющейся щелочной и слабокислой, соответственно. Также на развитие зеленых водорослей оказывает влияние химизм засоления, анионно-катионный состав в данных почвах значительно отличается.

Таким образом, тип почвы оказывает значительное влияние на состав фототрофов в них.

В результате проведенных исследований было установлено, что представители отдела *Cyanobacteria* составляют 71,3 % от общего числа изученных почвенных водорослей. Выявлено 64 вида цианобактерий, относящихся к 3 классам (*Chroococceae*, *Chamaeciphoneae*, *Hormogoneae*), 4 порядкам (*Chroococcales*, *Pleurocapsales*, *Nostocales*, *Oscillatoriales*), 9 семействам, 19 родам.

К числу наиболее распространенных видов относились *Phormidium faveolarum*, *Phormidium tenue*, *Phormidium retzii*, *Phormidium ambigum*, *Phormidium inundatum*, *Phormidium bohneri*, *Oscillatoria woronchnii*, *Oscillatoria mucicola*, *Gloeocapsa magma*, *Gloeocapsa minuta*, *Anabaena variabilis*, *Plectonema nostocorum*.

Анализ экологических особенностей показал доминирование Р – жизненной формы. Это нитевидные цианобактерии, не образующие слизи, рассеянные в толще почвы, ксерофиты, устойчивые против засухи.

Оценка сходства видового состава цианобактерий и зеленых водорослей в изучаемых типах почв по индексам сходства Жаккара и Сьёренсена показала, что максимальный коэффициент сходства составил 0,37-0,54 для цианобактерий, и 0,67-0,80 для зеленых водорослей. Наибольшее сходство цианобактерий отмечалось для бурых полупустынных и аллювиальных луговых почв 0,37 и 0,54 и бурых полупустынных и песчаных почв 0,36 и 0,53.

#### **4.3.2. Актиномицеты – спутники циано-бактериальных сообществ**

В литературе обсуждается вопрос о роли актиномицетов в процессах формирования и функционирования симбиозов (Зенова и др., 2013). Для выяснения данного вопроса предпринимались попытки формирования экспериментальных цианобактериально-актиномицетных ассоциаций. По мнению авторов, очевидно, что актиномицеты как ассоциативные симбионты

могут оказывать положительное действие на экосистему, вследствие повышения защиты от вредоносных микроорганизмов за счёт выделения антибиотиков.

В накопительных культурах почвенных циано-бактериальных сообществ определяли количественный состав актиномицетов, в том числе и стрептомицетов. В циано-бактериальных сообществах обнаружили актиномицеты в количестве от  $1,0 \times 10^3$  КОЕ/г до  $8,0 \times 10^6$  КОЕ/г. В сообществе, выделенном из ризосферы дуба черешчатого (*Quercus robur*), произрастающего на аллювиальных луговых почвах количество актиномицетов и актиномицеподобных форм составило  $8,0 \times 10^6$  КОЕ/г, в сообществе из аллювиальных луговых почв ясеневое леса -  $2,0 \times 10^6$  КОЕ/г. В сообществе из бурых полупустынных почв сельскохозяйственного назначения количество данных бактерий составило –  $4,0 \times 10^4$  КОЕ/г. Малочисленны данные бактерии оказались в сообществе, выделенном из светло-каштановых почв -  $1,0 \times 10^3$  КОЕ/г.

Обнаружены колонии с воздушным мицелием серого, белого, коричневого цветов, и субстратным мицелием – черного, красного, фиолетового цвета с различными оттенками. Окраска субстратного мицелия обусловлена образованием разных пигментов.

#### **4.4. Актиномицеты как основа микробных комплексов почв аридной зоны**

Микробиологические исследования почвенных экосистем проводили на территории Астраханской области. Были отобраны 23 образца аллювиальной луговой, бурой полупустынной, аллювиальной дерновой и светло-каштановой почв.

В результате анализа величины сухого остатка установлено, что исследуемые почвы характеризуются степенью засоления от слабозасоленной до очень сильнозасоленной (табл. 16). Среднее содержание плотного (сухого) остатка в исследуемых почвах колебалось от 0,3 % до 2,9 %. Все образцы почв слабощелочные, величина рН находилась в пределах от 7,1 до 7,8.

Очень сильнозасоленными явились почвенные образцы №8, №9, №6, №11,

№13, в которых величина сухого остатка составила от 2,3% до 2,9%. Самые низкие показатели степени засоления обнаружены в образцах почв №2, №12, №14, №19, №5, №16, №10 величина сухого остатка в них не превышала 0,3 %. Максимальная величина сухого остатка 2,9 % определена в почвенном образце №13 (Красный Яр, с. Забузан).

Численность эколого-трофических групп, куда входили сапротрофы, олиготрофы, олигонитрофилы, сахаролитические, амилолитические микроорганизмы в образцах почв находится в пределах порядков  $10^6$  -  $10^7$  КОЕ/г. Среди них выделены микроскопические грибы, бактерии, в том числе, актиномицеты.

Изучение качественного состава микроорганизмов в почвах показало большое его разнообразие. Из физиологических групп были обнаружены гетеротрофы, включающие микроорганизмы, способные усваивать высокие (сапротрофы) и низкие (олиготрофы) концентрации органических веществ. Среди них выделены микроскопические грибы, бактерии, в том числе, актиномицеты.

Сравнительная характеристика количественного состава микроорганизмов, полученная в результате высева почвенных разведений на твердые питательные среды, свидетельствует о том, что максимальная численность микроорганизмов наблюдалась на крахмально-казеиновой среде ( $2,0 \cdot 10^6$  –  $22,0 \cdot 10^6$  КОЕ/г почвы), которая на порядок превышала численность микроорганизмов, выделенных на других питательных средах (табл. 17). Необходимо отметить, что максимальное и минимальное количество микроорганизмов на данной среде обнаружено в образцах бурой полупустынной почвы. Установлено, что число микроорганизмов, выделенных на других питательных средах (ГРМ-агар, среда Эшби, «Голодный» агар, среда Чапека, среда Гаузе №2, гар крахмально-аммиачный, агар глицерин-аргининовый, а агар глицерин-нитратный) было в пределах одного порядка и варьировало от  $0,3 \cdot 10^6$  до  $9,9 \cdot 10^6$  КОЕ/г почвы.

Таблица 16 - Характеристика исследуемых почвенных образцов по степени засоления

Тип почвы	№ почвенного образца	Место отбора	Величина рН	Засоленность почвы	
				Величина сухого остатка водной вытяжки, %	Степень засоления
Аллювиальная луговая	1	г. Астрахань, Ленинский р-н	7,4	1,3	сильнозасоленная
	3	Харабалинский р-н, с. Тамбовка	7,3	1,4	сильнозасоленная
	20	Камызякский р-н, п. Хмелевка	7,5	1,1	сильнозасоленная
	18	Лиманский р-н	7,8	1,4	сильнозасоленная
Бурая полупустынная	2	Приволжский р-н, пос. Новоначаловский	7,5	0,3	слабозасоленная
	4	г. Астрахань, Трусовский р-н	7,3	0,4	слабозасоленная
	7	Приволжский р-н, с. Яксатово	7,5	1,6	сильнозасоленная
	8	Приволжский р-н, Ч/с 1, 2й проезд Рождественского	7,4	2,3	очень сильно засоленная
	11	Наримановский р-н, ул. Магистральная/Строительная	7,8	2,4	очень сильно засоленная
	12	г. Астрахань, Ленинский район, пос. Мошаик	7,2	0,3	слабозасоленная
	14	Енотаевский р-н, с. Пришиб	7,3	0,3	слабозасоленная
	17	Приволжский р-н, с. Началово,	7,6	2,0	сильнозасоленная
	19	Приволжский р-н, Ч/с 2, с. Яксатово	7,3	0,3	слабозасоленная
22	Кировский р-н, Началовское шоссе	7,7	1,2	сильнозасоленная	
Аллювиальная дерновая	5	Красноярский р-н, с. Сеитовка	7,1	0,3	слабозасоленная
	6	Икрянинский р-н, пос. Красные Баррикады	7,6	2,8	очень сильно засоленная
	9	г. Астрахань, Советский р-н	7,5	2,6	очень сильно засоленная
	13	Красный Яр, с. Забузан	7,6	2,9	очень сильно засоленная
	15	г. Астрахань, Кировский р-н	7,2	0,4	слабозасоленная
	16	Володарский р-н, с. Диановка	7,4	0,3	слабозасоленная
	21	Володарский р-н, с. Крутое	7,5	1,4	сильнозасоленная



					ная
Светло-каштановая	10	Черноярский р-н 2 км от села Зубовка	7,2	0,3	слабозасоленная
	23	Ахтубинский р-н, г. Ахтубинск	7,5	1,1	сильнозасоленная

В исследуемых почвенных образцах были обнаружены сапротрофные микроорганизмы ( $2,2 \cdot 10^6$  КОЕ/г –  $4,8 \cdot 10^6$  КОЕ/г почвы), участвующие в деструкции органических веществ в почве. Численность олиготрофных микроорганизмов составила от  $1,1 \cdot 10^6$  КОЕ/г до  $4,5 \cdot 10^6$  КОЕ/г почвы.

Несмотря на то, что образцы почв №18 (аллювиальная луговая), №22 (бурая полупустынная), №23 (светло-каштановая) являются сильнозасоленными, численность азотфиксирующей и сахаролитической микрофлоры в них оказалась самой высокой. Количество аборигенной олиготрофной микрофлоры было наибольшим в образце №18 -  $4,5 \cdot 10^6$  КОЕ/г почвы.

Анализ общей численности физиологических групп показывает, что во всех образцах почв доминируют актиномицеты, но в образцах почв №5, №6, №9, №10, №11, №12, №15, №18, №22, №23 их количество наибольшее ( $2,0 \cdot 10^6$  КОЕ/г –  $22,0 \cdot 10^6$  КОЕ/г). Высокий титр актиномицетов, возможно, связан с доминированием спор, а не мицелия.

Микроскопическое исследование полученных колоний показало присутствие различных морфотипов клеток: палочки, кокки, а также склонные к полиморфизму клетки. На ГРМ-агаре доминируют грамположительные спорообразующие и грамотрицательные палочки. Олигонитрофильная микрофлора на среде Эшби характеризовалась грамотрицательными и грамположительными палочками и полиморфными клетками.

На голодном агаре обнаружены грамположительные мелкие полиморфные формы. На среде Чапека выявлены микромицеты родов *Alternaria*, *Aspergillus* и *Fusarium*.

Таблица 17 - Количественный учет микроорганизмов в исследуемых почвах

Тип почвы	№ почвенного образца	Количество микроорганизмов, выделенных на питательных средах, КОЕ/г почвы								
		ГРМ-агар (10 <sup>6</sup> )	Среда Эшби (10 <sup>6</sup> )	Агар голодный (10 <sup>6</sup> )	Среда Чапека (10 <sup>6</sup> )	Среда Гаузе №2 (10 <sup>6</sup> )	Среда крахмально-казеиновая (10 <sup>6</sup> )	Агар крахмально-аммиачный (10 <sup>6</sup> )	Агар глицин-аргининовый (10 <sup>6</sup> )	Агар глицерин-нитратный (10 <sup>6</sup> )
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Алювиальная луговая	1	3,8	1,9	2,5	0,6	4,2	4,0	6,8	5,6	7,2
	3	2,2	2,5	2,6	0,4	3,2	3,0	5,9	4,9	6,6
	20	3,7	3,1	1,1	2,2	3,9	10,0	5,3	5,4	8,6
	18	3,2	6,1	4,5	4,5	3,4	4,0	7,5	9,4	8,6
Бурая полупустынная	2	3,0	2,1	1,3	0,4	2,5	2,0	4,1	5,0	5,9
	4	2,7	1,5	1,5	0,3	3,5	3,0	6,2	6,0	3,9
	7	2,9	2,2	2,6	0,4	2,5	3,0	5,5	5,7	4,6
	8	2,8	2,7	2,3	0,4	3,5	3,0	5,7	6,2	5,7
	9	3,5	4,9	1,5	3,8	5,0	8,0	9,5	9,3	9,5
	12	2,8	1,2	1,5	4,2	2,5	22,0	3,2	6,2	7,3
	14	3,2	3,6	2,2	5,2	3,0	4,0	3,5	4,8	4,9
	17	2,5	3,2	1,7	1,9	2,9	9,0	6,5	7,5	5,9
	19	3,5	2,5	2,3	4,2	4,1	3,0	4,9	5,0	5,5
	22	4,5	6,5	1,5	4,6	3,5	10,0	8,6	9,3	8,9
Алювиальная дерновая	5	3,2	3,5	2,7	0,7	4,2	7,0	9,4	9,0	8,2
	6	3,1	4,1	3,0	0,5	4,1	7,0	8,5	8,8	8,4
	11	3,3	3,2	2,5	3,5	4,5	10,0	8,4	8,7	9,5
	13	3,0	2,4	1,6	6,2	3,5	7,0	4,1	4,4	7,2
	15	3,3	5,7	3,1	2,8	2,8	9,0	9,5	8,6	9,6
	16	2,9	2,0	2,0	2,6	4,3	4,0	4,7	5,2	6,9
	21	3,2	3,4	2,2	2,5	2,2	4,0	2,1	5,7	7,2
Светло-каштановая	10	3,8	5,3	2,3	2,8	4,8	9,0	9,9	9,6	8,7
	23	4,8	7,0	1,7	5,2	2,5	9,0	9,4	8,4	9,0

Выявлено, что относительное число грибов в почве уменьшалось при одновременном увеличении их видового состава. Амилолитические микроорганизмы представлены грамположительными актиномицетоподобными формами, часть из которых принадлежала к стрептомицетам.

В результате выделены 21 изолят актиномицетов. Следует отметить, что результатами проведенных анализов подтверждается, что типичные формы актиномицетов, относящиеся к аэробам и образующие мицелий, подобно бациллам, широко распространены в почвах Астраханской области.

Установлено, что наибольшее многообразие и распространение почвенных комплексов *Streptomyces* встречается в образцах почв с повышенной степенью засоления (№5, №6, №9, №11, №18, №22, №23). В образце со слабозасоленной почвой №12 на крахмально-казеиновой среде выявлено максимальное количество актиномицетов  $22,0 \cdot 10^6$  КОЕ/г.

По количеству выделенных изолятов актиномицетов доминировал образец №12 с сильнозасоленной почвой. В результате проведения корреляционно-регрессионного анализа была установлена взаимосвязь между числом выделенных штаммов актиномицетов и степенью засоленности почвы с коэффициентом корреляции  $r=0,5379$  (рис. 8).

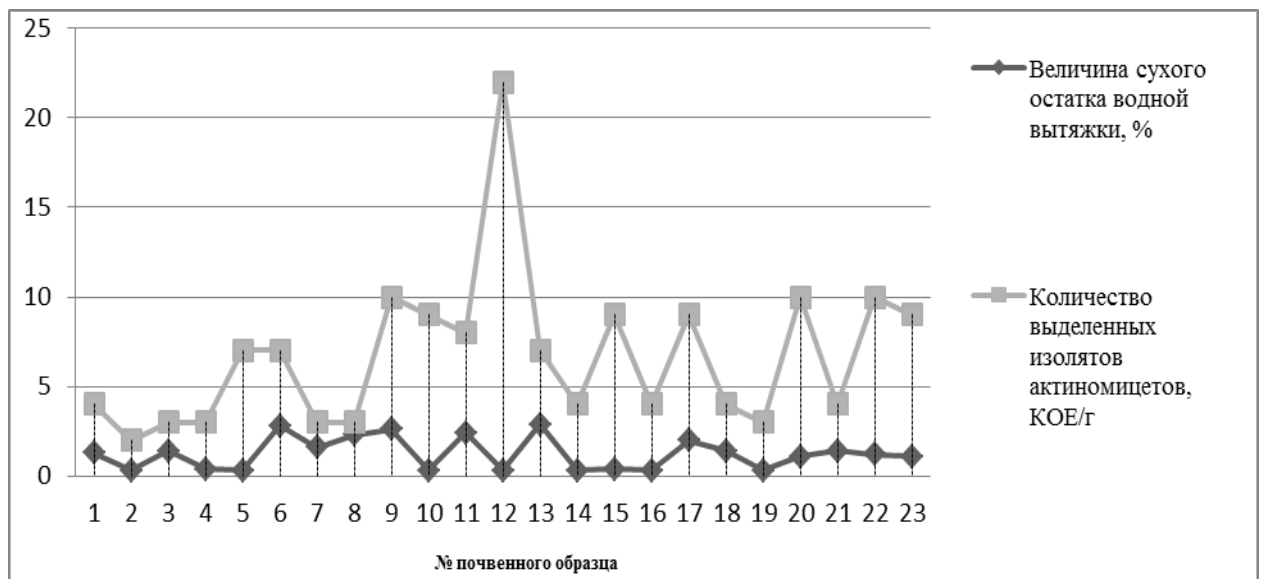


Рисунок 8 - Зависимость числа выделенных изолятов актиномицетов от степени засоленности почвы

Установлено, что в специфичных почвенно-экологических условиях региона, характеризующихся высокими концентрациями солей и недостатком влаги, одними из наиболее распространенных почвенных микроорганизмов

являются актиномицеты, в том числе стрептомицеты. Наибольшее многообразие и распространение почвенных комплексов актиномицетов ( $2,0 \cdot 10^6$  КОЕ/г –  $22,0 \cdot 10^6$  КОЕ/г) встречается в образцах почв с повышенной степенью засоления (№6, №9, №11, №18, №22, №23). Необходимо отметить присутствие актиномицетов в составе спутников циано-бактериальных сообществ, выделенных из почв Астраханской области.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ к ГЛАВЕ 4.

В природных водоемах доминирующими формами цианобактерий явились колониальные формы рода *Microcystis*, трихомные формы рода *Oscillatoria* и гетероцистные – рода *Anabaenopsis*. В техногенных водоемах из фитопланктона и обрастаний преобладали нитчатые формы цианобактерий родов *Oscillatoria* и *Phormidium*.

Выявлено, что во всех накопительных культурах доминирующими являются цианобактерии родов *Phormidium* и *Oscillatoria*. В более узком спектре гидрохимических показателей в накопительных культурах развиваются одноклеточные цианобактерии: *Synechocystis sp.*, *Synechococcus sp.*

Выделенные группы бактерий-ассоциантов создают благоприятные условия для трофических взаимодействий, что способствует жизнедеятельности циано-бактериальных сообществ в техногенных водоемах.

В результате анализа экологических особенностей в почвах обнаружили доминирование Р – жизненной формы, к которой относится род *Phormidium*. В почвенных накопительных культурах в составе спутников почвенных циано-бактериальных сообществ обнаружили актиномицеты, в том числе стрептомицеты в количестве от  $1,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г до  $8,0 \cdot 10^6$  КОЕ/г.

В результате исследования качественного состава эколого-трофических групп микроорганизмов в почвах выделен 21 изолят актиномицетов, в составе которых присутствовали стрептомицеты.

## ГЛАВА 5. ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ

### 5.1. Культурально-морфологическая характеристика почвенных циано- бактериальных сообществ и генотипическая характеристика *Anabaena* *constricta* IPPAS B-2020

Для исследования свойств биотехнологически перспективных микроорганизмов на первом этапе из почвенных экосистем и ризосфер растений Астраханской области выделяли циано-бактериальные сообщества и отбирали консорциумы, которые активно наращивали биомассу в лабораторных условиях №2, №5, №6, №11, №12, №14, №15, №21, №26. Выделенные сообщества ранжированы от №1 до №26. Циано-бактериальные сообщества изучали микроскопически и определяли доминирующие роды.

Сообщество №2 выделено из ризосферы дуба черешчатого *Quercus robur*, произрастающего на аллювиальных луговых почвах. В циано-бактериальном сообществе преобладают роды *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Gloeocapsa*, *Chroococcus*. Присутствовали зеленые водоросли *Chlorococcum*, *Scenedesmus*.

Циано-бактериальное сообщество №5 выделено из аллювиальных луговых почв ясеневоего леса. В сообществе преобладает род *Amorphonostoc*. Колонии данного рода микроскопические, мелкие, слизистые, с мягким передермом, одиночные и иногда сливающиеся вместе и образующие аморфно-зернистую массу. Трихомы тесно лежащие с более или менее заметными влагалищами.

Сообщество №6 выделено из аллювиальных луговых почв. Доминирующим в циано-бактериальном сообществе явился род *Phormidium*. Данный род отличается способностью образовывать слизистые, мелкие влагалища. Трихомы часто соединены в дерновинки, прикреплённые нижней поверхностью к субстрату. Нити имеют способность к движению.

Сообщество №11 выделено из бурых полупустынных почв сельскохозяйственного назначения. Доминирующими явились цианобактерии *Microcystis*, *Phormidium*, *Spirulina*, зеленые водоросли *Chlorococcum*, *Chlorella* в

виде бесформенных колоний, в которых шаровидные клетки погружены в общую слизь.

Циано-бактериальное сообщество №12 выделено из солончаковых почв. В нем преобладают род *Oscillatoria* и род *Microcystis*. Род *Oscillatoria* образует плёнки сине – зелёного цвета, покрывающие увлажненную почву. Очень часто длительно сохраняются в смешанных культурах. Род *Microcystis* представлен бесформенными колониями, в которой шаровидные клетки погружены в общую слизь.

В сообществе №14, выделенном из урбанозема г. Астрахани, преобладает род *Cyanothrix*.

Сообществе №15, выделенном из светло-каштановых почв, доминирующими явились цианобактерии родов *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Microcystis*, *Gloeocapsa*.

Сообщество №21 получено из сухих биопленок рода *Nostoc*, развивающихся на светло-каштановых почвах.

Циано-бактериальное сообщество №26, выделено из ризосферы аморфной кустарниковой *Amorpha fruticosa*. Преобладают в сообществе род *Phormidium* и род *Microcystis*.

Для получения альгологически чистой культуры рода *Anabaena* использовали циано-бактериальное сообщество №5 (Гайсина и др., 2008). Культуру цианобактерий идентифицировали до вида по фенотипическим признакам: *Anabaena constricta* (Szaf.) Geitl. (приложение 1). Клетки цианобактерий *Anabaena constricta* синезеленые, цилиндрические, посередине перешнурованные, шириной 5,0-6,5 мкм, длиной - 3,0-6,0 мкм. Гетероцисты круглые шаровидные, 5-7 мкм в диаметре (рис. 9). Спор не обнаружили. Амплификация фрагментов гена 16S рРНК *Anabaena constricta* дала фрагмент длиной 612 нуклеотидов: Untitled\_Contig\_1-2.seq "Contig 1" (1,612). Максимальное сходство последовательность имеет со штаммами *Anabaena* sp. (рис. 10).

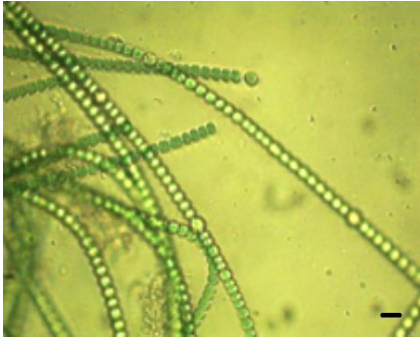


Рисунок 9 - Трихомы *Anabaena constricta* в световом микроскопе; масштабная линейка соответствует 10 МКМ

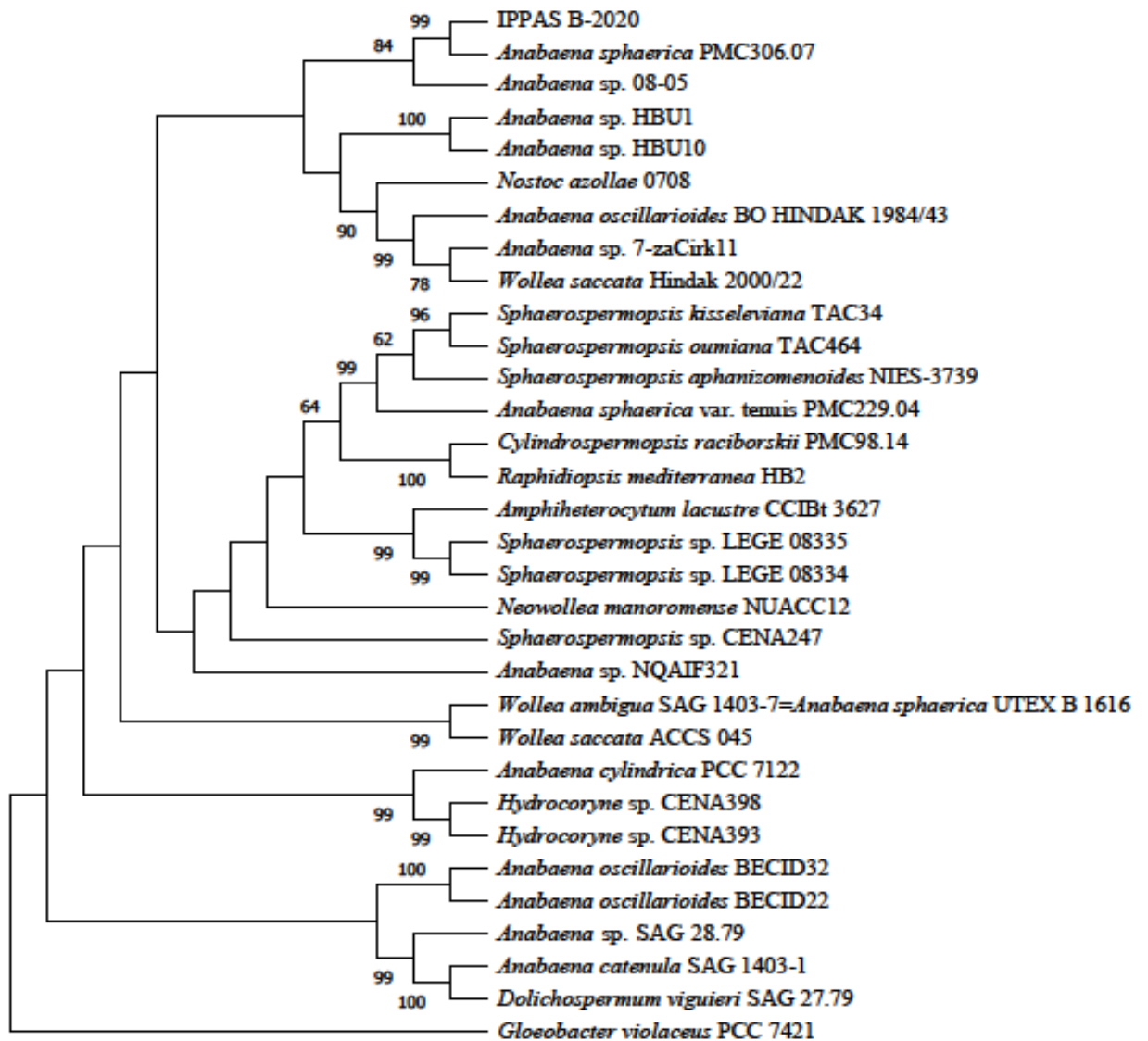


Рисунок 10 - *Rrs*-филограмма, отражающая таксономическое положение штамма *Anabaena constricta* IPPASB-2020 в пределах *Anabaena*

У штамма *Anabaena constricta* IPPAS B-2020 обнаружена бутстрап-

поддержка только для клады *Anabaena sphaerica* PMC306.07 — *Anabaena* sp. 08-05. Типовым видом анабены является *Anabaena oscillarioides*. Штаммы, которые отнесли к этому виду, оказались разнесены по двум дальним кладам — в одну попали *Anabaena oscillarioides* BECID32 и BECID22, и именно их склонны считать настоящими анабенами. Во вторую кладу попал штамм *Anabaena oscillarioides* BO HINDAK 1984/43 и он ближе к штамму IPPAS B-2020. Поэтому штамм *Anabaena constricta* IPPASB-2020 идентифицирован как *Anabaena* sp. (приложение 2).

## **5.2. Культурально-морфологическая характеристика водных циано-бактериальных сообществ и генотипическая характеристика *Phormidium ramosum* IPPAS B-2022**

С помощью метода накопительных культур на основе воды водоемов, компонентов водных экосистем получены водные циано-бактериальные сообщества, некоторые из которых ранжированы по номерам.

Циано-бактериальное сообщество №1 получено путем культивирования циано-бактериальных пленок, воды, ила, высшей растительности озера «Мраморное» при искусственном освещении на питательной среде BG<sub>N</sub>-11 с соленостью 5-10 %. Циано-бактериальное сообщество №2 получено с использованием циано-бактериальных пленок озера «Мраморное» с добавлением гипсовых пород, культивируемые на питательной среде BG<sub>N</sub>-11 при естественном освещении с соленостью 5-10%. Сообщества представляют собой многослойные тужи сине-зеленого цвета, внешне схожие с циано-бактериальными матами, развивающимися в природных экстремальных местообитаниях. Микроскопическое исследование накопительной культуры №1 показало доминирование цианобактерий вида *Phormidium ramosum* и *Oscillatoria limnetica* в присутствии *Oscillatoria quasiperforata* и *Gloeocapsa* sp. В культуре №2 доминировал вид *Oscillatoria deflexa* и *Phormidium* sp., в присутствии *Oscillatoria animalis* и *Oscillatoria amphibian*.



Выделена альгологически чистая культура из накопительной культуры №1 *Phormidium ramosum* В.-Peters., которую идентифицировали по фенотипическим признакам (приложение 3). Дерновинки цианобактерий *Phormidium ramosum* В.-Peters. IPPASB-2022 ярко синезеленые, волнистые. Трихомы расположены параллельными рядами или разнообразно переплетающиеся, 1,3-1,9 мкм шириной, у поперечных перегородок не перешнурованные (рис. 11). Длина клеток в 2-3 раза больше ширины. Конечные клетки закругленные, с утолщенной сверху оболочкой.

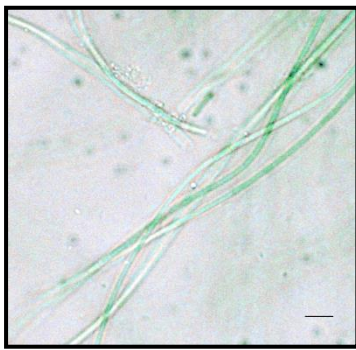


Рисунок 11 - Трихомы *Phormidium ramosum* IPPASB-2022 в световом микроскопе; масштабная линейка соответствует 5 мкм

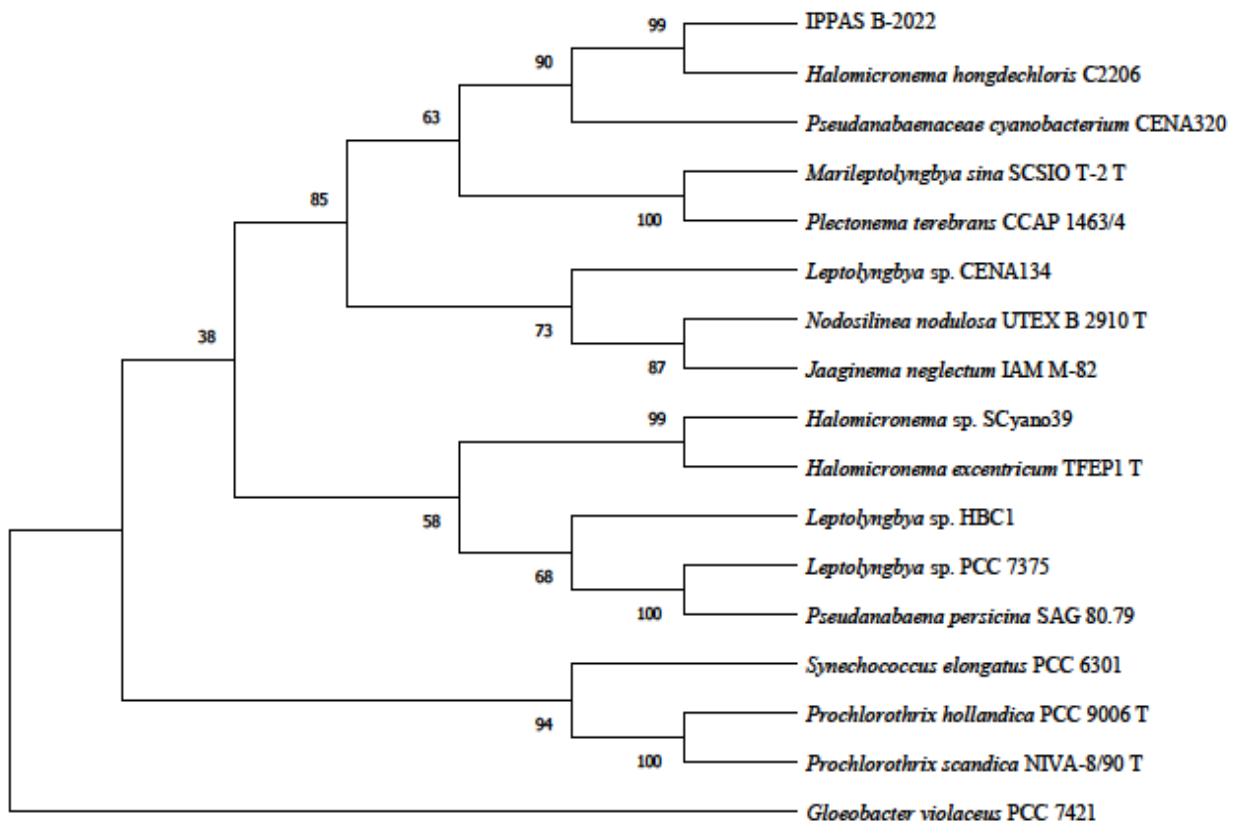


Рисунок 12 - Rrs-филограмма, отражающая таксономическое положение штамма

*Phormidium ramosum* IPPASB-2022

Штамм IPPAS B-2022 кластеризуется с *Halomicronema hongdechloris* C2206 (изолирован из строматолитов, собранных в заливе Шарк, Австралия (Raeid M. A. et al, 2002)) и штаммом CENA320, изолированным с листьев мангрового дерева *Avicennia schaueriana* Бразилии, экскрецирующей соль (рис. 12). Так как типовой вид *Halomicronema excentricum* TFER1 размещен от *Halomicronema hongdechloris* C2206 очень далеко, клада IPPAS B-2022 представляет собой новый род. Поэтому в базе данных GenBank NCBI он обозначен как Pseudanabaenaceae cyanobacterium (определен только до семейства) (приложение 4).

В циано-бактериальном сообществе на основе воды озера Мраморное, структурообразователями явились цианобактерии *Phormidium henningii* и *Spirulina subtilissima*. В циано-бактериальном сообществе, культивируемом на воде озера Северное, эдификаторами явились *Phormidium valderiae* и *Phormidium tenuissimum*, присутствует также *Oscillatoria ornate*, из одноклеточных - *Synechocystis sp.* Циано-бактериальное сообщество из озера Южное состояло из *Phormidium valderiae*, *Phormidium tenue*, *Phormidium tenuissimum*, *Oscillatoria ornate*. В сообществе на основе воды из ЗПО структурообразователями явились *Phormidium valderiae*, *Phormidium tenuissimum* и *Phormidium tenue*, *Synechococcus sp.* В накопительной культуре на основе воды ЕСР доминирующей формой выделенного сообщества явились нитчатые *Phormidium tenuissimum*, среди которых присутствовало незначительное количество одноклеточных *Synechocystis salina*. Структурообразователями мата, выделенного из окситенка очистных сооружений АГКМ явились цианобактерии, идентифицированные как *Phormidium tenuissimum*, одноклеточные *Synechocystis minuscula* и *Synechococcus elongates*. Эдификаторами мата, выделенного из пруда-отстойника, явились цианобактерии *Phormidium tenuissimum* и *Synechocystis salina*. Накопительная

культура на основе воды из реки Ахтуба содержала в качестве доминирующего компонента цианобактерии *Gloeocapsa sp.*

Исследуемые культуры цианобактерий и циано-бактериальных сообществ помещены в коллекцию кафедры биотехнологии, зоологии и аквакультуры и научной лаборатории биотехнологий и хранятся с помощью метода периодических пересевов в течение длительного времени.

### **5.3. Выделение изолятов актиномицетов и характеристика их фитотоксических свойств**

Из 23 образцов аллювиальной луговой, бурой полупустынной, аллювиальной дерновой и светло-каштановой почв различной степени засоления (величина сухого остатка от 0,3% до 2,9%) выделен 21 изолят актиномицетов. Данные бактерии исследованы на фитотоксичность на растениях томата Новичок.

Семена томатов сорта Новичок обрабатывали суспензией всех полученных изолятов актиномицетов (ГОСТ 12038-84). На 4-е сутки культивирования установлено прорастание семян томатов в контрольных и опытных вариантах. На 14 сутки экспозиции наибольшая всхожесть наблюдалась при обработке семян суспензией изолятов актиномицетов №2 (76,7%), №3 (68,3%), №10 (70,0%), №11 (71,7%), №18 (75,0%) (табл. 18).

Популяция клеток актиномицетов может приспосабливаться к различным условиям среды, меняя свои биохимические свойства (Федоров и др., 1974; Анисимова, 2008). По нашему мнению, реакцией актиномицетов на агрессивные факторы существования, такие как засушливый климат и высокая соленость почв, является физиологическая перестройка биохимического состава, которая может быть обусловлена продуцированием токсинов. Следовательно, в данных почвах создаются токсичные условия для развития растений, а актиномицеты играют одну из ключевых ролей в увеличении токсичности. Биометрические показатели растений томата определяли на 21-е сутки эксперимента. Наиболее

высокие биометрические показатели растений - биомасса (15,3-17,0 мг), длина корня (3,7-5,0 см), длина стебля (2,0-2,7 см) выявлены в вариантах с изолятами актиномицетов: №2, №11, №18.

Таблица 18 - Влияние актиномицетов на всхожесть семян томата сорта Новичок

№ изолята	Среднее количество проросших семян, %	
	через 7 суток	через 14 суток
1	11,7±1,7	31,7±3,3
2	48,3±1,7	76,7±1,7
3	19,7±2,5	54,3±1,6*
4	13,3±1,7	47,4±9,7
5	6,7±1,7	45,0±2,7
6	15,7±3,4	47,8±5,0
7	15,0±2,9	51,7±1,7
8	3,0±2,9	16,7±1,7
9	0,3±0,5	27,2±9,4
10	6,8±2,9	49,0±5,0
11	40,0±5,0	71,7±6,0
12	0,7±0,3	22,3±8,6
13	8,3 ±1,7	21,7±1,7
14	1,0±0,6	11,7±1,7
15	11,7±3,3	18,3±1,7
16	5,0±2,9	47,4±9,7
17	10,3±0,3	21,7±1,7
18	38, 3±3,3*	75,0±2,9
19	4,7±0,3	13,3±4,4
20	1,3±0,7	13,3±1,7
21	12,1±2,2	28,5±3,1
Контроль №1	21,7±1,7	65,0±2,9
Контроль №2	18,3±3,3	58,3±6,0

Примечание: \* - различия с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$

На 14-е сутки экспозиции наибольшая всхожесть наблюдалась при обработке семян суспензиями тех же изолятов бактерий №2 (76,7%), №11 (71,7%), №18 (75,0%). Анализ полученных данных показал, что токсическое действие на томат наблюдалось в вариантах опыта с изолятами №8, №12, №14, №17, №19, полученных из бурых полупустынных почв, с изолятами №9, № 13, 15, 21 – из аллювиальных дерновых почв, с изолятом №20 - из аллювиальной луговой.

В результате выбраны 3 изолята (№11, №2, №18), проявивших высокую фитостимулирующую активность, которые идентифицированы как *S. carpaticus*

RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883, соответственно.

## 5.4. Описание штаммов актиномицетов

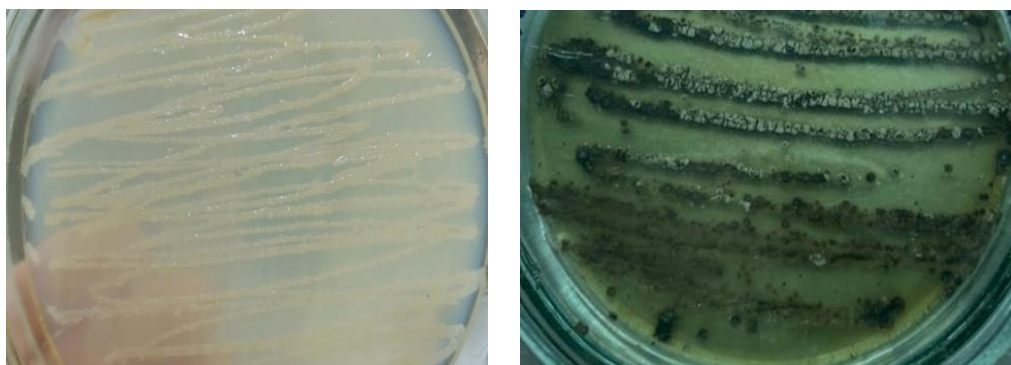
### 5.4.1. Культурально-морфологические и физиолого-биохимические свойства штамма *Streptomyces carpaticus* RCAM04697

Изолят №11 выделен 10.10.2013г. из бурой полупустынной почвы с очень сильной степенью засоления в Наримановском районе Астраханской области (ул. Магистральная/Строительная, на 2-ой линии ул. Магистральная) (Григорян и др., 2018).

Изолят №11 характеризовался следующими культурально-морфологическими признаками (Григорян и др., 2019): спораносцы прямые или извилистые, короткие; споры овальные и шаровидные с плотной гладкой оболочкой, размером 0,5-1,0×1,0-1,1 мкм (рис. 15); на крахмально-казеиновой среде колонии округлые, уплощенные, слабоскладчатые, с мучнистой поверхностью (d=4 мм); воздушный мицелий темно-коричневый; субстратный мицелий вишнево-красный; пигмент на среду не влияет; на сусло-агаре колонии мелкие (d=1,5 мм), округлые; воздушный мицелий светло-коричневый, субстратный мицелий желто-бурый; среда не окрашена; на картофельном агаре колонии округлые, уплощенные (d=5 мм); воздушный мицелий светло-серый, субстратный мицелий темно-коричневый; меланоидные растворимые пигменты отсутствуют; оптимальное значение pH 7,0-7,1 (рисунок 13, 14). Данный изолят не нуждается в факторах роста, стабилен и не является генетически модифицированным (Григорян и др., 2019). В авторском патенте описана характеристика штамма (приложение 11).

По красному и фиолетовому цвету субстратного мицелия на минеральном агаре 1 исследуемые бактерии отнесены к серии *Violaceus* (Гаузе и др., 1983). К данной серии принадлежат стрептомицеты, образующие на минеральном агаре 1 воздушный мицелий серого цвета с различными оттенками, а субстратный

мицелий – красного, фиолетового или синего цвета с различными оттенками. Окраска субстратного мицелия обусловлена образованием разных пигментов. Многие пигменты обладают антибиотическими свойствами и принадлежат к различным группам химических соединений – гризеородина-рубромидина, целикомицина-актинородина, антрациклинов, продигиозинов, литмодицина-гранатицина. Виды данной серии образуют прямые и спиральные цепочки спор; поверхность спор гладкая бородавчатая или покрыта шипами или волосками.



А

Б

Рисунок 13 – Изолят № 11 на картофельном агаре: А – 7-е сутки культивирования; Б – 14-е сутки культивирования (ориг., 2021)

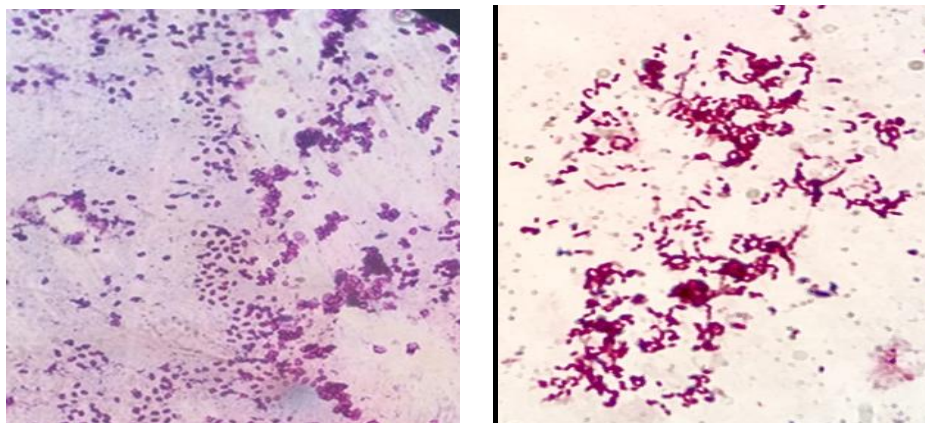


Рисунок 14 - Морфологические признаки изолята № 11 (x1000) (ориг., 2018)

Таким образом, по культурально-морфологическим и физиолого-биохимическим свойствам исследуемый изолят №11 идентифицирован, как *S. prunicolor* (Гаузе и др., 1983). Согласно определителю бактерий Берджи (Хоулт др., 1997) исследуемые бактерии отнесены к группе основной категории II (грамположительные зубактерии, имеющие клеточные стенки).

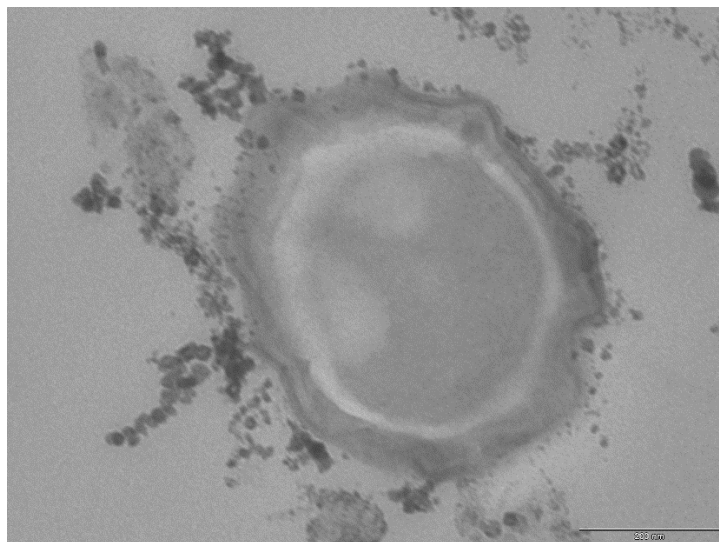


Рисунок 15 – Ультратонкие срезы *Streptomyces carpaticus* RCAM04697 (срез споры), полученные с помощью электронного микроскопе Tescna 12 (FEI, Philips, Czech Republic) (шкала – 200 нм)

Стрептомицеты и близкие роды (группа 25) по определителю Берджи (Хоулт др., 1997) – гетерогенная группа, для всех таксонов которой характерны клеточные стенки, содержащие глицин. Нити не распадаются на фрагменты и могут образовывать обильный воздушный мицелий с длинными цепочками спор (р. *Streptomyces*). На воздушном и вегетативном мицелии образуют склероции, короткие цепочки крупных конидий.

#### **5.4.2. Генотипическая характеристика штамма *Streptomyces carpaticus* RCAM04697**

##### **5.4.2.1. Анализ нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК**

С помощью метода секвенирования установлено, что фрагмент *rrs* гена изолята №11 имеет уровень сходства 100% с аналогичным фрагментом типового штамма *S. carpaticus* K-11, что позволяет отнести изучаемый изолят к данному виду (Yan et al., 2018). Изолят идентифицирован, как *Streptomyces carpaticus* K-11 и депонирован в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии») под

номером RCAM04697 (приложение 5), а также депонирован в государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» (ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии») под номером SCPM-O-B-9993 (приложение 8).

*Rrs*-дендрограммы демонстрируют таксономическое положение изучаемого изолята в пределах рода *Streptomyces*. Штамм *S. carpaticus* RCAM04697 сформировал единый кластер с типовым штаммом *S. ginkgonis* KM-1-2T при высоком уровне поддержки 99% (рис. 16).

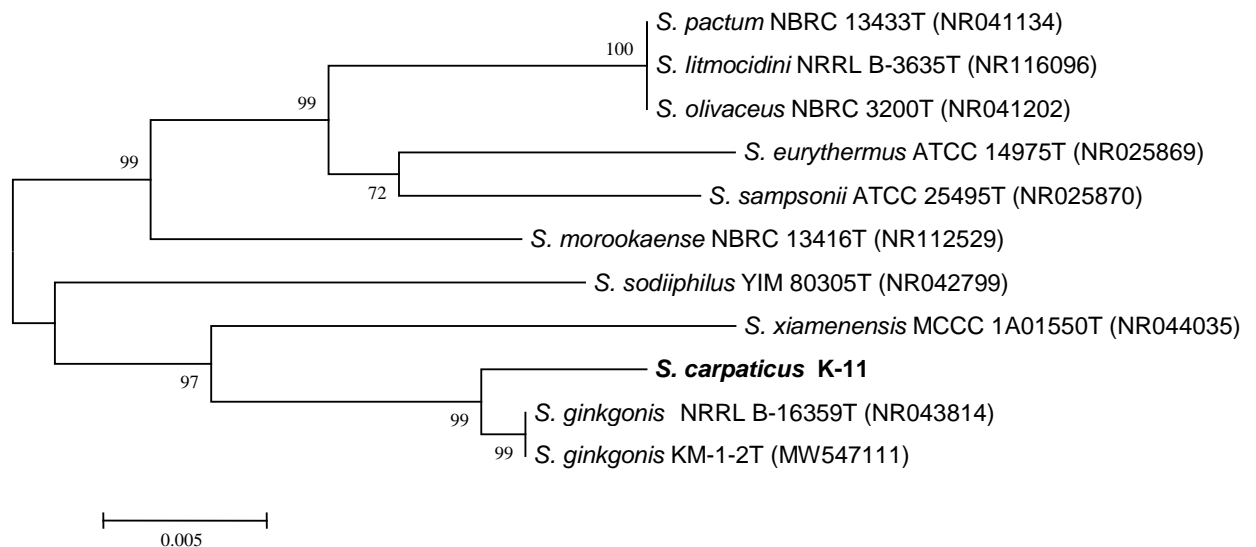


Рисунок 16 - *Rrs*-филограмма, отражающая таксономическое положение изолята №11 в пределах рода *Streptomyces*\*

Примечание: \* Указаны уровни поддержки кластеров более 30%

По данным А.И. Нетрусова с соавторами (2006) штамм *S. carpaticus* систематизуется следующим образом: домен - *Bacteria*; филум В14 - *Actinobacteria*; спороактиномицеты - стрептомицеты и родственные роды. Филум В14 *Actinobacteria* объединяет грамположительные бактерии, содержит один класс с тем же названием, включающий пять подклассов и десять подпорядков. Согласно литературным источникам штамм имеет следующее



систематическое положение (Verslyppe et al., 2014): порядок – *Streptomycetales*, подотряд – *Streptomycineae*, семейство – *Streptomycetaceae*, род – *Streptomyces*, вид – *S. carpaticus*, полное научное название – *S. carpaticus*.

#### 5.4.2.2. Полногеномный анализ

В результате полногеномного секвенирования штамма RCAM04697 (SCPM-O-B-9993) на платформе Illumina MiSeq получено 916 371 коротких прочтений (533 148 207 п.н.), на платформе MinION – 103 371 (247 666 704 п.н.).

Финальная сборка генома состояла из одной линейной хромосомы размером 5 968 715 п.н. GC состав - 72,84%. Полный геном депонирован в GenBank (CP104005.1), аннотация осуществлена в NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP) GeneMarkS-2+ (revision 6.2) (приложение 9). В процессе аннотации и анализа генома было определено 5206 последовательностей, кодирующих белки, 60 последовательностей тРНК, 15 – рРНК (5 – 5S, 5 – 16S, 5 – 23S) и 8 CRISPR-локусов. Согласно аннотации: Genes (total) - 5,409; CDSs (total) - 5,331; Genes (coding) - 5,206; CDSs (with protein) - 5,206; Genes (RNA) – 78; rRNAs - 5, 5, 5 (5S, 16S, 23S); tRNAs – 60; ncRNAs – 3; Pseudo Genes (total) – 125; Pseudo Genes (frameshifted) - 17 of 125; Pseudo Genes (incomplete) - 114 of 125; Pseudo Genes (internal stop) - 2 of 125; Pseudo Genes (multiple problems) - 8 of 125; CRISPR Arrays – 8.

#### 5.4.3. Культурально-морфологические и физиолого-биохимические свойства штаммов *Nocardiosis umidischolae* RCAM04882 и *Nocardiosis umidischolae* RCAM04883

Изолят №2 выделен 04.11.2013г. из бурой полупустынной почвы со слабой степенью засоления в поселке Новоначаловский Приволжского района Астраханской области (в 250 метрах от трассы Началовское шоссе).

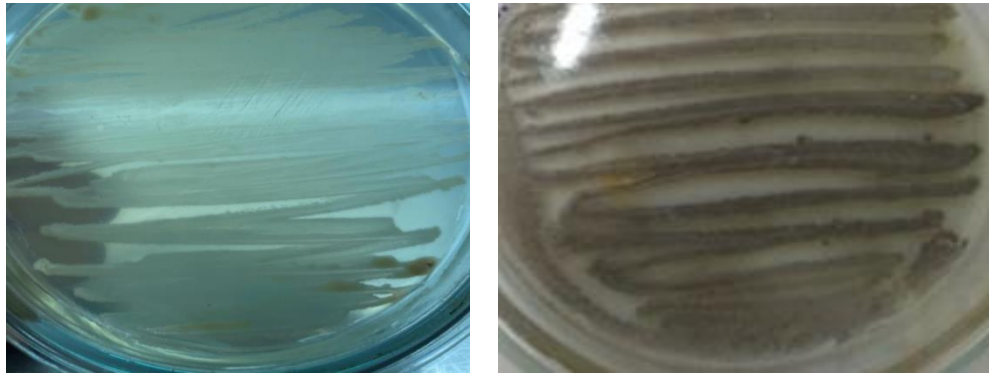
Изолят № 18 выделен 04.11.2013г. из аллювиальной луговой почвы с сильной степенью засоления в Лиманском районе Астраханской области (60 км

от Астрахани, на границе Икрянинского и Лиманского р-на, 2 км от федеральной трассы).

Культурально-морфологическими особенностями изолята №2 являлось образование круглых колоний с желтым мицелием субстрата и пепельно-серым воздушным мицелием на картофельном агаре (рис. 17, 19). Изолят №18 развивался на данном агаре, образуя круглые колонии с белым мицелием субстрата и бледно-розовым воздушным мицелием (рис. 18, 19). Согласно определителю бактерий Берджи (Хоулт др., 1997) исследуемые бактерии относятся к группе основной категории II (грамположительные эубактерии, имеющие клеточные стенки) (Хоулт др., 1997).

Актиномицеты группы *Thermomonospora* и близкие роды (группа 27) по определителю Берджи (Хоулт др., 1997) характеризуются тем, что их нити не распадаются на фрагменты и образуют воздушный мицелий со спорами, расположенными в цепочках (р. *Nocardiosis*). Данные аэробные спорообразующие актиномицеты образуют разветвленный вегетативный мицелий, несущий воздушные гифы. Исследуемые бактерии хемоорганотрофы. Клеточная стенка содержит мезо-диаминопимелиновую кислоту, характерные сахара или другие аминокислоты в ее составе отсутствуют.

Бактериям рода *Nocardiosis* характерен хорошо развитый субстратный мицелий, длинные и густоразветвленные гифы, может происходить фрагментация на кокковидные и палочковидные элементы. Воздушный мицелий, как правило, хорошо развитый и обильный, воздушные гифы полностью распадаются на споры различной длины. Растут при температуре 10-45<sup>0</sup>С. В качестве источников углерода и энергии могут использовать различные соединения. По данным А.И. Нетрусова с соавторами (2006) данные бактерии имеют следующее систематическое положение: домен – *Bacteria*, филум B14 – *Actinobacteria*, спороактиномицеты - нокардиоформы. Нокардиоформы – это грамположительные, морфологически различные организмы – прямые и изогнутые палочки.



А

Б

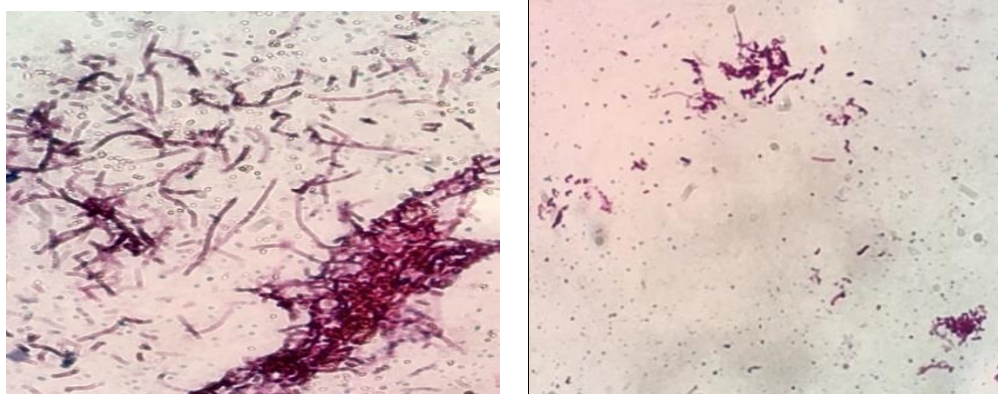
Рисунок 17 – Изолят № 2 на картофельном агаре: А – 7-е сутки культивирования; Б – 14-е сутки культивирования (ориг., 2021)



А

Б

Рисунок 18 – Изолят № 18 на картофельном агаре: А – 7-е сутки культивирования; Б – 14-е сутки культивирования (ориг., 2021)



а)

б)

Рисунок 19 - Морфологические признаки а) - изолята № 2, б) - изолята № 18 (x1000) (ориг., 2018)

Некоторые роды могут образовывать воздушный мицелий и цепочки

артроспор. Большинство – свободноживущие сапротрофы, обитатели почв.

По результатам исследования биохимических свойств трех идентифицированных штаммов установлено, что данные бактерии оксидазо- и каталазоположительные, не образуют сероводород и индол, культивируются на средах с глюкозой, мальтозой, фруктозой, сахарозой, лактозой, маннитом; на среде с ксилозой, арабинозой, раффинозой, инозитом рост отсутствует; восстанавливают нитраты до нитритов.

#### 5.4.4. Генотипическая характеристика штаммов *Nocardiosis umidischolae* RCAM04882 и *Nocardiosis umidischolae* RCAM04883

С помощью метода секвенирования установлено, что изоляты №2 и №18 наиболее близки к типовому штамму *N. umidischolae* NBRC 100349T (99,84% и 99,82%, соответственно) и идентифицированы, как *Nocardiosis umidischolae* RCAM04882 и *Nocardiosis umidischolae* RCAM04883, соответственно (рис. 20).

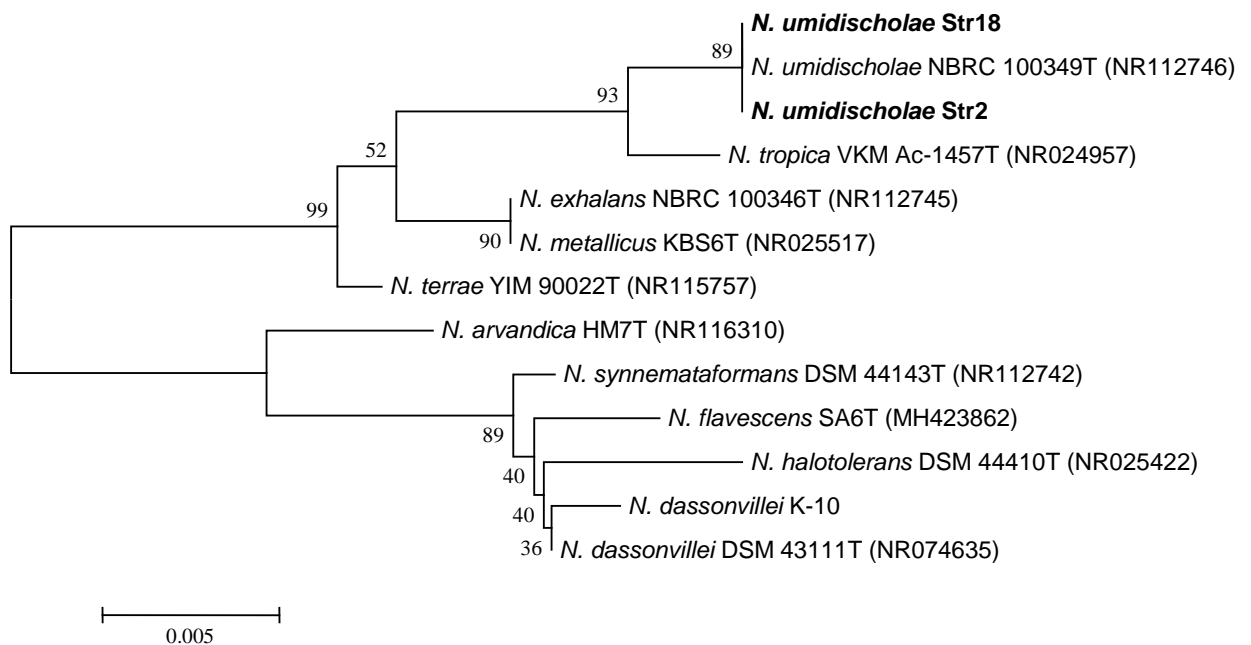


Рисунок 20 - *Rrs*-филограмма, отражающая таксономическое положение изолятов №2 и №18 в пределах рода *Nocardiosis*\*

Примечание: \* Указаны уровни поддержки кластеров более 30%

Штаммы депонированы в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии») (приложение 6, 7). *Rrs*-дендрограммы демонстрируют таксономическое положение изучаемых бактерий в пределах рода *Nocardiosis*. Штаммы *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 имеют следующее систематическое положение (Peltola et al., 2001): подкласс – *Actinobacteridae*, порядок – *Actinomycetales*, семейство – *Nocardiosaceae*, вид – *N. umidischolae*, полное научное название – *N. umidischolae*.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ к ГЛАВЕ 5.

Таким образом, отобраны биотехнологически перспективные циано-бактериальные сообщества и чистые культуры цианобактерий, активно наращивающие биомассу, две из которых по молекулярным признакам идентифицированы как *Anabaena* sp. и *Pseudanabaenaceae* cyanobacterium (определен только до семейства). Также выбраны 3 изолята актиномицетов, проявивших высокую фитостимулирующую активность, которые на основе изучения культурально-морфологических, биохимических свойств, а также данных секвенирования 16S рРНК определили, как *Streptomyces carpaticus* RCAM04697 (изолят №11), *Nocardiosis umidischolae* RCAM04882 (изолят №2), *Nocardiosis umidischolae* RCAM04883 (изолят №18).

В процессе аннотации и анализа генома *Streptomyces carpaticus* RCAM04697 было определено 5206 последовательностей, кодирующих белки, 60 последовательностей тРНК, 15 – рРНК (5 – 5S, 5 – 16S, 5 – 23S) и 8 CRISPR-локусов.

## ГЛАВА 6. СВОЙСТВА ЦИАНОБАКТЕРИЙ И ЦИАНО-БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ

### 6.1. Трансформация видов и устойчивость водных цианобактерий к экстремальным значениям гидрохимических факторов

В течение нескольких десятилетий в научной литературе дискутируется вопрос о возможном применении цианобактерий и их сообществ в экологической биотехнологии. И.С. Дзержинской (1993), Г.Ю. Райской (2002) показано, что циано-бактериальные сообщества наращивают биомассу и активизируют процесс самоочищения сточной воды различного состава в лабораторных условиях. О.Б. Сопрунова (2005) обнаружила циано-бактериальные маты в окситенке очистных сооружений Астраханского газоперерабатывающего комплекса. Среди наблюдений вышеприведённых авторов не обнаружено исследований об интервалах жизнеспособности циано-бактериальных сообществ, выделенных из техногенных водных сред, по отношению к важнейшим для их жизни факторам – pH, температуре, содержанию фосфора, минерализации, что определило бы возможности разработки способов очистки ими сточных вод. Особенно важно исследование жизнеспособности циано-бактериальных сообществ в высокоминерализованных условиях, так как для сточных вод с высоким содержанием солей в настоящее время не разработан эффективный способ очистки. Известно, что высокая минерализация угнетающе действует на сообщества микроорганизмов и водорослей. Поэтому изучение интервала жизнеспособности циано-бактериальных сообществ относительно минерализации позволит определить сообщество, которое не потеряет жизнеспособности в среде с высоким содержанием солей, и будет служить основой при разработке эффективного способа очистки высокоминерализованных сточных вод. Тем более, что исследуемые сообщества выделены из высокоминерализованных местообитаний. Также не решен вопрос и с очисткой сточных вод с высоким содержанием фосфора.

Исследование влияния различных факторов на выделенные циано-бактериальные сообщества включали изучение воздействия рН, температуры, фосфора, минерализации. Для культивирования циано-бактериальных сообществ в экспериментах в качестве среды использовали раствор среды и воды исследованного водоёма в разных соотношениях. О влиянии выбранных факторов на циано-бактериальные сообщества судили по изменению окраски, разрастанию дерновинок, приросту биомассы, морфологических изменений в сообществе, что определяли микроскопированием препарата «раздавленная капля». Прирост биомассы определяли весовым методом. Посевной материал готовили, растирая в ступке тяжи, выбранных для исследования циано-бактериальных сообществ, с последующим помещением на качалку при 24 об/мин на 3 часа. Полученная суспензия дерновинок цианобактерий имела сине-зелёный цвет.

### 6.1.1. Отношение цианобактерий к рН среды

Известно, что цианобактерии способны расти в широком диапазоне значений рН, в частности от 5 до 12, что подтверждается литературными данными (Fogg et al., 1973; Whitton, Sinclair, 1975; Brock, 1978; Костяев, 1986; и др.). Некоторые из них (например, произрастающие в сфагновых болотах: *Napalosiphon fontinales* (Ag.) Born, emend. Elenk., *Stigonema ocellatum* (Dilw.) Thur., *Nostoc kihlmani* Lemm., некоторые виды *Anabaena* Bory, *Leptobasis striatula* (Hy) Elenk., *Cylindrocapsa stagnate* (Kfflz.) Born. et Flah. и др.) тяготеют к кислой среде, а другие найдены при рН выше 10 (например, *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl., *Plectonema nostocorum* Born. (Кашнер, 1981).

Среди видов цианобактерий, выделенных из исследуемых техногенных водоёмов, чаще других встречается *Phormidium tenuissimum*. Циано-бактериальные сообщества, образованные цианобактериями *Phormidium tenuissimum* выделены из водоёмов ЕСП, ЗПО, Южное, Северное со значениями рН от 7,0 до 9,0. В связи с тем, что сообщества на основе *Phormidium tenuissimum*

особенно часто встречаются в нейтральных и щелочных условиях, вызывает интерес возможность жизнедеятельности данных сообществ в средах с более широким диапазоном рН. Гидрохимические исследования водоёма ЗПО показали, что в зависимости от качества принимаемой сточной воды рН среды варьирует от 7,0 до 8,5. Анализ диапазона рН других исследуемых водоёмов показал, что в ЗПО наблюдается самый широкий спектр этого показателя. Можно предположить, что сообщество на основе *Phormidium tenuissimum*, выделенное из ЗПО более резистентно по отношению к рН среды. Поэтому оно и выбрано для исследования.

Анализ экспериментальных данных показал жизнеспособность сообщества в интервале рН от 5 до 10. Увеличение прироста биомассы наблюдалось при рН от 7 до 10 (рис. 21). При реакции среды равной 3 и 4 признаки роста и прирост биомассы не обнаружены, дерновинки обесцветились до грязно-желтого цвета. В течение времени наблюдения за опытом при рН от 5 до 10 дерновинки имели сине-зелёный цвет, начиная с рН 7 до рН 10, обнаружено разрастание дерновинки и на стенках сосудов отмечен налёт. Прирост биомассы составлял при рН 7 – 0,1 г/л; рН 9 – 0,7 г/л; рН 10 – 0,6 г/л. В лабораторной культуре прирост биомассы составил 0,4 г/л.

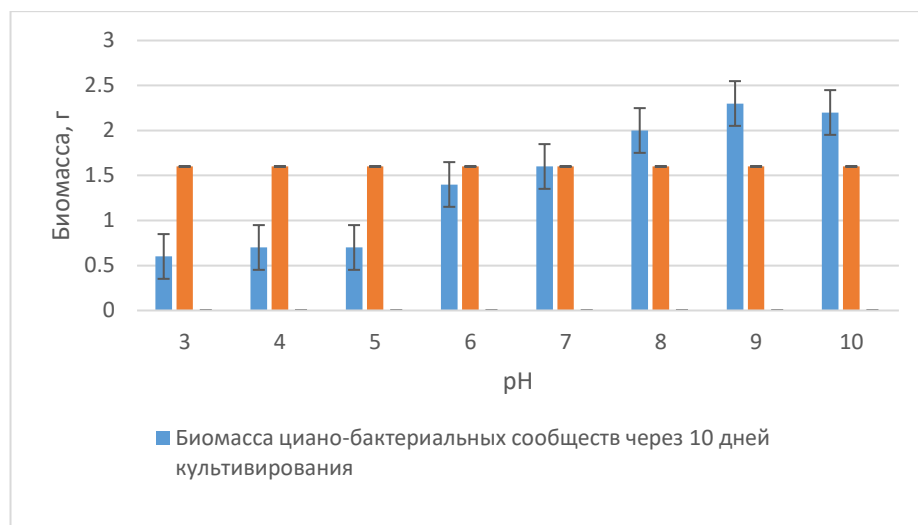


Рисунок 21 - Влияние различных значений рН на развитие циано-бактериальных сообществ

Микробиологическое исследование циано-бактериальных сообществ при



каждом значении рН показало изменения в составе доминантов. В эксперименте при рН 5, 6, 7 *Phormidium tenuissimum* сменился на другие виды рода *Phormidium*. При реакции среды, равной 3 и 4 виды структурообразователей не определялись, так как сообщества оказались не жизнеспособными. При значении рН 5 доминировали виды *Phormidium ambiguum* и *Phormidium tenue* (табл. 19). *Phormidium tenue* также явился эдификатором сообщества, развивающегося при рН 6. *Phormidium tenuissimum* определялся как структурообразователь циано-бактериальных сообществ при значениях рН равных 9 и 10, при которых обнаружен самый большой прирост биомассы.

Таблица 19 - Доминирующие виды в циано-бактериальных сообществах при различных значениях рН

Значения рН	Доминанты сообщества
5	<i>Phormidium ambiguum</i> , <i>Phormidium tenue</i>
6	<i>Phormidium tenue</i>
7	<i>Phormidium dimorphum</i>
8	<i>Phormidium tenuissimum</i>
9	<i>Phormidium tenuissimum</i>
10	<i>Phormidium tenuissimum</i>

Таким образом, изучаемое циано-бактериальное сообщество жизнеспособно при рН от 5 до 10, при оптимальных значениях в диапазоне от 9 до 10, именно в этом интервале обнаружен активный прирост биомассы, по сравнению с лабораторной культурой, культивируемой при рН 8. В опыте с реакцией среды, равной 9, биомасса увеличилась до 2,3 г/л; в эксперименте с реакцией среды, равной 10, биомасса составила 2,2 г/л. При этом эдификатором явился *Phormidium tenuissimum*.

Следовательно, анализ результатов культивирования сообщества, выделенного из водоёма ЗПО, при различных значениях рН показал, что реакция среды оказывает влияние не только на жизнеспособность и активное развитие циано-бактериальных сообществ, но и на трансформацию видов, то есть замену

эдификаторов.

### **6.1.2. Отношение цианобактерий к температурному режиму**

Устойчивость цианобактерий по отношению к температурному режиму позволяет им заселять экологические ниши с крайними значениями этого параметра (Сиренко, 1972).

Среди цианобактерий обнаружено много термофильных форм с очень высокими температурными оптимумами порядка 70-85°C (Еленкин, 1936; Голлербах, 1951; Голлербах и др., 1953; Кукк, 1965; Орлеанский, Герасименко, 1982; Никитина, 1983; Бильдушкинов, Герасименко, 1985) и верхней границей температурной устойчивости в пределах 63-64°C (Castenholz, 1968). О психрофильных формах в литературе сведений не обнаружено. Характеризуясь широкой температурной амплитудой существования в целом от -5°C до 90°C, представители цианобактерий достигают массового размножения все же при довольно узком оптимальном диапазоне температур, специфичном и довольно консервативном для каждого вида. В связи с этим в естественных условиях температурный режим является фактором, определяющим последовательность смены видов и их доминирование как в условиях водоёмов, так и в почвах (Hammer, 1964; Голлербах, Штина, 1969; Зенова и др., 1995) и существенно влияет на цитолого-морфологические и физиолого-биохимические показатели.

Для исследования влияния температурного режима на жизнеспособность циано-бактериальных сообществ, выбрано сообщество, выделенное из водоёма ЗПО, так как из-за небольшой глубины водоёма в зимнее время происходит его промерзание. Вегетативные клетки цианобактерий имеют способность реабилитироваться после воздействия на них низких и высоких температур. Если при длительном замораживании часть клеток погибает, то акинеты остаются жизнеспособными, и, попадая в благоприятные условия, прорастают. Вследствие промерзания в зимнее время водоёма ЗПО, можно предположить, что сообщество имеет более широкий температурный интервал жизнеспособности.

В вариантах опыта от 5°C до 40°C дерновинки не теряли сине-зелёной окраски, при 50°C и 65°C – наблюдалось обесцвечивание внесённой биомассы.

При температуре от 5°C до 40°C наблюдался прирост биомассы, поэтому этот интервал можно считать жизнеспособным для сообщества, выделенного из ЗПО. Анализ полученных данных показывает, что оптимальной температурой развития сообщества является диапазон от 15°C до 20°C (рис. 22).

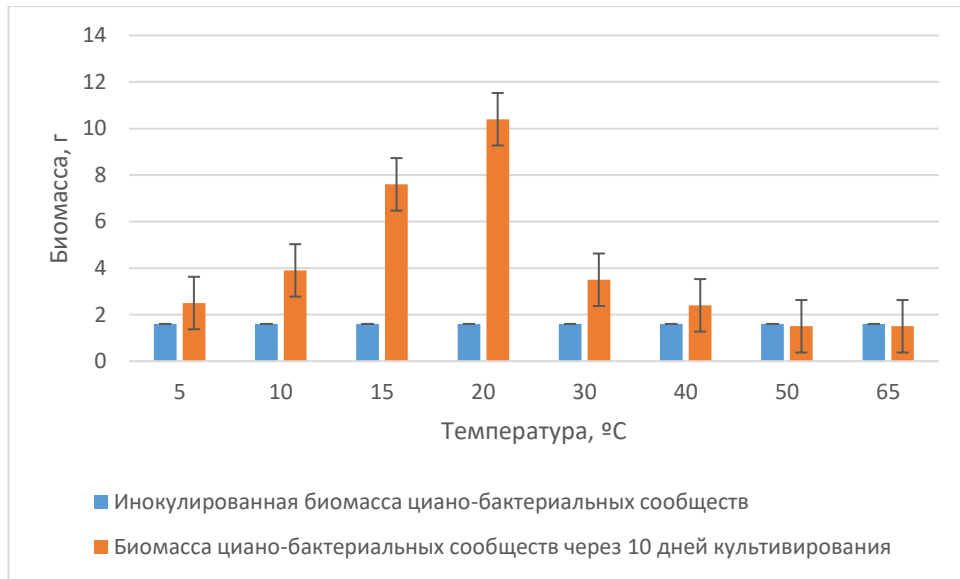


Рисунок 22 - Влияние температуры на развитие циано-бактериальных сообществ

Микроскопическое исследование дерновинок в опытах с температурой от 5°C до 15°C показало доминирование *Phormidium tenue* (табл. 20), при этом биомасса увеличивалась до 2,5 г/л при 5°C, 3,9 г/л при 10°C и 7,6 г/л при 15°C (рис. 22). Наибольшее наращивание биомассы сообщества до 10,4 г/л обнаружено при 20°C, где структурообразователем является *Phormidium tenuissimum*. С повышением температуры от 30°C и выше, прирост биомассы меньше и наблюдается смена доминантов. При 30°C превалировал *Phormidium tenuissimum*, *Phormidium fragile*, биомасса составила 3,5 г/л, при 40°C - *Phormidium fragile*, биомасса равна 2,4 г/л. При температуре 50 и 65°C прироста биомассы не обнаружено, культуры оказались нежизнеспособными, поэтому идентифицировать их не представилось возможным.

Таблица 20 - Влияние температурного режима на морфологию и прирост биомассы циано-бактериальных сообществ

Значения температуры	Структурообразователи	Прирост биомассы (г/л)
5°C	<i>Phormidium tenue</i>	0,9
10°C	<i>Phormidium tenue</i>	2,3
15°C	<i>Phormidium tenue</i>	6,0
20°C	<i>Phormidium tenuissimum</i>	8,8
30°C	<i>Phormidium tenuissimum, Phormidium fragile</i>	1,9
40°C	<i>Phormidium fragile</i>	0,8
50°C	не определены	-0,1
65°C	не определены	-0,1

Анализ полученных данных показывает, что изучаемое циано-бактериальное сообщество жизнеспособно в температурном интервале от 5°C до 40°C, при оптимальной температуре развития от 15°C до 20°C. Причем отмечено явное доминирование в циано-бактериальном сообществе видов рода *Phormidium* при конкретном интервале температур. В температурном диапазоне от 5°C до 15°C эдификатором сообщества является *Phormidium tenue*, при 20°C доминирует *Phormidium tenuissimum*, *Phormidium fragile* является структурообразователем сообщества в температурном спектре от 30°C до 40°C.

### 6.1.3. Отношение цианобактерий к количеству фосфатов

Известно, что фосфор, как важнейший биогенный элемент, является одним из главных лимитирующих факторов для роста цианобактерий. Считается, что они могут массово развиваться при низких его концентрациях, не превышающих 0,5 мг/л (Сиренко, 1972; Киселев, 1976). Литературных данных о развитии цианобактерий при высоких концентрациях фосфорных соединений нами не обнаружено. В работах Л.М. Герасименко и др. (1996, 1998), Герасименко (2002), В.К. Орлеанского и др. (1994, 1998), посвященным фосфатизации циано-бактериальных матов в лабораторных условиях, отмечено,

что уже при увеличении концентрации фосфора выше 60 мг/л начинается гибель культуры. Устойчивость цианобактерий к высокому содержанию фосфорных соединений и определение их пороговых концентраций имеет важное значение для экологической биотехнологии, так как циано-бактериальные сообщества могут быть использованы для очистки сточных вод. Известны работы, связанные с проблемой очистки сточных вод от фосфорных соединений, но выполнены они с использованием представителей родов *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Microlunatus*, *Tetrasphaera*, *Microlunutus*, *Thiothrix*, «*Candidatus Accumulibacter phosphatis*» (некультивируемые микроорганизмы), «*Candidatus Halomonas phosphatis*» (в настоящее время «*Candidatus Accumulimonas spp.*») (Дорофеев и др., 2020).

Поступление фосфора в клетку происходит при активном его транспорте через мембрану (Kulaev, 1979; Герасименко, 2002), и он накапливается там в большей концентрации, чем во внешней среде, т. е. поступление фосфора в клетку может идти против градиента концентрации. В отношении фосфорного обмена (учитывая лимитирование фосфора в природе) это правило имеет большой биологический смысл, так как клетка может создавать резерв этого элемента и расходовать его постепенно, обходясь без дополнительного источника очень долго.

Микробиологические исследования влияния концентраций фосфора на жизнедеятельность циано-бактериальных сообществ показало, что при повышении в среде концентрации фосфора клетка очень интенсивно начинает запасать фосфор в виде волютиновых (полифосфатных) гранул. Одновременно на поверхности клеток появляется слизистый чехол, толщина которого иногда вдвое превышает толщину трихомов (Герасименко, 2002). Эта структура защищает клетки от неблагоприятных условий среды.

Для сравнительного анализа инокулированных и культивируемых циано-бактериальных сообществ при различных концентрациях фосфатов определяли их морфологию. Микроскопирование приготовленной для экспериментов

суспензии из озера Южное, показало присутствие только трихомных форм цианобактерий. В суспензии из ЗПО обнаружены трихомные и скопления одноклеточных цианобактерий. В суспензии из озер Северное и ЕСР присутствуют единичные клетки кокков, а основу сообществ составляют трихомные цианобактерии.

Анализ результатов показал, что все сообщества при культивировании в среде с исследуемыми концентрациями фосфора были жизнеспособными и их дерновины не теряли сине-зелёной окраски.

В эксперименте с циано-бактериальными сообществами из озера Северного на среде  $BG_N-11$  визуально было обнаружено разрастание дерновинок яркого сине-зелёного цвета, биомасса которых увеличилась с 1,6 г/л до 4,7 г/л (рис. 23).

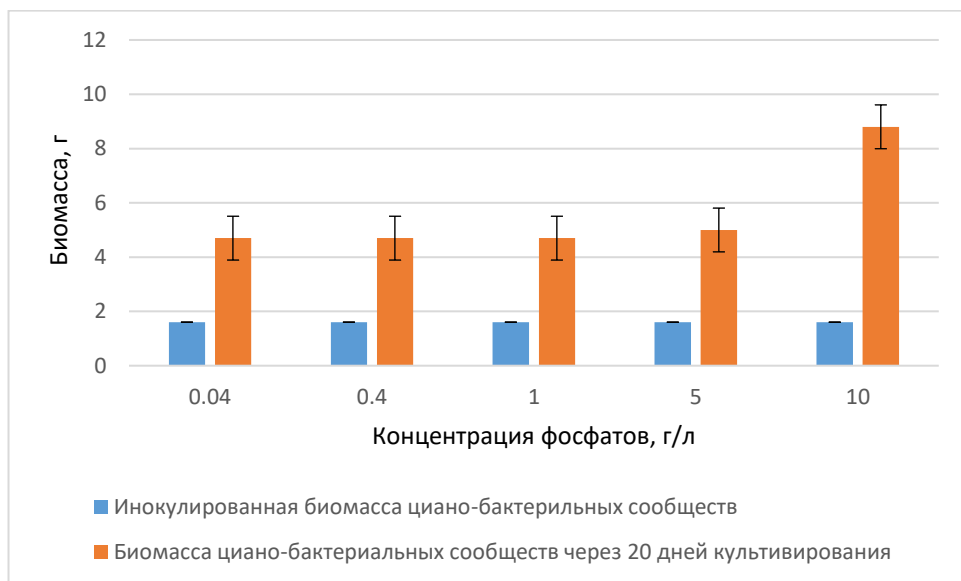


Рисунок 23 - Влияние концентрации фосфатов на развитие циано-бактериальных сообществ из озера Северное

При увеличении концентрации фосфатов от 0,4 г/л до 10 г/л визуально также наблюдается разрастание дерновинок и увеличение прироста их биомассы. Так при концентрации 0,4 г/л сухая биомасса после 10 дней культивирования составляет 4,7 г/л, при концентрации фосфатов 1 г/л, 5 г/л и 10 г/л – 4,4 г/л, 5,0 г/л и 8,8 г/л, соответственно (табл. 20).

Таким образом, наибольший прирост биомассы 8,8 г/л обнаружен при концентрации 10 г/л.

Микроскопическое исследование дерновинок циано-бактериальных сообществ из озера Северное после окончания экспозиции показало, что с увеличением концентрации фосфатов происходит смена доминантов сообществ. Если при содержании фосфатов 0,04 г/л обнаружено превалирование трихомных форм вида *Phormidium valderiae*, то при концентрации 0,4 г/л начинает увеличиваться количество кокковых форм (рис. 28). При концентрации 1 г/л, 5 г/л и 10 г/л наблюдается полное доминирование кокковых форм вида *Synechocystis* sp. (рис. 29, 30, 31).

В циано-бактериальных сообществах из ЕСР визуально обнаружено разрастание дерновинок во всех исследуемых вариантах опыта. С увеличением концентрации фосфатов наблюдается интенсификация сине-зелёной окраски и увеличение наращиваемой биомассы. При количестве фосфатов 0,04 г/л, 0,4 г/л, 1 г/л, 5 г/л, 10 г/л содержание сухой биомассы составляло 2,0 г/л, 2,5 г/л, 5,3 г/л, 9,0 г/л, 11,1 г/л (рис. 24).

При микроскопическом исследовании дерновинок циано-бактериальных сообществ водоёма ЕСР наблюдается тенденция постепенного увеличения количества кокков по мере повышения концентрации фосфатов. При содержании фосфатов 0,04 г/л развиваются только нити, идентифицированные как *Phormidium tenuissimum*, при 0,4 г/л образуются скопления кокков яркого сине-зелёного цвета, увеличивающиеся при 1 г/л и 5 г/л (рис. 32, 33, 34). При 10 г/л происходит ингибирование нитчатых форм и превалирование кокков, которые идентифицированы как *Synechocystis* sp. (рис. 35).

В культуре из озера Южного при развитии в концентрации фосфора 0,04 г/л визуально было обнаружено разрастание дерновинок яркого сине-зелёного цвета, биомасса которых увеличилась с 1,6 г/л до 4,0 г/л. При дальнейшем увеличении количества фосфатов наблюдается разрастание дерновинок и увеличение сухой биомассы. При содержании фосфатов 0,4 г/л, 1 г/л, 5 г/л и 10

г/л её количество составило 4,3 г/л, 4,5 г/л, 5,7 г/л, 10,3 г/л, соответственно (рис. 25).

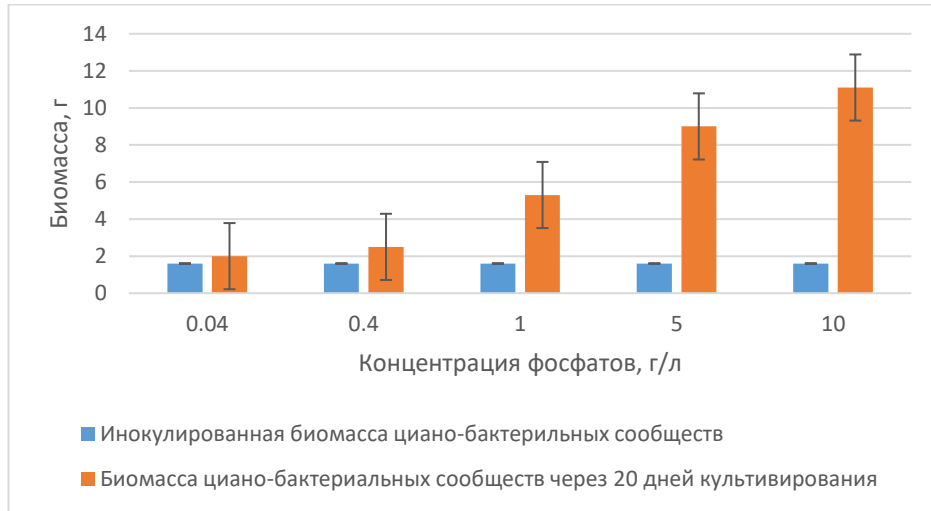


Рисунок 24 - Влияние концентрации фосфатов на развитие циано-бактериальных сообществ из ЕСР.

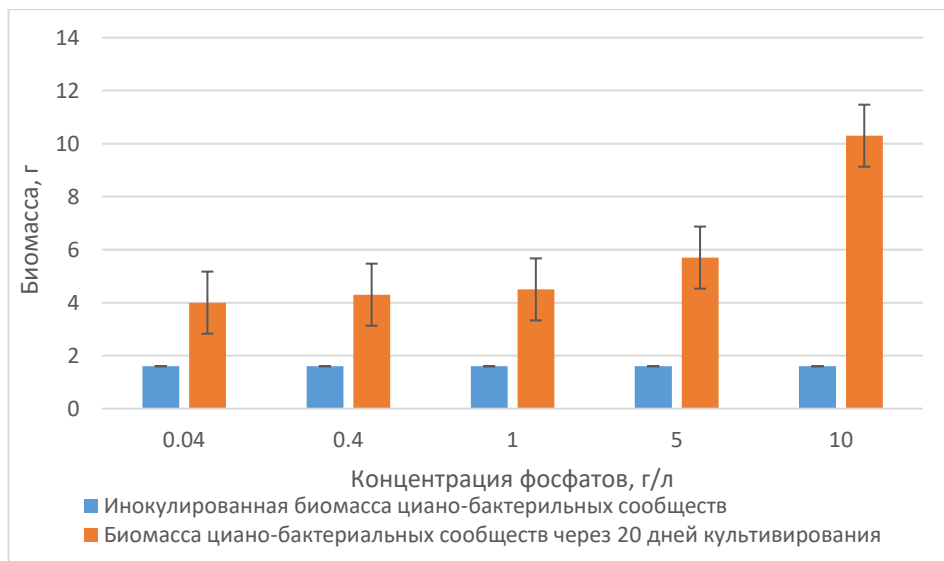


Рисунок 25 - Влияние концентрации фосфатов на развитие циано-бактериальных сообществ из озера Южное

Микроскопическое исследование дерновинок циано-бактериальных сообществ из озера Южное при культивировании в концентрации фосфора 0,04 г/л показало доминирование нитей вида *Phormidium valderiae*. При остальных концентрациях фосфатов развиваются и трихомные и одноклеточные цианобактерии при преобладании трихомных (рис. 36, 37, 38, 39). При



концентрации 10 г/л обнаружено доминирование нитчатых цианобактерий вида *Phormidium tenue* (рис. 39).

Культура, полученная из водоёма ЗПО, имела самую интенсивную сине-зелёную окраску при культивировании в концентрации фосфора 0,04 г/л, биомасса достигала 2,7 г/л. При остальных концентрациях фосфатов 0,4 г/л, 1 г/л, 5 г/л, 10 г/л разрастание дерновинок и прирост биомассы не наблюдался (табл. 21, рис. 26).

Микроскопическое исследование дерновинок циано-бактериальных сообществ из водоёма ЗПО показало, что при концентрации фосфатов 0,04 г/л трихомные и одноклеточные находятся примерно в одинаковом количестве. При остальных концентрациях фосфатов наблюдается доминирование трихомных цианобактерий вида *Phormidium valderiae* (рис. 40, 41).

Таким образом, интервал исследуемых концентраций фосфора не оказывает влияния на фотосинтетическую деятельность, косвенным показателем которой является интенсивность окраски дерновинок. Каждое из исследуемых сообществ по-разному реагировало на концентрации фосфора, как в приросте биомассы, так и в морфологическом аспекте. В сообществах из озера Северное, Южное и ЕСР по мере увеличения концентрации фосфатов наблюдалось и увеличение прироста биомассы.

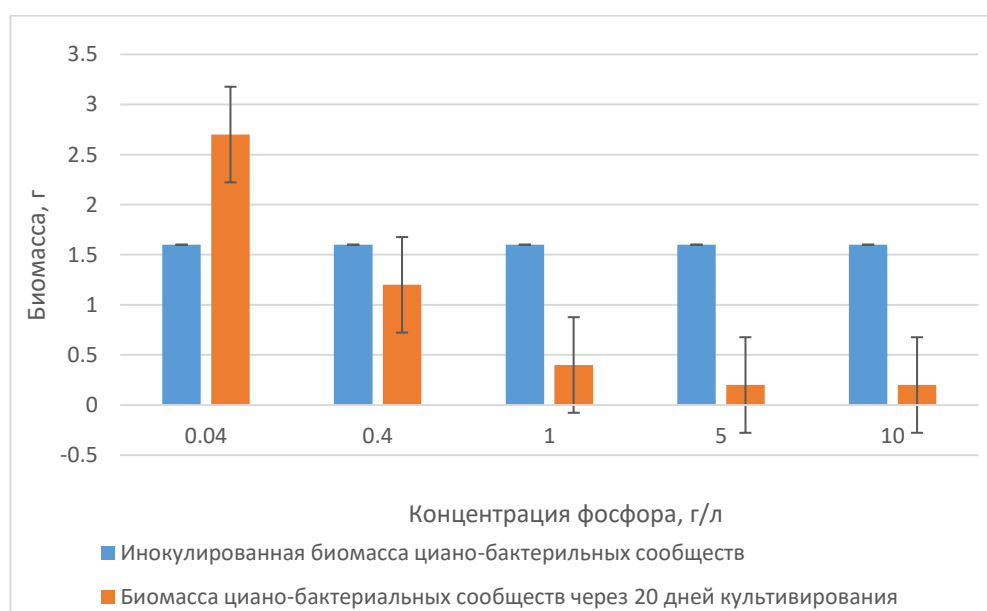


Рисунок 26 - Влияние концентрации фосфатов на развитие циано-

бактериальных сообществ из ЗПО

Таблица 21 - Влияние различных концентраций фосфора на морфологию и прирост биомассы циано-бактериальных сообществ

Объект исследования и конц. Р в эксперименте (г/л)	Структурообразователи	Морфологические доминанты циано-бактериальных сообществ	Биомасса цианобактерий после 20 дней культивирования (г/л)
1	2	3	4
Северное	<i>Phormidium valderiae</i>	нити	4,7
0,04		нити и кокки	4,7
0,4		нити и кокки	4,4
1		кокки	5,0
5		кокки	8,8
10	<i>Synechocystis</i> sp.		
Южное	<i>Phormidium valderiae</i>	нити	4,0
0,04		нити	4,3
0,4		нити	4,5
1	<i>Phormidium tenue</i>	нити	5,7
5		нити	10,3
10			
ЗПО	<i>Phormidium valderiae</i>	нити и кокки	2,7
0,04		нити	1,2
0,4		нити	0,4
1		нити	0,2
5		нити	0,2
10			
ЕСР	<i>Phormidium tenuissimum</i>	нити	2,0
0,04		нити и кокки	2,5
0,4		нити и кокки	5,3
1	<i>Synechocystis</i> sp.	нити и кокки	9,0
5		нити и кокки	11,1
10		нити и кокки	

Несмотря на то, что сообщество из ЗПО было выделено при самой большой концентрации фосфатов, 4,1 мг/л по сравнению с другими (Северное - 0,24 мг/л; Южное - 0,08 мг/л; ЕСР - 1,9 мг/л), повышение концентрации в опытах в 10 раз (0,04 г/л) незначительно увеличивало прирост биомассы сообщества до 1,1 г/л, при увеличении концентрации в 100 раз и более (0,4 г/л – 10 г/л) рост биомассы не наблюдался. Следовательно, концентрация фосфатов выше 40 мг/мл

ингибирует рост сообщества из ЗПО. Во всех остальных сообществах ингибирование жизнедеятельности опытными концентрациями фосфатов не наблюдалось. В опытах с сообществом из ЕСП при концентрации фосфатов 10 г/л обнаружен самый значительный прирост биомассы – 9,5 г/л. При микроскопировании препаратов при концентрации фосфатов от 0,4 до 10 г/л была обнаружена постепенная замена трихомных цианобактерий *Phormidium tenuissimum* на одноклеточные *Synechocystis* sp. Аналогичная картина наблюдалась в опытах с сообществами из озера Северное. Прирост биомассы при 10 г/л достигал 7,2 г/л, доминант *Phormidium valderiae* сменился на *Synechocystis* sp. В сообществах из озера Южное прирост биомассы при 10 г/л достигал 8,7 г/л, при всех исследуемых концентрациях фосфатов доминировали нитчатые цианобактерии: до 1 г/л преобладали *Phormidium valderiae*, а при 5 г/л и 10 г/л доминировали *Phormidium tenue*. Можно предположить, что присутствие *Phormidium tenue* влияет на развитие кокковых форм. Кроме того, это сообщество выделено при самых высоких значениях в воде озера хлоридов 44,73 г/л, сульфатов 14,17 г/л, бикарбонатов 0,57 г/л и минерализации 96,08 г/л.

Значительное наращивание биомассы циано-бактериальных сообществ было обнаружено в концентрации 1 г/л при доминантах *Phormidium tenuissimum* и *Synechocystis* sp. до 5,3 г/л; при концентрации 5 г/л - *Synechocystis* sp. до 9,0 г/л, *Phormidium tenue* до 5,7 г/л, *Synechocystis* sp. до 5,0 г/л; при концентрации 10 г/л - *Synechocystis* sp. до 11,1 г/л, *Phormidium tenue* до 10,3 г/л, *Synechocystis* sp. до 8,8 г/л.

Следует отметить, что при более низких концентрациях 0,04 г/л и 0,4 г/л только в циано-бактериальных сообществах, выделенных из озера Северное, наблюдается также значительный прирост биомассы до 4,7 г/л при доминантах *Phormidium valderiae*.

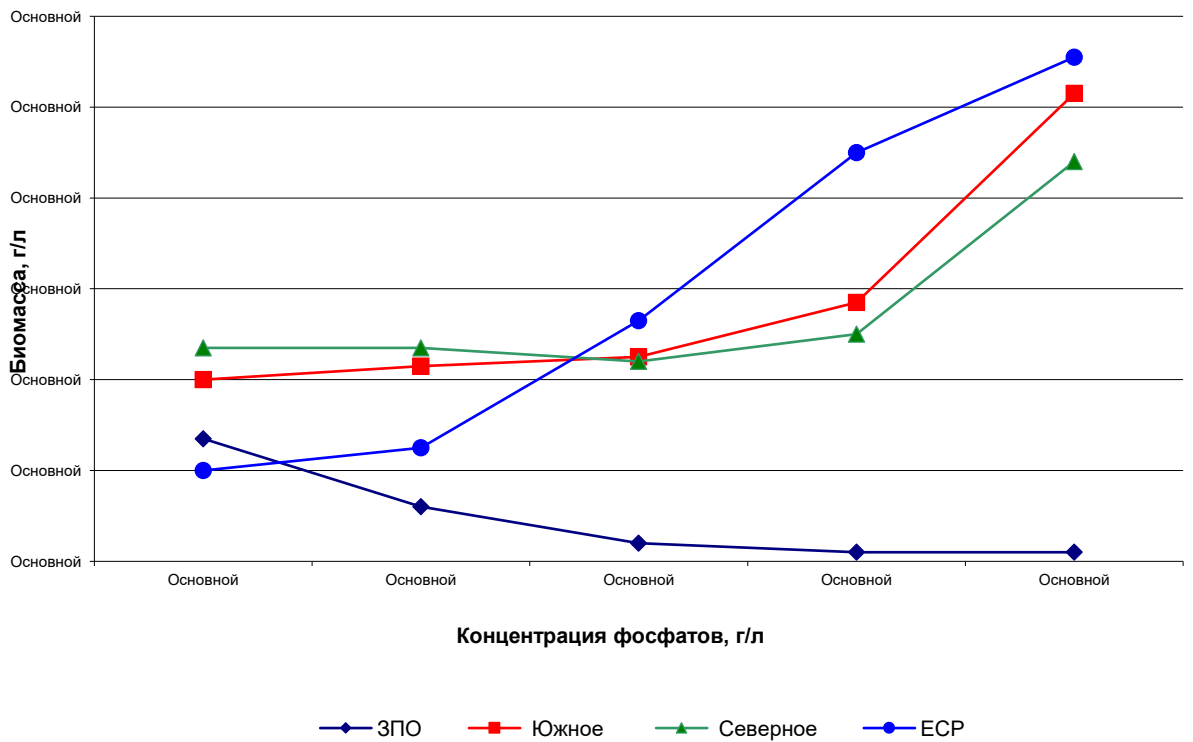


Рисунок 27 - Влияние концентрации фосфатов на развитие исследуемых циано-бактериальных сообществ

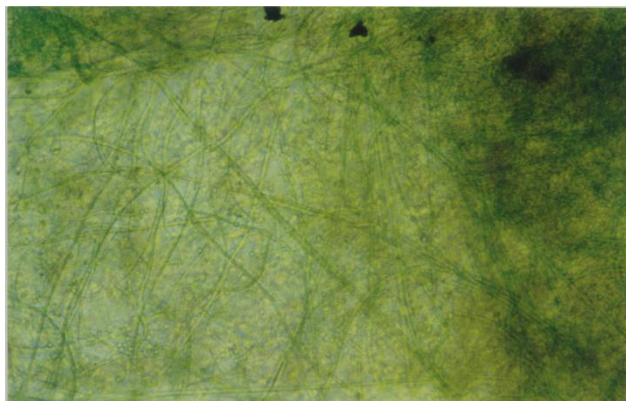


Рисунок 28 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из озера Северное, развивающихся при концентрации фосфатов 0,4 г/л (x300)

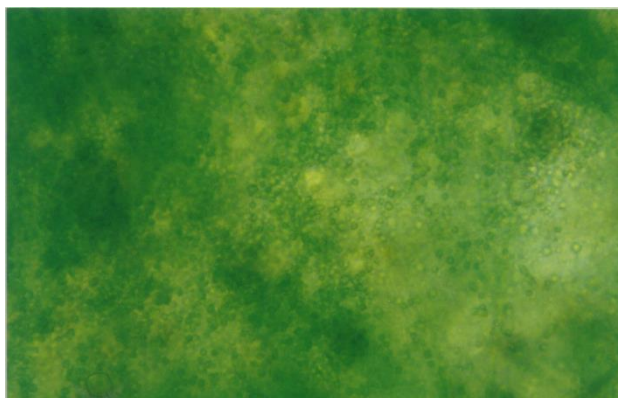


Рисунок 29 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из озера Северное, развивающихся при концентрации фосфатов 1 г/л (x600)

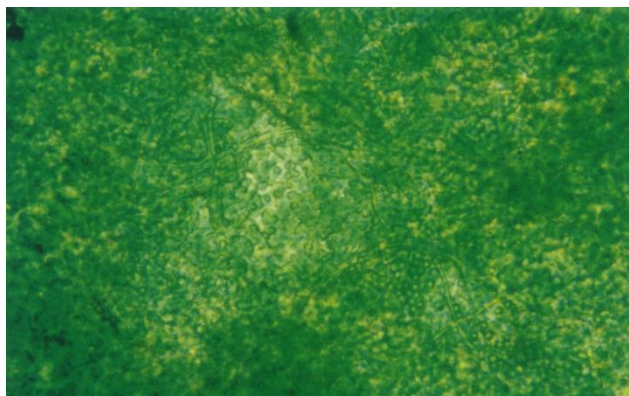


Рисунок 30 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из озера Северное, развивающихся при концентрации фосфатов 5 г/л (x600)

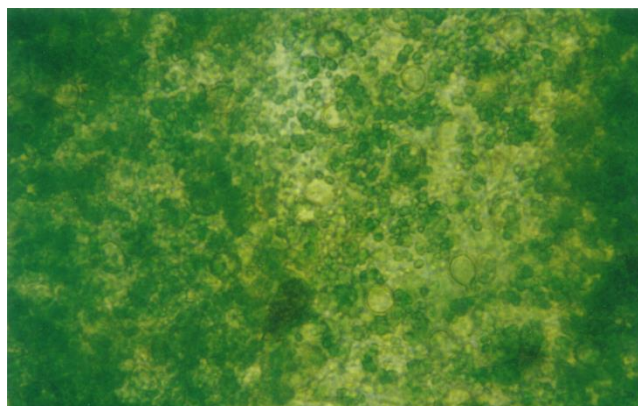


Рисунок 31 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из озера Северное, развивающихся при концентрации фосфатов 10 г/л (x600)

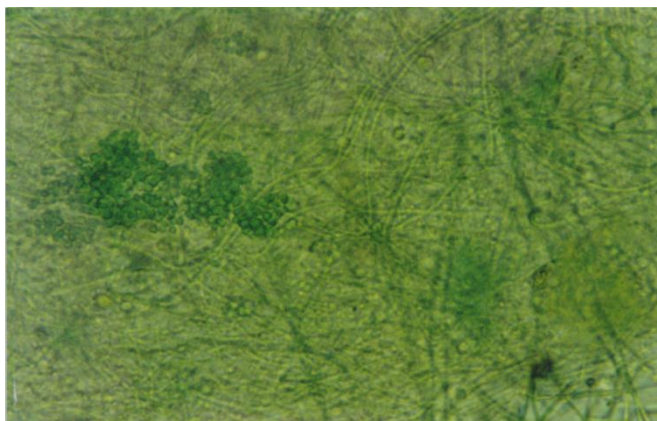


Рисунок 32 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из ЕСР, развивающихся при концентрации фосфатов 0,4 г/л (x600)

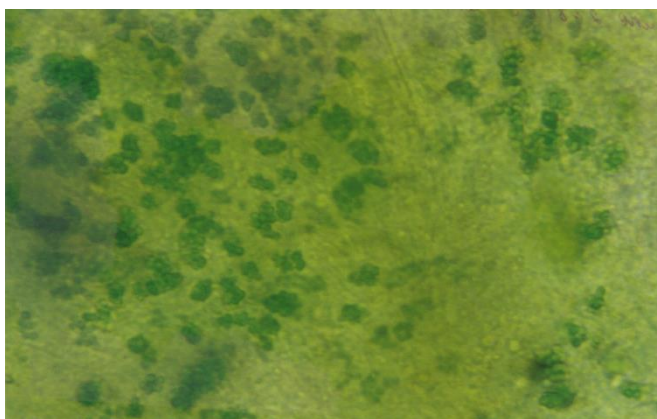


Рисунок 33 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из ЕСР, развивающихся при концентрации фосфатов 1 г/л (x600)

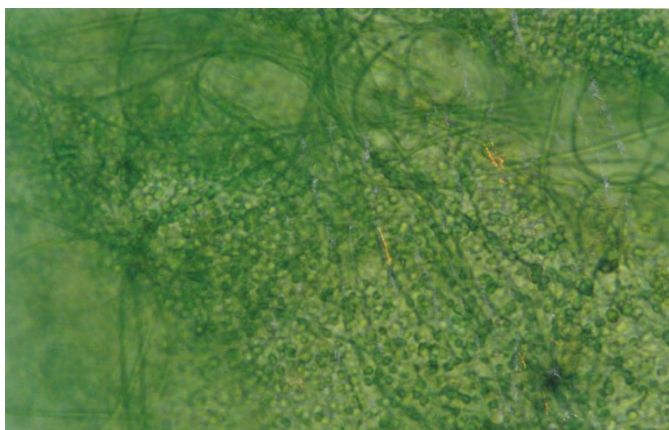


Рисунок 34 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из ЕСР, развивающихся при концентрации фосфатов 5 г/л (x600)

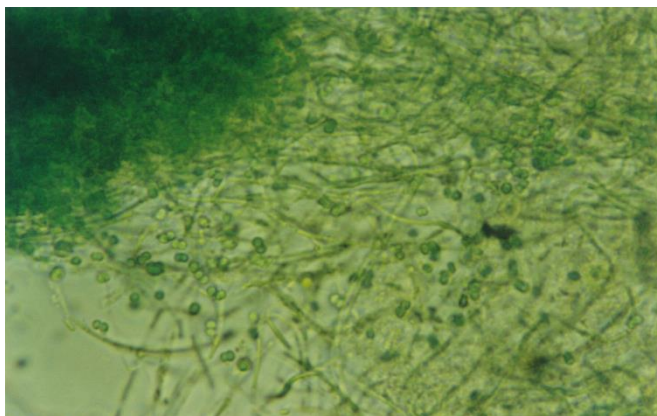


Рисунок 35 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из ЕСР, развивающихся при концентрации фосфатов 10 г/л (x600)

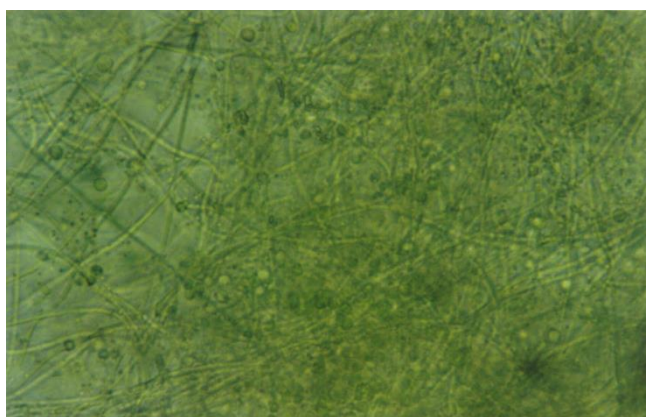


Рисунок 36 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из озера Южное, развивающихся при концентрации фосфатов 0,4 г/л (x600)

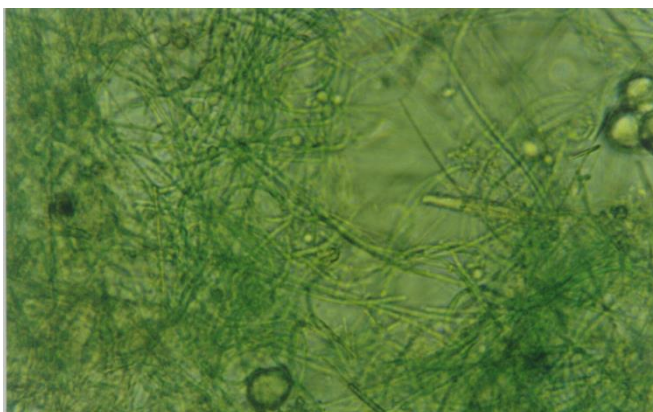


Рисунок 37 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из озера Южное, развивающихся при концентрации фосфатов 1 г/л (x600)

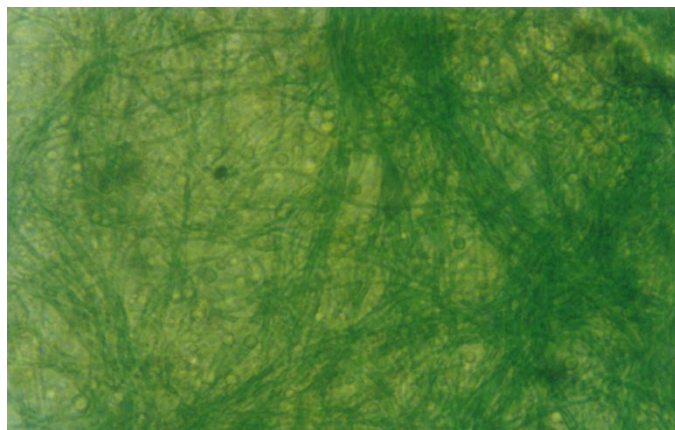


Рисунок 38 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из озера Южное, развивающихся при концентрации фосфатов 5 г/л (x600)

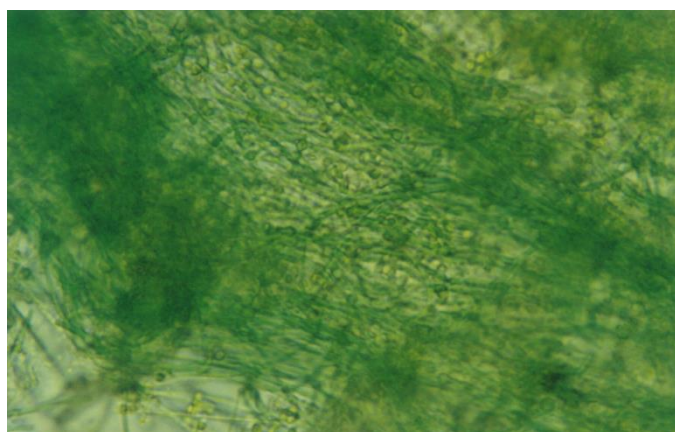


Рисунок 39 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из озера Южное, развивающихся при концентрации фосфатов 10 г/л (x600)

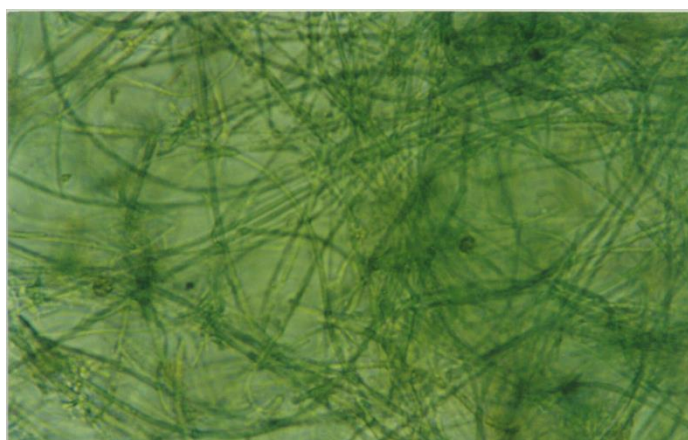


Рисунок 40 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из ЗПО, развивающихся при концентрации фосфатов 0,4 г/л (x600)



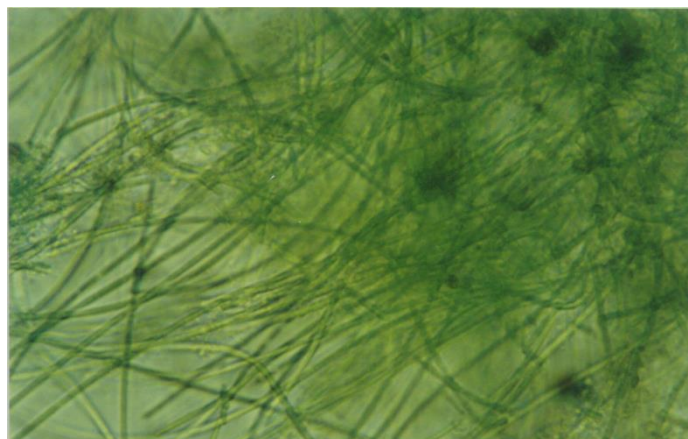


Рисунок 41 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из ЗПО, развивающихся при концентрации фосфатов 10 г/л (x600)

При доминантах *Synechocystis* sp. обнаружена биомасса циано-бактериальных сообществ от 5,0 г/л до 11,1 г/л; *Phormidium tenuissimum* – от 2,0 г/л до 2,5 г/л; *Phormidium valderiae* – от 1,2 г/л до 4,7 г/л; *Phormidium tenue* от 5,7 г/л до 10,3 г/л.

При концентрации фосфора 0,04 г/л жизнеспособными являются все исследуемые циано-бактериальные сообщества; при концентрации 0,4 г/л и 1 г/л – сообщества, выделенные из водоёмов Северное, Южное, ЕСР; при концентрации 5 г/л и 10 г/л в этих сообществах наблюдается тенденция увеличения биомассы.

Предположительно *Phormidium valderiae* без присутствия ассоциантов плохо адаптируется к более высоким концентрациям фосфатов, хотя выделен из водоёма ЗПО с содержанием фосфатов – 4,1 мг/л.

Анализируя результаты исследования можно выделить наиболее резистентное к концентрациям фосфатов от 0,04 г/л до 10 г/л из всех исследуемых сообществ – сообщество, выделенное из ЕСР и из озера Южное, в которых эдификаторами являются одноклеточные и трихомные цианобактерии, соответственно.

#### 6.1.4. Отношение цианобактерий к степени солености

Наблюдения показали, что через 10 дней культивирования в сообществах из ЕСР разрастание дерновинок и налёт были обнаружены в колбах только при концентрации солей 10 г/л. В вариантах опыта концентрацией солей 50 г/л и 100 г/л внесённые дерновинки не проявляли признаков роста. При концентрации солей 400 г/л наблюдалось обесцвечивание дерновинок. Самый большой прирост биомассы обнаружен при содержании солей 10 г/л – 6,2 г/л, который по мере повышения минерализации постепенно уменьшался: при концентрации солей 50 г/л прирост составлял 4,1 г/л, при 100 г/л – 3,6 г/л, при 400 г/л – 0,3 г/л. Микроскопическое исследование циано-бактериальных сообществ во всех вариантах опыта показало доминирование цианобактерий, идентифицированных как *Phormidium fragile* (табл. 22).

Разрастание дерновинок и налёт на стенках колбочек в сообществах из озера Южное наблюдался при концентрациях соли 10 г/л, 50 г/л и 100 г/л. В варианте опыта с концентрацией солей 400 г/л признаков роста не обнаружено.

Таблица 22 - Влияние общего содержания солей на морфологию и прирост биомассы циано-бактериальных сообществ в эксперименте

Концентрация солей в вариантах опыта (г/л)	Структурообразователи	Прирост биомассы (г/л)
ЕСР		
10	<i>Phormidium fragile</i>	6,2
50	<i>Phormidium fragile</i>	4,1
100	<i>Phormidium fragile</i>	3,6
400	<i>Phormidium fragile</i>	0,3
Южное		
10	<i>Phormidium fragile</i>	11,2
50	<i>Phormidium tenue</i> , <i>Phormidium fragile</i>	12,1
100	<i>Phormidium bohneri</i> , <i>Phormidium fragile</i>	5,0
400	<i>Phormidium tenuissimum</i>	0,7

Самый большой прирост биомассы, равный 12,1 г/л, обнаружен при концентрации соли 50 г/л, эдификаторами сообществ являлись *Phormidium tenue*

и *Phormidium fragile*. При увеличении содержания солей происходила смена структурообразователей сообществ и уменьшение прироста биомассы.

При выявлении эдификаторов сообществ обнаружено, что при концентрации солей 10 г/л доминантами являлись *Phormidium fragile*, при 100 г/л - *Phormidium Bohneri* и *Phormidium fragile* (рис. 43), при 400 г/л - *Phormidium tenuissimum*.

Исследование биомассы циано-бактериальных сообществ из озера Южное показало, что при содержании солей 10 г/л прирост биомассы составил 11,2 г/л, при 100 г/л – 5,0 г/л, при 400 г/л – 0,7 г/л (рис. 42).

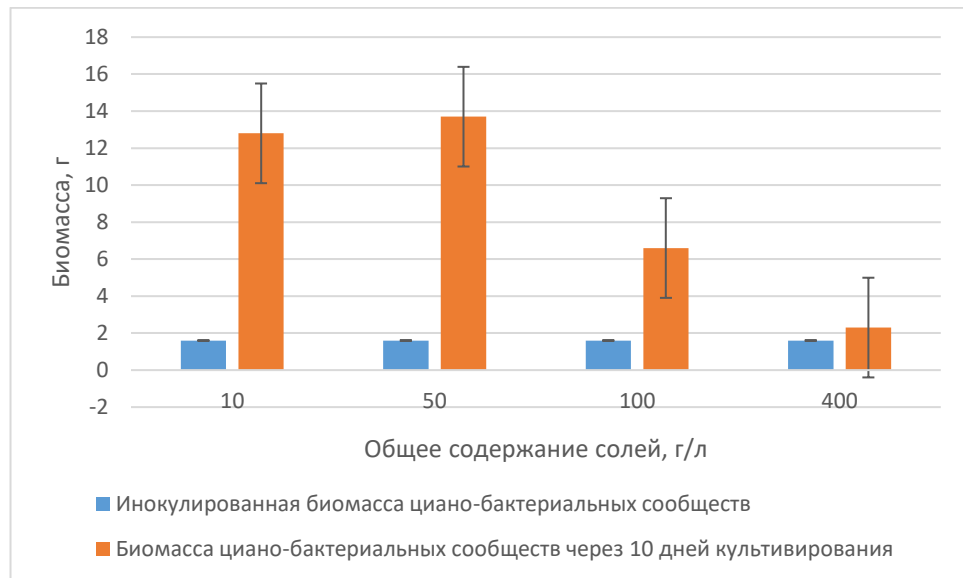


Рисунок 42 - Влияние общего содержания солей на развитие циано-бактериальных сообществ из озера Южное.

Анализ прироста биомассы после окончания экспозиции показал, что значительное наращивание биомассы исследуемых циано-бактериальных сообществ было обнаружено при концентрации солей 50 г/л при доминантах *Phormidium tenue* и *Phormidium fragile* до 13,7 г/л и 10 г/л при доминантах *Phormidium fragile* до 12,8 г/л (табл. 21).

Несмотря на то, что в вариантах опытов с минерализацией 400 г/л визуального признаков роста не обнаружено, происходило увеличение биомассы до 1,9 г/л (ЕСР) и 2,3 г/л (Южное).

Следует отметить, что прирост биомассы обнаружен во всех вариантах опыта, но наблюдалась тенденция уменьшения прироста биомассы с увеличением концентрации солей. Биомасса циано-бактериальных сообществ из озера Южное при всех концентрациях солей была выше, чем биомасса сообществ из ЕСР.

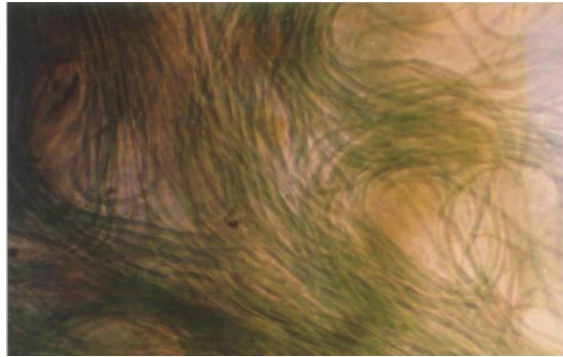


Рисунок 43 - Морфология циано-бактериальных сообществ, выделенных из озера Южное, развивающихся при общем содержании солей 100 г/л (x800)

Проведённые эксперименты показали, что исследуемые сообщества способны развиваться в широком диапазоне общего содержания солей от 10 г/л до 400 г/л. Под влиянием концентраций солей, используемых в опытах, морфология циано-бактериальных сообществ не изменяется, но происходит смена видов трихомных цианобактерий рода *Phormidium*.

Таким образом, можно говорить о жизнеспособности изучаемых циано-бактериальных сообществ в диапазоне общего содержания солей от 10 до 400 г/л. Анализ прироста биомассы, представленный в таблице, показывает диапазон оптимальных значений общего содержания солей для циано-бактериального сообщества из ЕСР, равный 10 г/л, и для сообщества из озера Южное – 50 г/л.

Анализируя результаты исследования можно говорить о сообществе, выделенном из озера Южное, как наиболее резистентном к концентрациям солей от 10 г/л до 400 г/л.

Так как циано-бактериальное сообщество из озера Южное в вышеописанных лабораторных экспериментах оптимально развивается при концентрации солей 50 г/л, а выделено оно при содержании солей 96,00 г/л, то представляет интерес исследование развития данного сообщества в интервале солёности между 50 г/л и 100 г/л. Культивирование проводили при концентрации солей 60 г/л, 70 г/л, 80 г/л и 90 г/л при температуре 20°C в люминостате в течение 10 дней. Визуально отмечено разрастание дерновинок и образование налёта во всех вариантах опыта, причем появление этих признаков происходило одновременно. Таким образом, данное циано-бактериальное сообщество не только жизнеспособно, но и развивается при всех опытных концентрациях солей.

## **6.2. Исследование фитотоксичности цианобактерий и их сообществ в лабораторных условиях**

### **6.2.1. Исследование фитотоксичности цианобактерий в опыте с кресс-салатом (семейство Капустные)**

Известно, что почвенные микроорганизмы стимулируют рост растений, позволяют получить экологически чистую продукцию и вносят существенный вклад в плодородие почвы. Они образуют многочисленные физиологически активные вещества, которые поступают в корни растений и интенсифицируют их рост, увеличивают урожайность сельхозкультур, сокращают сроки созревания, повышают питательную ценность, повышают устойчивость к болезням, заморозкам, засухе и другим неблагоприятным факторам, борются с сорной растительностью и выполняют многие другие функции (Трефилова, 2008). Цианобактерии экономичны при культивировании и обладают высокими скоростями роста, что очень важно для производства биопрепаратов. За 20 дней цианобактерии накапливают до 15 т биомассы на 1 га.

Растение особенно чувствительно к факторам внешней среды в ранние

периоды роста, когда прорастает семя и формируется проросток, поэтому влияние альголизации легче всего определить именно в этот период жизни растения, чем в последующие фазы (Логинов, 2005).

Для того чтобы оценить фитостимулирующее действие исследуемых сообществ на высшие растения проводили альголизацию семян кресс-салата *Lepidium sativum* суспензией циано-бактериальных сообществ. Наличие ростстимулирующего, ингибирующего или нейтрального эффекта определяли, сравнивая всхожесть семян, длину корня и стебля растений в контрольном и опытных вариантах.

В результате обработки полученных данных, исследуемые циано-бактериальные сообщества оказались нетоксичными для семян кресс-салата. Всхожесть семян, обработанных сообществами № 2, №6, №12, №14 была больше, чем в контроле на 0,3-9,3%. Максимальная всхожесть семян – составила 95,0% при обработке сообществом цианобактерий №14 (табл. 23).

Таблица 23 - Влияние бактериализации почвенными циано-бактериальными сообществами на фенологические показатели семян кресс-салата

Вариант (№ сообщества цианобактерий)	Всхожесть семян, %	Средний размер длины корня, мм	Средний размер длины побега, мм
Контроль	85,7±1,2	25,7±1,4	13,4±0,6
2	86,0±1,1	31,9±1,9	14,0±1,0
5	82,6±2,4	31,4±1,1	19,2±0,2
6	87,3±2,9	31,7±1,2	13,0±0,4
11	83,6±3,5	39,7±1,8	15,4±0,4
12	88,0±1,1	31,0±0,5	13,9±0,7
14	95,0±0,6	38,0±0,4	13,6±0,5
15	78,6±4,6	32,7±1,5	13,8±0,5
21	84,0±1,1	43,7±0,2	17,5±0,3
<i>Anabaena constricta</i>	98,7±1,2	34,6±0,4	17,1±0,2

Анализ полученных данных показал, что ростстимулирующей активностью обладали все циано-бактериальные сообщества. Ингибирующий эффект отсутствовал. У сообществ №21 наблюдался ярко выраженный ростстимулирующий эффект, средняя длина корня в 1,7 раз, а средняя длина

стебля в 1,3 раза больше, чем в контроле. Доминирующими цианобактериями в сообществе является род *Nostoc*, это азотфиксирующие гетероцистные формы, играющие большую экологическую роль в почвах, и имеющих активное влияние на растения (Панкратова и др., 2008). Наибольшую ростстимулирующую активность также проявили сообщества цианобактерий №5, №11, №14 и альгологически чистая культура *Anabaena constricta*. При бактеризации сообществом №5 обнаружена максимальная длина побега 19,2 мм. Максимальная длина корня 43,7 мм выявлена при обработке сообществом №21. Слабостимулирующий эффект отмечен у семян, подверженных бактеризации сообществами №6, №12.

По литературным данным известно, что ростстимулирующий эффект цианобактерий связан с наличием в них ауксино- и гиббериллиноподобных веществ. Таким образом, в результате проведенного эксперимента, цианобактериальные сообщества №2, №5, №6, №11, №12, №14, №15, №21 и культура *Anabaena constricta* – не токсичны, и их можно использовать для дальнейших опытов, в том числе и полевых, с растениями, произрастающими в Астраханской области, а также для разработок в агроэкологии.

### **6.2.2. Исследование фитотоксичности сообществ цианобактерий в опыте с пыреем бескорневищным (семейство Злаковые)**

Известна роль цианобактерий – как стимуляторов роста, на примере бобовых и других культур (Ковина, 1999; Панкратова и др., 2008; Трефилова, 2008), но малочисленны данные в России по их влиянию на рост кормовых, злаковых культур, которые важны для почв территорий с аридным климатом, например, Астраханской области.

Многолетние злаки, в частности пырей бескорневищный *Agropyrum tenerum*, *Elimus novae-angliae*, способны развиваться на бесструктурных слабогумифицированных почвах, при этом происходит процесс восстановления структуры почвы за счет развития мощной корневой системы и накопление органического вещества. Это приводит к восстановлению ресурсного

потенциала почв и предотвращению деградации и опустынивания земель. При развитии пырея бескорневищного происходит смыкание корневых систем и образование плотной травяной массы на поверхности почвы, что способствует уменьшению испаряемости влаги и ее накоплению в плодородном слое почвы. Кроме того, кормовые растения, в том числе и пырей бескорневищный, отличаются исключительно высокой потенциальной приспособленностью к сочетанию экстремальных экологических факторов аридных регионов: почвенная и воздушная засуха, большой перепад суточных и сезонных температур, высокие абсолютные значения температуры и относительной влажности воздуха в ксеротермический период, засоленность почв, низкое содержание в них питательных веществ и т.д. (Агротехнологии., 2005). Такие свойства пырея бескорневищного определяют его как эффективного фитомелиоранта для почв, подверженных ветровой эрозии на аридных территориях. Пырей бескорневищный является ценной кормовой культурой сенокосно-пастбищного типа.

В опыте использовали семена пырея бескорневищного сорта «Озерненский». Для исследования использовали лабораторные циано-бактериальные сообщества №2, №5, №6, №11, №12, №15, №21, выделенные из различных почвенных экосистем Астраханской области, с активными фитостимулирующими свойствами, которые изучали в предварительно проведенных экспериментах с помощью теста на семенах кресс-салата.

Результаты обработки полученных данных показывают, что токсичный эффект на семена пырея бескорневищного вызвало циано-бактериальное сообщество №6 (табл. 24). Остальные сообщества не токсичны для растений. Максимальная всхожесть семян – 53 % наблюдалась при обработке их сообществом цианобактерий №2.

Анализ полученных данных показывает, что ростстимулирующей активностью обладают циано-бактериальные сообщества №2, 5, 11, 15, 21. Ингибирующий эффект наблюдался при бактеризации семян циано-



бактериальным сообществом №12. Сообщество №6 подавляло рост только проростков стебля, по сравнению с контролем.

Таблица 24 - Влияние бактериализации циано-бактериальными сообществами на фенологические показатели семян пырея бескорневищного

Вариант (№ сообщества цианобактерий)	Всхожесть семян, %	Средняя длина проростков семян пырея бескорневищного, мм	
		Корень	Стебель
контроль	15±1,2	290±0,8	320±1,3
2	53±0,8	320±2,1	410±2,5
5	14±2,4	400±1,9	550±2,4
6	2±1,0	350±2,6	300±0,8
11	20±3,2	470±0,8	400±1,3
12	18±1,8	250±2,2	280±1,6
15	24±1,3	470±0,4	580±0,6
21	16±2,6	360±0,5	370±1,4

Наибольшую ростстимулирующую активность проявляли сообщества цианобактерий №11 и №15. Средняя длина проростков, обработанных данными циано-бактериальными сообществами, превышала контрольный вариант в диапазоне от 80 до 260 мм.

Таким образом, циано-бактериальные сообщества № 2, 11, 15 проявили наибольший ростстимулирующий эффект на растение пырей бескорневищный семейства Злаковые.

### **6.2.3. Исследование влияния сообществ цианобактерий на рост томатов в ранней фазе развития растений (семейство Пасленовые)**

Для исследования использовали лабораторные циано-бактериальные сообщества №2, №5, №6, №11, №12, №14, №15, №21, выделенные из различных почвенных экосистем Астраханской области. Для изучения способности циано-бактериальных сообществ стимулировать всхожесть растений томатов сорта «Новый принц», был поставлен лабораторный опыт.

Всхожесть семян оценивали путем подсчета нормально проросших семян на 6й, 10й и 17й день культивирования. При обработке результатов учитывали всхожесть семян, длину побегов и количество листьев растений в контрольном

и опытных вариантах.

Появление первых проростков томатов наблюдалось у экспериментальных растений на 4 сутки вегетации, проростки контрольных растений появились на 6 сутки (рис. 44). Всхожесть при обработке семян цианобактериями превышала контроль в 1,3-7,5 раз (табл. 25). Бактеризация циано-бактериальными сообществами показала стимулирование всхожести во всех вариантах опыта, кроме обработки сообществами № 6 и № 11 на 10й и 17й дни культивирования, по сравнению с контролем.



Рисунок 44 - Влияние цианобактерий на рост томатов

Таблица 25 - Влияние бактериализации циано-бактериальными сообществами на всхожесть семян томатов

Вариант	Всхожесть семян, %		
	6й день	10й день	17й день
Контроль	2,0±1,0	30,0±2,0	40,0±2,5
№2	12,5±4,8	62,5±2,5	67,5±4,8
№5	12,5±4,8	30,0±7,1	47,5±4,8
№6	2,5±2,5	25,0±6,5	40,0±10,8
№11	12,5±4,8	27,5±4,8	37,5±4,8
№12	7,5±4,8	32,5±6,3	47,5±7,5
№14	10,0±1,5	30,0±7,1	42,5±6,3
№15	15,0±6,5	35,0±2,9	47,5±4,8
№21	7,5±4,8	40,0±8,2	52,5±4,8

Наибольшая всхожесть обнаружена при обработке сообществом №2, в 1,7 раз превышающей контроль на 17й день экспозиции, что возможно связано с доминирующими в сообществе азотфиксирующими формами, а также выделением биологически активных веществ, которые оказывают стимулирующий эффект на всхожесть семян.

Таблица 26 - Влияние обработки цианобактериями на длину побега и количество листьев на 17е сутки культивирования

Вариант	Средняя длина побега, мм	Среднее количество листьев на одно растение, шт.
Контроль	43,6±6,4	1,1±0,2
№2	71,3±5,5	1,5±0,1
№5	43,6±6,3	1,3±0,3
№6	40,4±6,2	2,4±1,3
№11	54,3±13,7	1,7±0,6
№12	57,5±7,4	1,4±0,2
№14	56,4±4,9	1,2±0,2
№15	54,9±5,8	1,7±0,1
№21	49,3±3,4	1,1±0,4

На 17е сутки инкубирования отмечали длину побега и количество листьев. Наибольшая длина побега обнаружена в вариантах: №2, 11, 12, 14, 15, 21 и составляет диапазон от 43,6±6,3мм до 71,3±5,5мм, при том, что в контроле этот показатель равен 43,6±6,4 мм (табл. 26). Среднее количество листовых пластин у экспериментальных растений составляло от 1,1±0,4 до 2,4±1,3, а у контрольных - 1,1±0,2. Также отмечено, что среди контрольных растений 2 проростка погибло, среди экспериментальных растений увядания не наблюдалось.

Эксперимент показал, что циано-бактериальные сообщества оказывают значительное влияние на исследуемые показатели развития растений. Растения, обработанные сообществом №2, имели длину побегов на 64% больше, чем в контроле. Среднее количество листьев на одном растении при обработке сообществом №2 превышало контроль на 0,4.

В результате проведенного эксперимента, отобраны циано-бактериальные сообщества № 2, 11, 15, 21 с наиболее активными фитостимулирующими

свойствами с целью проведения опытов по выявлению оптимальной концентрации суспензии цианобактерий для обработки растений. Сообщества с такими полезными свойствами можно использовать для дальнейших разработок в агроэкологии.

#### **6.2.4. Определение эффективной концентрации цианобактерий для обработки растений (семейство Пасленовые)**

В опыте использовали культуры циано-бактериальных сообществ №2, №11, №15, №21, изолят бактерий вида *Bacillus megaterium*, препарат «Эпин» (гормон роста растений - эпибрассинолид), семена томатов сорта «Дар Заволжья».

К природным стимуляторам роста растений относятся фитогормоны - ауксины, гиббереллины, цитокинины и другие. Природные стимуляторы роста функционируют в различных частях растений как регуляторы роста растений, прорастания семян, дифференциации тканей и органов, цветения, созревания плодов, опадания листьев и плодов, заживления ран и т.п. Фитогормоны попадают в окружающую среду в результате деятельности микроорганизмов, развивающихся в почве и ризосфере растений. Цианобактерии продуцируют биологически активные вещества – ауксины, этилен и др. Спорообразующие бактерии рода *Bacillus* являются основной составляющей сообщества почвы и ризосферы растений. Они обнаружены на поверхности и внутри различных частей растений: семенах, стеблях, корнях, клубеньках, что свидетельствует об их тесном взаимоотношении с растениями. Бактерии рода *Bacillus* способны синтезировать фитогормоны – ауксины, гиббереллины, цитокинины, этилен и др.

Первые всходы томатов наблюдались на четвёртые сутки. На 10-тые сутки в контроле число всходов составило 20,0% от числа посаженных семян (табл. 26). На 20-тые сутки после посадки была отмечена фаза полных всходов в опыте и в контроле.

Наибольшая всхожесть обнаружена в варианте опыта с обработкой сообществом №21 с концентрацией 0,05 г/мл – 70,0% на 10е и 90,0% на 20е сутки экспозиции (рис. 45). Достаточно высокой была всхожесть в варианте с сообществом № 11. На 20е сутки экспозиции всхожесть семян, обработанных сообществом №11, с концентрациями 0,03г/мл, 0,05г/мл, 0,08г/мл, составила 50,0%, 70,0%, 40,0% соответственно. Всхожесть семян, обработанных сообществом №2 с концентрацией 0,03 г/мл, составила 50,0% от общего количества посаженных семян, 0,05г/мл – 70,0%, 0,08г/мл – 10,0% на 20е сутки экспозиции (табл. 27).

Таблица 27 - Всхожесть семян томата при обработке циано-бактериальными сообществами в сравнительном аспекте

Кол-во суток экспозиции Вариант опыта (номер сообщества)	Всхожесть, %					
	Концентрация циано-бактериальных сообществ, г/мл					
	0,03		0,05		0,08	
	на 10е сутки	на 20е сутки	на 10е сутки	на 20е сутки	на 10е сутки	на 20е сутки
№2	30,0±10,0	50,0±10,0	40,0±20,0	70,0±10,0	10,0±10,0	10,0±10,0
№11	50,0±10,0	50,0±10,0	60,0±20,0	70,0±10,0	40,0±20,0	40,0±10,0
№15	30,0±10,0	40,0±20,0	20,0±5,3	80,0±20,0	30,0±10,0	30,0±10,0
№21	50,0±50,0	70,0±30,0	70,0±10,0	90,0±10,0	50,0±10,0	40,0±1,1
Кол-во суток экспозиции	на 10е сутки			на 20е сутки		
<i>Bacillus megaterium</i>	10,0±10,0			20,0±5,3		
Эпин	30,0±30,0			50,0±10,0		
Контроль	20,0±20,0			30,0±10,0		

Всхожесть семян на 20е сутки экспозиции, обработанных сообществом №15 с концентрацией 0,03 г/мл, составила 40,0% 0,05 г/мл – 80,0%, 0,08 г/мл – 30,0% от общего количества посаженных семян.

Всхожесть семян, обработанных стимулятором Эпином, составила 30,0% и 50,0% от числа посаженных семян.

Проведённые исследования показали, что токсичными является сообщество №2 с концентрацией 0,08 г/мл (всхожесть 10,0%), и изолят бактерий *Bacillus megaterium* (всхожесть 20,0%), так как количество всходов ниже 30%.



Рисунок 45 - Всхожесть семян обработанных сообществом №21

Анализ полученных данных показал, что на 20е сутки всхожесть семян, инокулированных циано-бактериальными сообществами, во всех вариантах выше, чем в контроле (30,0%), кроме вариантов с концентрацией 0,08 г/мл сообществ №2 и №15. Концентрация циано-бактериальных сообществ 0,08 г/мл оказывала ингибирующий эффект на растения.

Полученные данные показали, что наиболее активными являются все опытные циано-бактериальные сообщества при концентрации 0,05 г/мл, при которой наблюдалось максимальное стимулирующее действие на всхожесть семян.

На 21 день был проведён пролив суспензией циано-бактериальных сообществ, суспензией бактерий *Bacillus megaterium*, стимулятором Эпином, водой – в контроле. На 30 сутки, на стадии первого настоящего листа, наземные части экспериментальных растений, были значительно выше контрольных. Так, средняя высота растений, пролив которых осуществлялся сообществом №2, составила: с концентрацией 0,03 г/мл – 5,5 см, 0,05 г/мл – 7,2 см, 0,08 г/мл – 4,3 см; сообществом №11: с концентрацией 0,03 г/мл – 5,5 см, 0,05 г/мл – 7,9 см, 0,08 г/мл – 5,7 см; сообществом №15: с концентрацией 0,03 г/мл – 5,9 см, 0,05 г/мл – 7,5 см, 0,08 г/мл – 5,3 см; сообществом №21: с концентрацией 0,03 г/мл – 7,3 см, 0,05 г/мл – 8,1 см, 0,08 г/мл – 6,1 см (рис. 46).

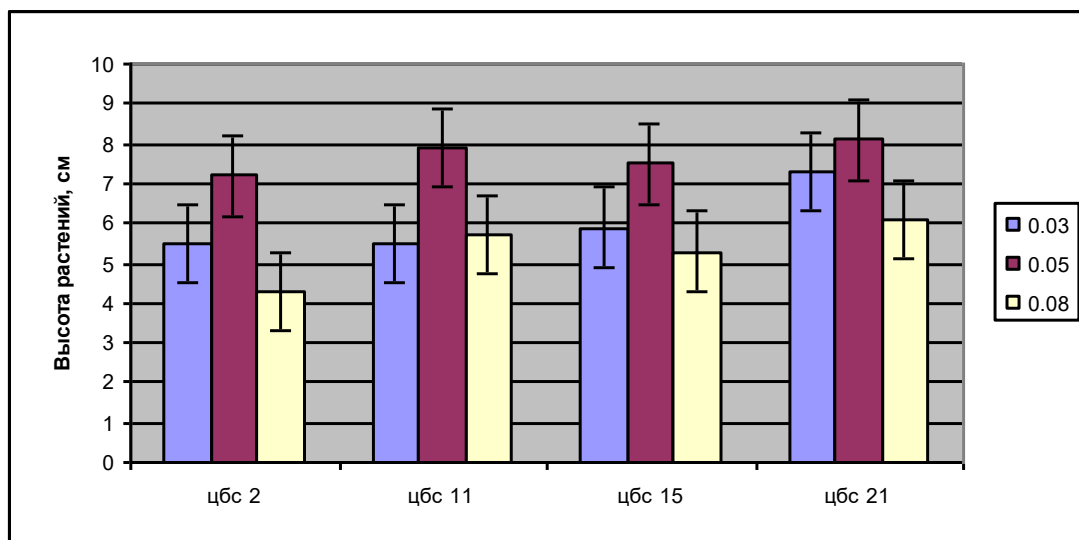


Рисунок 46 - Влияние инокуляции томатов циано-бактериальными сообществами на высоту растений

Высота растений, обработанных суспензией бактерий *Bacillus megaterium* в среднем составила 4,3 см, Эпином - 6,2 см, в контроле – 4,7 см. Высота растений, обработанных циано-бактериальными сообществами с концентрацией 0,05 г/мл, превышала остальные варианты. Поэтому наиболее оптимальной и эффективной для обработки растений циано-бактериальными сообществами является концентрация 0,05г/мл.

Результаты измерения высоты растений показали, что сообщество №21 в концентрации 0,05 г/мл обладает наибольшей фитостимулирующей активностью по отношению к томатам, превышая контроль на 88%.

Листья являются важным вегетативным органом растения. Скорость образования и количество листьев непосредственно влияют на урожайность и продуктивность культур. На 40-е сутки подсчитывали количество листьев. Исследование влияния циано-бактериальных сообществ на количество настоящих листьев томатов показало, что растения, обработанные сообществами по количеству настоящих листьев, опережают контрольные растения.

Наибольшее количество листьев обнаружено в варианте с инокуляцией сообществом №11 (рис. 47).

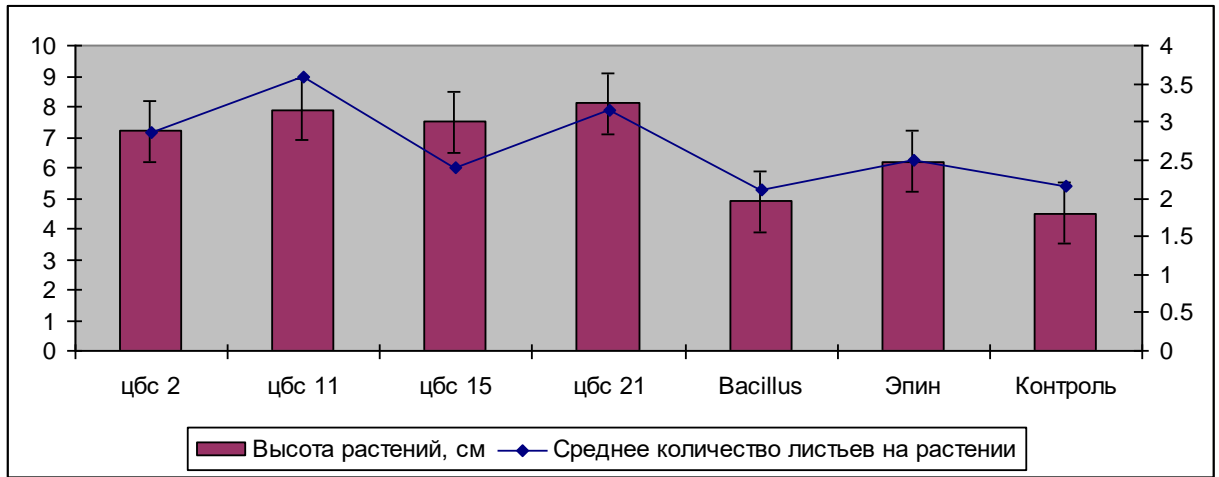


Рисунок 47 - Фенологические показатели растений при инокуляции 0,05 г/мл биомассы цианобактерий

При обработке данным сообществом с концентрацией 0,03 г/мл, 0,05 г/мл, 0,08 г/мл количество листьев в среднем составило 2,20 шт., 3,60 шт., 2,10 шт., соответственно, что выше контроля, в котором количество составило 2,15 шт. Активным было сообщество №21 с концентрациями 0,03 г/мл, 0,05 г/мл, 0,08г/мл, количество листьев у растений, обработанных данным сообществом составило: 2,30 шт., 3,15 шт., 2,25 шт, соответственно. Самые низкие показатели количества листьев у растений, обработанных бактериями рода *Bacillus* (2,10 шт.).

Таким образом, установлено, что обработка циано-бактериальными сообществами семян перед посевом способствует более активному росту растения в начале вегетации, и тем самым ускоряет процесс прорастания семени и адаптации растения к условиям среды. Оценка влияния циано-бактериальных сообществ на всхожесть и рост томатов в раннем периоде развития показала, что концентрация 0,05 г/мл является наиболее эффективной. Наиболее активными фитостимулирующими свойствами обладали сообщества №21 и №11 с доминантами *Nostoc* и *Microcystis*, *Phormidium*, *Spirulina*, соответственно. Обработка семян томатов в лабораторных условиях суспензией циано-бактериальных сообществ максимально увеличивала всхожесть растений на 60%, рост на 88%, количество листьев на 60%, по сравнению с контролем.



Обработка растений бактериями рода *Bacillus* оказала слабое стимулирующее действие.

#### **6.2.5. Исследование фитотоксичности цианобактерий в опыте с хлопчатником (семейство Мальвовые)**

Хлопчатник *Gossypium hirsutum* L. (*malvaceae*) – это многолетнее растение из семейства мальвовых. Является новым объектом для промышленного культивирования в Астраханской области с целью применения в текстильной промышленности.

Обработку семян хлопка проводили циано-бактериальными сообществами № 2, № 21, № 15, № 26.

На 3 сутки культивирования обнаружено прорастание семян хлопчатника. Наибольшее прорастание обнаружено в контроле - 7,50 шт., наименьшее – при обработке препаратом Эпином (эпибрассинолид) в концентрации  $10^{-5}$  - 2,00 шт. На 4-й день культивирования всхожесть семян увеличивалась (рис. 48), а на 7-е сутки после посадки была отмечена фаза полных всходов в опыте и в контроле. Обработка полученных данных показала, что наименьшее количество всходов на 4е и 7е сутки обнаружено при обработке Эпином, который, даже при таком результате, не оказывает токсичного эффекта на семена хлопчатника. Максимальная всхожесть на 4-е сутки наблюдалась при бактеризации семян: циано-бактериальным сообществом № 26 - 9,50 шт., бактериями *Bacillus megaterium* - 9,50 шт., минеральными удобрениями - 9,50 (табл. 28).

На 7-е сутки культивирования зафиксирована максимальная всхожесть в сравнении с другими вариантами и контролем при обработке циано-бактериальными сообществами №2 и № 26.

Минимальная всхожесть хлопка при обработке Эпином, возможно связана с особенностями наилучшего воздействия этого фитостероида на листовые (зеленые) части растения, а не на корневую систему. При обработке растений Эпином рекомендуют опрыскивать верхнюю надземную часть растения.



Рисунок 48 - Всхожесть хлопка на 4е сутки культивирования

Таблица 28 - Фитотоксичность стимуляторов в опыте с *Gossypium hirsutum*

Вариант опыта		Среднее количество проросших семян на 4е сутки, шт.	Среднее количество проросших семян на 7е сутки, шт.
Контроль		9,50±0,28	9,75±0,25
Эпин	10 <sup>-9</sup>	7,00±0,57	7,00±1,08
	10 <sup>-7</sup>	6,50±0,86	7,25±0,85
	10 <sup>-5</sup>	7,75±0,62	7,00±1,29
Сообщества цианобактерий	№2	9,25±0,25	10,00±0,00
	№21	9,25±0,25	9,25±0,47
	№15	9,25±0,47	9,75±0,25
	№ 26	9,50±0,50	10,00±0,00
<i>Bacillus megaterium</i>		9,50±0,28	9,50±0,28
Минер. удобр. Амофоска		9,50±0,28	9,50±0,28

На 7-е сутки культивирования определяли среднюю длину проростков семян хлопка (табл. 29).

Анализ полученных данных показывает, что средняя длина проростков семян хлопка во всех вариантах превышает контроль, кроме варианта с эпибрассинолидом 10<sup>-9</sup> и 10<sup>-7</sup>. Обработка семян раствором Эпина в концентрации

$10^{-5}$  стимулирует развитие стебля хлопка, превышая контроль на 0,31 мм, в то время как наибольшая длина проростка, обнаруженная при обработке семян минеральным удобрением Амофоска превышает контроль на 1,99 мм.

Таблица 29 - Ростстимулирующая активность биостимуляторов в опыте с *Gossypium hirsutum*

Вариант опыта		Средняя длина проростков семян хлопка, см	
		7е сутки	21е сутки
Контроль		7,17±0,66	13,00±0,71
Эпин	$10^{-9}$	6,47±0,59	10,27±1,22
	$10^{-7}$	6,54±0,35	10,49±0,49
	$10^{-5}$	7,48±0,27	10,40±0,69
Сообщества цианобактерий	№2	8,56±0,29	12,72±0,91
	№21	8,55±0,17	13,12±0,39
	№15	8,26±0,51	12,37±0,42
	№ 26	7,82±0,83	12,54±0,25
<i>Bacillus megaterium</i>		8,47±0,29	13,56±0,59
Минер. удобр. Амофоска		9,16±0,47	13,18±0,41

Таким образом, исследуемые биостимуляторы, которыми обрабатывали семена, не являются токсичными и не оказывают угнетающего действия на хлопчатник на ранних стадиях развития растений.

На 11 день культивирования проводили пролив растений суспензией циано-бактериальных сообществ, бактериями *Bacillus megaterium*, раствором Амофоска в количестве 5 мл на стаканчик, в той же концентрации, которой обрабатывали семена. Растворами Эпина осуществляли опрыскивание стеблей и листьев также в количестве 5 мл на стаканчик.

В это же время создавали условия недостатка влаги для всех культивируемых растений. Наиболее устойчивыми к высушиванию оказались

растения, обработанные циано-бактериальными сообществами. Данные растения не увядали, и продолжали активно развиваться, в то время как другие подверглись интенсивному увяданию.

На 21 сутки на стадии первого - второго настоящего листа, наземные части экспериментальных растений были незначительно выше контрольных в вариантах опыта: циано-бактериальные сообщества № 21, бактерии *Bacillus megaterium* и минеральное удобрение Амофоска. Так, в варианте с бактериями *Bacillus megaterium* длина растений была максимальной  $13,56 \pm 0,59$  и превышала контроль на 0,56 см.

На 21-е сутки культивирования измеряли количество и площадь листьев. Исследование влияния Эпина на количество настоящих листьев хлопчатника показало, что растения, обработанные этим биостимулятором по среднему количеству настоящих листьев, занимают среднее положение. Наибольшая площадь одного листа обнаружена в вариантах: контроль, сообщество №21, сообщество №15, минер удобрение. Но сравнительный анализ количества и площади листьев (рис. 49) показывает наибольшее количество листьев на растениях, обработанных раствором Эпина в концентрации  $10^{-9}$  при площади листа  $8,01 \text{ см}^2$ , при том, что в контроле среднее количество листьев на растении самое маленькое - 1,36 шт., а площадь листа равна  $9,57 \text{ см}^2$ .

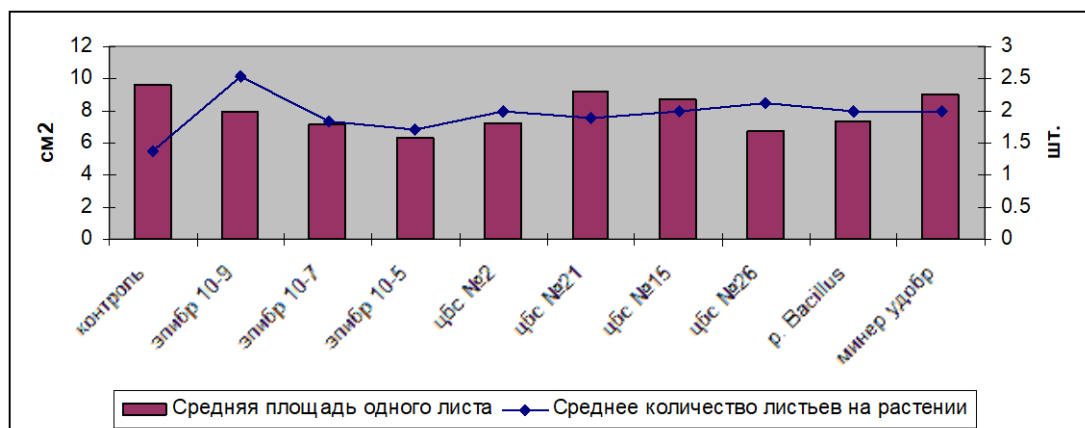


Рисунок 49 - Количество и площадь листьев на 21е сутки культивирования

Среднее число растений в опыте на 7-й и 21-й дни инкубирования

отличается, что, по нашему мнению, связано с указанными выше условиями недостаточной влажности, при которой некоторые растения начинали интенсивнее расти (циано-бактериальные сообщества), а другие – увядать и погибать (контроль, минеральное удобрение, эпибрассинолид  $10^{-5}$ ) (рис. 50).

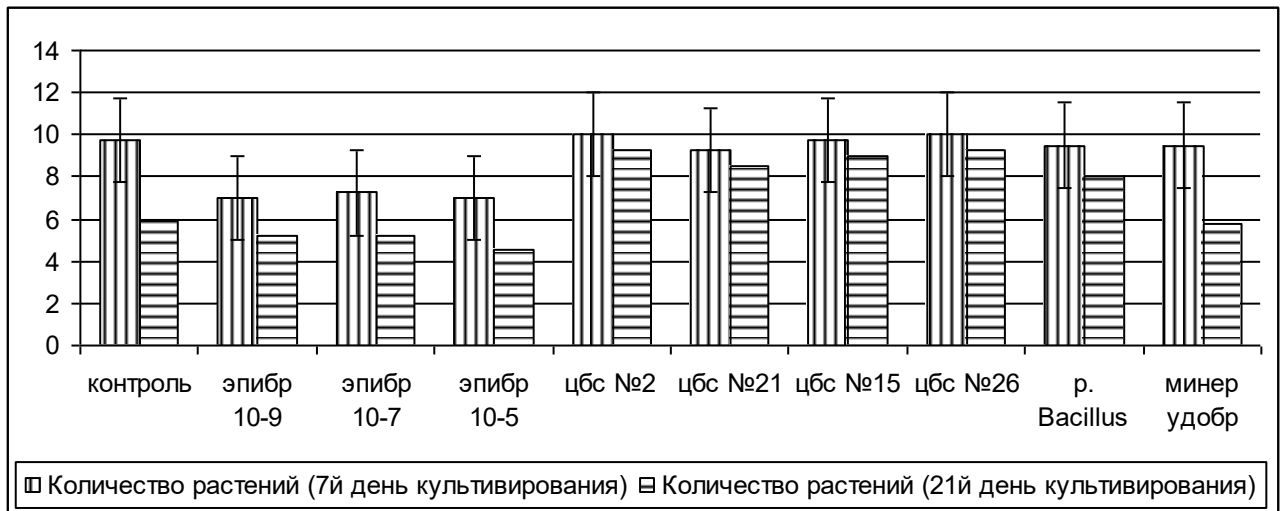


Рисунок 50 - Среднее число растений в различные временные промежутки в опыте

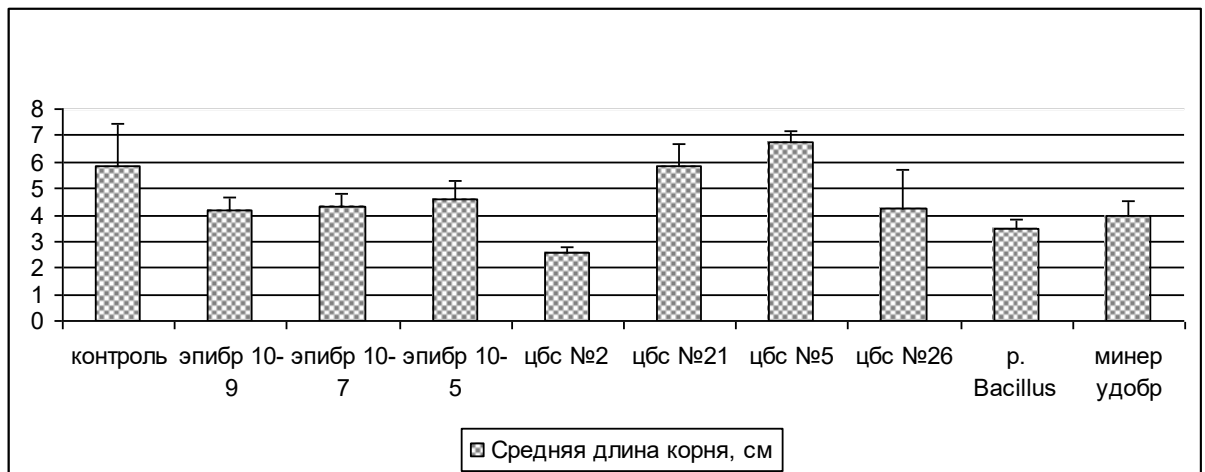


Рисунок 51 - Средняя длина корня растений на 35е сутки культивирования

На 35-е сутки культивирования измеряли среднюю длину корня. Наибольшая длина корня обнаружена в варианте с обработкой циано-бактериальными сообществами № 15 и № 21, наименьшая – №2 (рис. 51).

Практически все показатели длины корня, кроме вышеуказанных вариантов, оказались ниже контроля.

Исследование биостимуляторов на фитотоксичность показало, что цианобактерии, Эпин, бактерии *Bacillus megaterium* не являются токсичными, и не оказывают угнетающего действия на хлопок на ранних стадиях развития растений.

Результаты влияния бактеризации семян хлопка бактериями *Bacillus megaterium* показали максимальную всхожесть на 4-е сутки культивирования, наибольшую длину растений на 21-е сутки культивирования.

Оценка влияния цианобактерий на всхожесть и рост хлопчатника в раннем периоде развития показала стимулирующее действие на растения, так в вариантах с цианобактериями выявлена наибольшая всхожесть на 4-е и 7-е сутки культивирования, максимальная площадь одного листа и длина корня. При создании условий недостатка влаги, наиболее выносливыми оказались растения, семена которых были обработаны циано-бактериальными сообществами.

Таким образом, установлено, что внесение циано-бактериальных сообществ в почву и обработка ими семян перед посевом способствует более активному росту растения в начале вегетации, и тем самым ускоряет процесс прорастания семени и адаптации растения к условиям среды.

### **6.3. Антагонистическая активность цианобактерий по отношению к фитопатогенным грибам родов *Fusarium*, *Phythium*, *Alternaria***

Известно, что цианобактерии обладают антагонистическими свойствами по отношению к фитопатогенным грибам (Домрачева и др., 2009). Такие свойства определяет продукция вторичных метаболитов самого различного состава. Из цианобактерий *Nostoc commune* был выделен липопептид с фунгицидным действием (Kajiya et al., 1998).

На первом этапе для опытов использовали почвенные циано-бактериальные сообщества: №2, №11, №15, №21 с наиболее активными

фитостимулирующими свойствами и фитопатогенные микроскопические грибы видов *Fusarium sporotrichioides*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Phythium ultimum*, *Alternaria tenuissima*, предоставленные ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии РАСХН (г. Пушкин).

Результаты оценки фунгицидной активности циано-бактериальных сообществ показали, что их воздействие вызывало полное подавление роста фитопатогенных микромицетов, усыхание и лизис мицелия фитопатогенного гриба, а также образование и разрастание пленки из циано-бактериальных сообществ.

На 3-5 сутки исследования наблюдалось визуальное подавление роста фитопатогенного гриба *Fusarium culmorum* циано-бактериальными сообществами № 11, №2, №15, №21 по сравнению с контролем. Наблюдалось замедление роста, усыхание и лизис мицелия фитопатогенного гриба. При нанесении пленок цианобактерий *Nostoc paludosum*, *N. linckia*, *Microchaeta tenera* на газоны грибов *Fusarium oxysporum*, *F. nivale*, *F. culmorum* наблюдали такой же эффект (Домрачева и др, 2009). Вне зоны действия циано-бактериальных сообществ формировался обычный мицелий гриба, а при приближении к циано-бактериальным сообществам были ярче выражены аномалии в строении мицелия. Наибольший ДЗИ роста гриба обнаружен при воздействии сообщества № 11 составил 2,2 см. Наименьшая зона подавления роста гриба наблюдалась у сообщества № 2 – 1,2 см. Средний ДЗИ роста гриба сообществом № 15 равен 1,5 см., № 21 - 2,2 см (рис. 52).

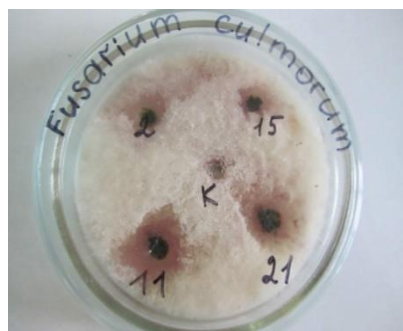
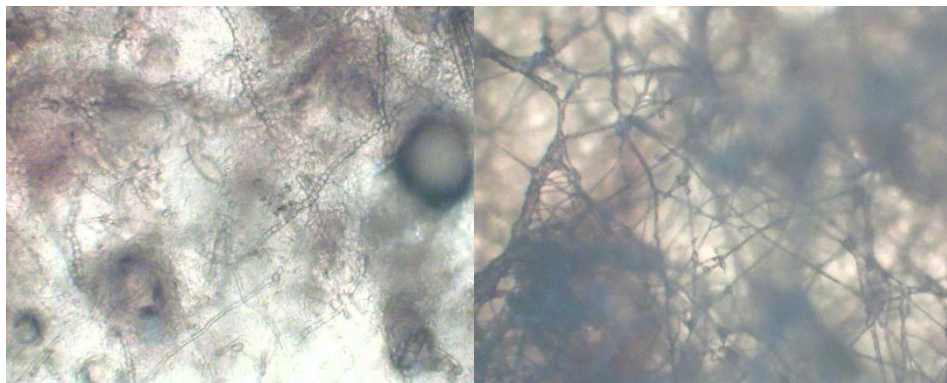


Рисунок 52 - Проявление фунгицидных свойств циано-бактериальных сообществ по отношению к *Fusarium culmorum*

Микроскопирование показало, что в условиях непосредственного взаимодействия с циано-бактериальными сообществами, формирование мицелия тест – грибов значительно замедлялось по сравнению с контролем. Формирующийся мицелий патогенов отличался ярко выраженными морфологическими изменениями (рис. 53).



изменение в развитии гриба

контроль

Рисунок 53 - Влияние циано-бактериального сообщества № 11 на развитие фитопатогена *Fusarium culmorum* ( $\times 100$ ).

Нарушения в развитии гиф гриба *Fusarium culmorum* при воздействии всеми исследуемыми циано-бактериальными сообществами привели к формированию излишне разветвленного и часто септированного мицелия, напоминающего нитку бусин, изменению ширины гиф. Сходный эффект наблюдали и другие исследователи при изучении воздействия бацилл – антагонистов на фузарию.

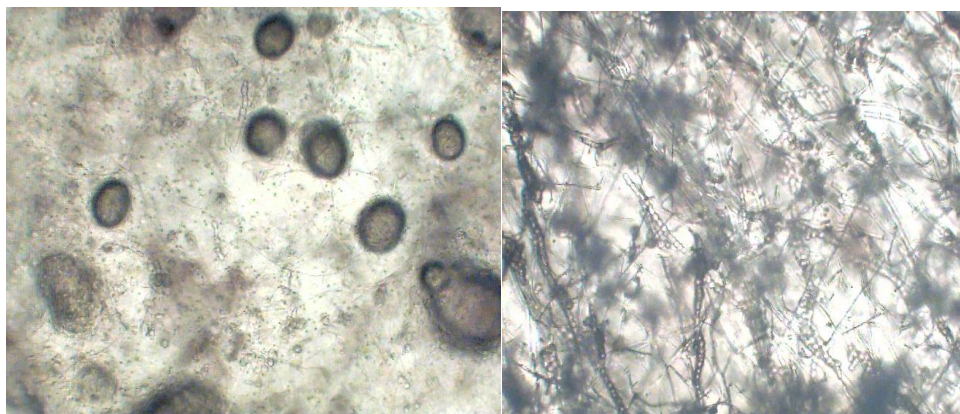
На 3-5 сутки исследования наблюдалось визуальное подавление роста микромицета *Fusarium sporotrichioides* циано-бактериальными сообществами № 2, №15, №11 по сравнению с контролем. Визуально частичное подавление роста гриба проявило циано-бактериальное сообщество № 21. Наибольший ДЗИ роста гриба обнаружен при воздействии сообщества № 15 и составил 3,2 см (рис. 54). Наименьшая зона подавления роста гриба наблюдалась у сообщества № 21 – 1,3 см. Диаметр подавления роста у сообщества № 2 составил 2,5 см, у сообщества № 11 – 2,8 см.





Рисунок 54 - Проявление фунгицидных свойств циано-бактериальных сообществ по отношению к *Fusarium sporotrichioides*

Микроскопирование показало, что воздействие циано-бактериальных сообществ приводит не только к лизису грибного мицелия, но и к переходу гриба от активной стадии развития к спороношению. Гифы фитопатогена поражены. При микроскопировании обнаружено, что происходило практически полное подавление (гибель) развития мицелия (рис. 55).



изменение в развитии гриба

контроль

Рисунок 55 - Влияние циано-бактериального сообщества № 2 на развитие фитопатогена *Fusarium sporotrichioides* ( $\times 100$ ).

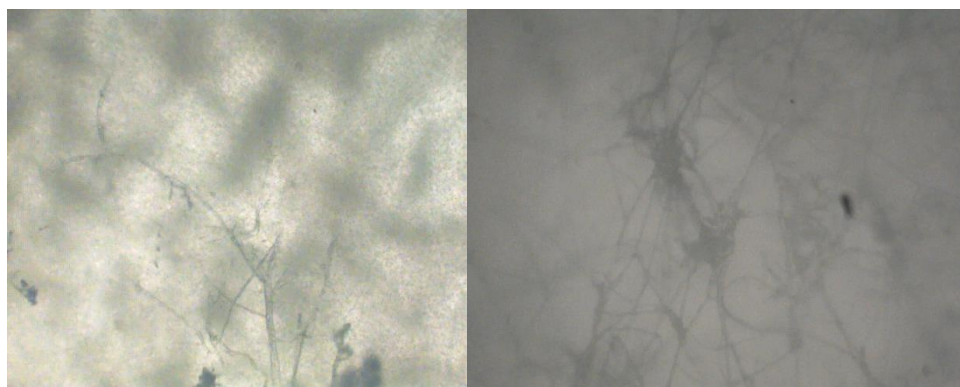
На 3 – 5 сутки исследования наблюдалось визуальное подавление роста гриба *Fusarium graminearum* циано-бактериальными сообществами № 2, №15, №21 по сравнению с контролем, сообщество № 11 не проявляло антагонистической активности по отношению к микромицету. Вне зоны действия циано-бактериальных сообществ формировался обычный мицелий

гриба, а при приближении к циано-бактериальным сообществам № 2, №15, №21 были ярче выражены аномалии в строении мицелия. Максимальный ДЗИ роста гриба обнаружен при воздействии циано-бактериальным сообществом №15 и составил – 1,3 см (рис. 56). Минимальная зона подавления роста фитопатогена обнаружена у сообщества № 2 – 0,4 см. Зона подавления роста гриба сообществом № 21 составила - 1,2 см.



Рисунок 56 - Проявление фунгицидных свойств циано-бактериальных сообществ по отношению к *Fusarium graminearum*

Микроскопирование показало, что в условиях непосредственного взаимодействия с циано-бактериальными сообществами №2, №15, №21 формирующийся мицелий патогена отличался ярко выраженными морфологическими изменениями по сравнению с контролем. Нарушения в развитии гиф гриба *Fusarium graminearum* приводили к формированию поврежденного, излишне разветвленного мицелия. Но, изучая поля зрения под микроскопом, обнаружена практически полная гибель мицелия (рис. 57).



изменение в развитии гриба

контроль

Рисунок 57 - Влияние циано-бактериального сообщества №2 на развитие фитопатогена *Fusarium graminearum* (×100)

На 3 – 5 сутки исследования наблюдалось визуальное подавление роста гриба *Phythium ultimum* циано-бактериальными сообществами №15 и №11. Сообщества № 15 и №11 разрастались, образуя на поверхности мицелия гриба пленку. Сообщества № 2 и №21 визуальное слабо подавляли рост гриба *Phythium ultimum*. Максимальный ДЗИ роста гриба был обнаружен при воздействии циано-бактериальным сообществом № 11 и составил 1,1 см, а минимальный – при воздействии циано-бактериальным сообществом № 21 - 0,2 см. Зона подавления роста гриба сообществом №2 составила 0,5 см, а сообществом № 15 - 0,7 см (рис. 58).

Микроскопирование показало, что в условиях непосредственного взаимодействия с циано-бактериальными сообществами №15 и №11 формирующийся мицелий патогена отличался ярко выраженными изменениями по сравнению с контролем (рис. 59).

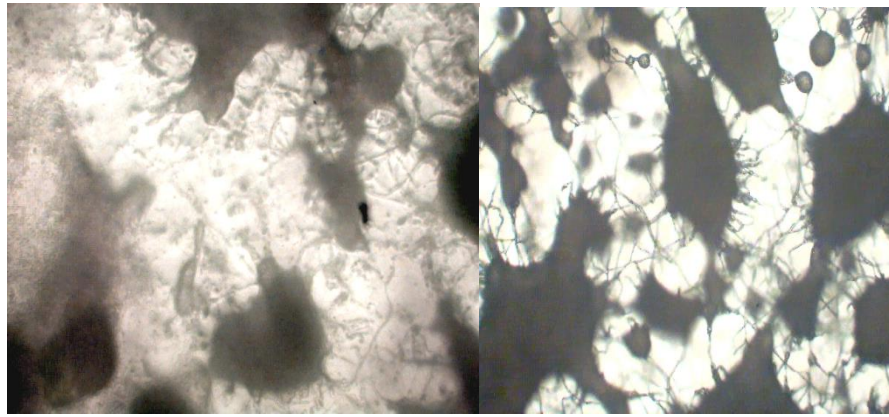


Рисунок 58 - Проявление фунгицидных свойств циано-бактериальных сообществ по отношению к *Phythium ultimum*

Гифы фитопатогена были укорочены и поражены, также наблюдалось усиленное разрастание циано-бактериальных сообществ в толще агара. Несмотря на то, что циано-бактериальные сообщества №2 и №21 визуальное слабо подавляли рост гриба *Phythium ultimum*, они разрастались в толще агара, поражая гифы гриба.

На 3 – 5 сутки исследования наблюдалось визуальное незначительное подавление роста гриба *Alternaria tenuissima* циано-бактериальными сообществами № 2, №15, №11 по сравнению с контролем, а сообщество №21 не

проявляло антагонистической активности.



изменение в развитии гриба

контроль

Рисунок 59 - Влияние циано-бактериального сообщества №15 на развитие фитопатогена *Phythium ultimum* ( $\times 100$ )

Максимальный ДЗИ роста гриба был обнаружен при воздействии циано-бактериальными сообществами №15 и №11 и составил 0,5 см. Минимальная зона подавления роста фитопатогена обнаружена у сообществ № 2 - 0,3 см.

Микроскопирование показало, что в условиях непосредственного взаимодействия с циано-бактериальными сообществами №2, №15, №11, №21, в зоне ингибирования роста, видимых изменений в развитии фитопатогена не обнаружено, по сравнению с контролем.

Исследования показали, что наиболее активным по отношению ко всем исследуемым микромицетам оказалось сообщество № 15, выделенное из светло-каштановых почв, состоящее из цианобактерий родов *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Microcystis*, *Gloeocapsa*.

Фунгицидной активностью по отношению к *Fusarium culmorum*, *Fusarium sporotrichioides* и *Phythium ultimum* обладают все исследуемые циано-бактериальные сообщества. По отношению к *Alternaria tenuissima* фунгицидной активностью обладают циано-бактериальные сообщества № 2, №11, №15. Сообщество № 21 не обладало фунгицидной активностью по отношению к *Alternaria tenuissima*.

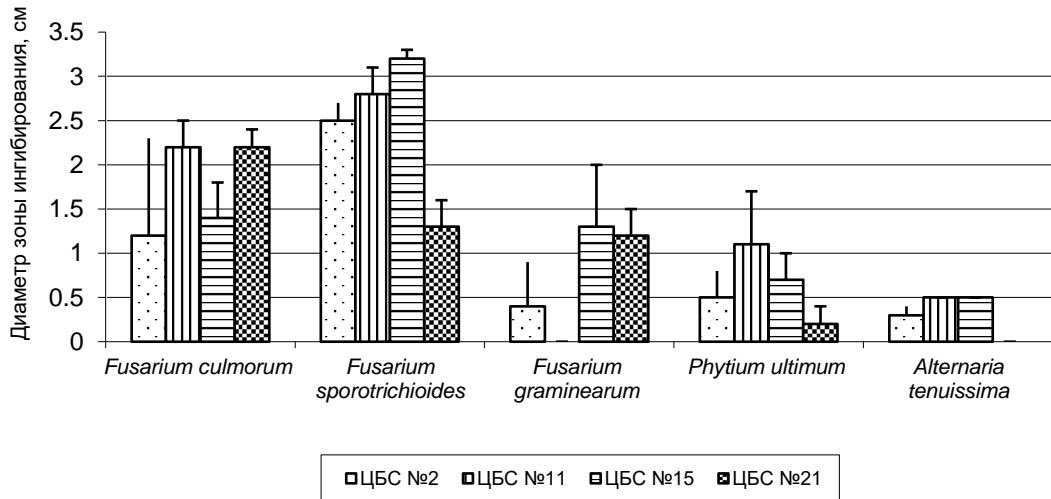


Рисунок 60 - Фунгицидная активность циано-бактериальных сообществ по отношению к фитопатогенным грибам родов *Fusarium*, *Phythium*, *Alternaria*

Таким образом, наибольшая антагонистическая активность наблюдалась у циано-бактериального сообщества № 15 (3,2 см), а самая низкая у циано-бактериального сообщества № 21 (0,2 см).

Самые высокие показатели фунгицидной активности проявили циано-бактериальные сообщества №2, №15, №11 по отношению к *Fusarium sporotrichioides*, а самый низкий показатель был у циано-бактериального сообщества №21.

Циано-бактериальное сообщество №15 было наиболее активно к микромицету *Fusarium sporotrichioides* и диаметр составил 3,2 см, а менее активно по отношению к *Alternaria tenuissima* 0,5 см.

Циано-бактериальное сообщество № 11 наибольшую фунгицидную активность проявило по отношению к фитопатогену *Fusarium sporotrichioides*, а наименьшую к *Fusarium graminearum* и *Alternaria tenuissima*, диаметры ингибирования роста сообществом № 11 для этих фитопатогенов одинаковы и равны 0,5 см.

Циано-бактериальное сообщество №2 высокую фунгицидную активность проявило по отношению к грибу *Fusarium sporotrichioides* с диаметром зоны ингибирования роста 2,5 см, низкую – по отношению к *Alternaria tenuissima* - 0,3

см.

Циано-бактериальное сообщество № 21 наиболее активно к фитопатогену *Fusarium culmorum* с ДЗИ 2,2 см, а менее активно к *Phythium ultimum* с ДЗИ 0,2 см.

На 30 сутки опыта, все исследуемые циано-бактериальные сообщества полностью подавили рост фитопатогенов родов *Fusarium*, *Alternaria*, *Phythium*. Это выражалось в том, что на всей поверхности агара в чашках Петри образовалась сине-зеленая пленка из цианобактерий (рис. 61). Микроскопическое исследование показало, что мицелий фитопатогена полностью исчез и на поверхности и в толще агара.

На следующем этапе исследований в качестве объектов использовали циано-бактериальные сообщества №2 и №21 и альгологически чистую культуру *Anabaena constricta* IPPAS В-2020: их сырую биомассу (как и в первом этапе), водно-спиртовые экстракты (50:50), фракцию водно-спиртового экстракта *Anabaena constricta* IPPAS В-2020. На этом этапе исследовали влияние цианобактерий на грибы видов *Fusarium culmorum*, *Fusarium poae*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium sporotrichioides*.

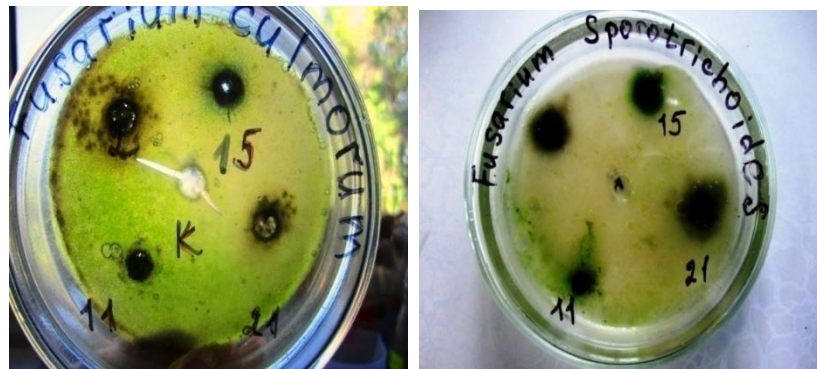


Рисунок 61 - Полное подавление роста фитопатогена на 30-е сутки культивирования.

На 3-5 сутки исследования наблюдалось полное визуальное подавление роста фитопатогенного гриба *Fusarium culmorum* биомассой циано-

бактериальных сообществ №2 и №21, а также биомассой и водно-спиртовым экстрактом *Anabaena constricta* IPPAS В-2020 по сравнению с контролем (рис. 62). Наибольший ДЗИ роста гриба обнаружен при воздействии сырой биомассы и водно-спиртового экстракта цианобактерий *Anabaena constricta* IPPAS В-2020 и составил 2,4 см и 2,3 см, соответственно.

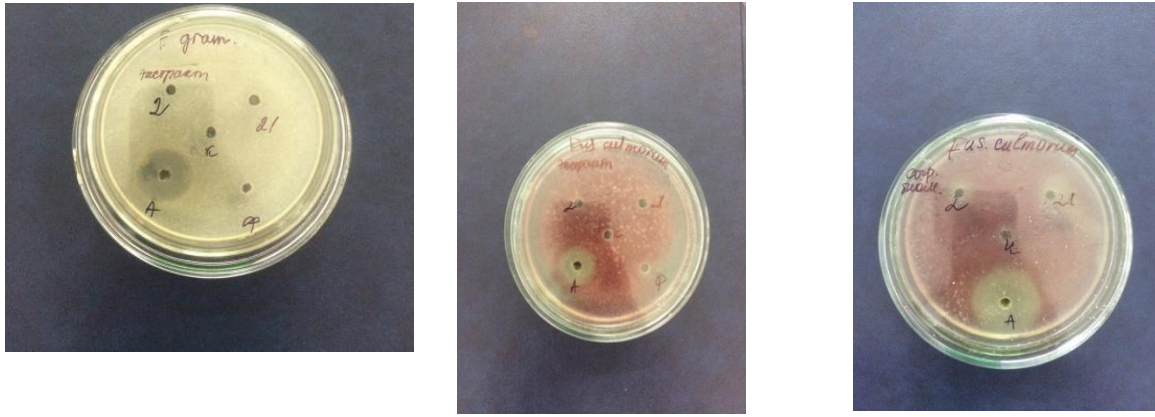
Микроскопирование показало, что в условиях непосредственного взаимодействия с циано-бактериальными сообществами, формирование мицелия тест – грибов значительно замедлялось по сравнению с контролем.

На 3-5 сутки исследования наблюдалось визуальное подавление роста фитопатогенного гриба *Fusarium poae* водно-спиртовыми экстрактами циано-бактериальных сообществ №2, №21, *Anabaena constricta* IPPAS В-2020 и фракцией водно-спиртового экстракта *Anabaena constricta* IPPAS В-2020 в сравнении с контролем (табл. 30). Полное визуальное ингибирование роста гриба выявлено сообществом №21.

Таблица 30 - Фунгицидная активность цианобактерий

Объекты исследования		ДЗИ, см			
		<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Fusarium poae</i>	<i>Fusarium graminearum</i>	<i>Fusarium sporotrichioides</i>
Сырая биомасса	<i>Anabaena constricta</i>	2,4±0,25 полн.	0	1,9±3,11 неполн.	2,1±2,10 полн.
	№2	0,8±1,25 полн.	0	0	0
	№21	1,4±3,25 полн.	0	2,8±2,50 неполн.	0
Водно-спиртовые экстракты 50:50	<i>Anabaena constricta</i>	2,3±1,00 полн.	1,6±1,19 неполн.	2,1±1,47 полн.	2,5±2,96 полн.
	№2	0	3,0±9,50 неполн.	0	1,6±5,25 полн.
	№21	0	1,3±1,75 полн.	0	1,2±2,00 полн.
Фракция водно-спирт. экстракта <i>Anabaena constricta</i>		0	1,8±2,50 неполн.	0	0

Примечание: полн. – зона полного ингибирования роста гриба, неполн. – зона неполного ингибированного роста гриба.



а)

б)

в)

Рисунок 62 - Влияние цианобактерий *Anabaena constricta* IPPAS B-2020 на микромицеты а) *Fusarium graminearum* – с водно-спиртовым экстрактом, б) *Fusarium culmorum* - с сырой биомассой, в) *Fusarium culmorum* – с водно-спиртовым экстрактом

Наибольший ДЗИ роста гриба *Fusarium roae* обнаружен при воздействии экстракта сообщества №2 и составил 3,0 см. Но ингибирование было неполным, при микроскопировании обнаружены видоизмененные гифы, хотя они были в меньшем количестве в сравнении с контролем. Наименьшая зона подавления роста гриба наблюдалась у сообщества № 21 – 1,3 см. При использовании фракции выявлена неполная задержка роста с диаметром 1,8 см

На рост гриба *Fusarium graminearum* оказала наибольший ингибирующий эффект сырая биомасса сообщества №21 с зоной задержки роста 2,8 см. Экстракты сообществ №2, №21 и фракция цианобактерий *Anabaena* не оказали подавляющего действия на *Fusarium graminearum*.

Подавление роста *Fusarium sporotrichioides* обнаружено в вариантах опыта с водно-спиртовыми экстрактами чистой культуры цианобактерий *Anabaena constricta* IPPAS B-2020 с ДЗИ роста 2,5 см и сырой биомассы 2,1 см.

В результате установлено, что водно-спиртовый экстракт цианобактерий *Anabaena constricta* IPPAS B-2020 ингибировал рост всех исследуемых фитопатогенных микромицетов рода *Fusarium*. Водно-спиртовый экстракт и биомасса *Anabaena constricta* IPPAS B-2020 оказали полное подавление грибов



*Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium sporotrichioides* с максимальной ДЗИ роста 2,5 см. Фракция цианобактерий *Anabaena constricta* IPPAS В-2020 подавила рост только *Fusarium poae*. Водно-спиртовые экстракты сообществ №2 и №21 ингибировали рост грибов *Fusarium poae* и *Fusarium sporotrichioides*, сырая биомасса оказала подавляющее действие на *Fusarium culmorum*.

Таким образом, наибольшую фунгицидную активность все исследуемые сообщества проявили по отношению к *Fusarium sporotrichioides* и *Fusarium culmorum*, а наименьшую к *Alternaria tenuissima*. Все исследуемые сообщества обладали фунгицидной активностью.

#### **6.4. Антиоксидантная активность цианобактерий**

##### **6.4.1. Исследование антиоксидантной активности почвенных культур цианобактерий**

В современном научном сообществе продолжает привлекать внимание тема свободных радикалов и реакционноспособных кислородосодержащих частиц и все в большей степени заинтересовывает широкую общественность. Свободным радикалом считается химическое соединение, имеющее один или более неспаренных электронов, образованное в результате либо потери, либо приобретения одного электрона. Неспаренным считается электрон, занимающий в единственном числе молекулярную или атомную орбиталь. Высокая реакционная способность радикалов приводит в физиологических условиях к ускорению процессов окисления, разрушающих молекулярную основу клетки и вызывает в результате многочисленные патологические состояния (Хасанов, 2004).

Антиоксиданты — вещества, замедляющие или предотвращающие окисление органических соединений. Они защищают организм от негативных воздействий свободных радикалов. Антиоксидант, соединяясь со свободным радикалом, ставит заслон разрушительному действию лишнего электрона

(Абдулин, 2001).

Наиболее важными антиоксидантами являются: витамины С, Е, β-каротин, селен, биофлавоноиды (витаминоподобные вещества, содержащиеся в кожуре растений – апельсины, лимоны, томаты и прочее). Многие растительные экстракты, витамины, аминокислоты, минералы, микроэлементы обладают антиоксидантными свойствами или непосредственно, или опосредованно, так как входят в состав ферментов-антиоксидантов (Березовский, 1973).

В качестве стандарта антиоксидантной активности нами выбрана аскорбиновая кислота, окисление которой до дегидроаскорбиновой кислоты происходит в результате ее взаимодействия с окисленной формой  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{(-3)}$  – ионов (Камелин, 1973). Аскорбиновая кислота способна восстанавливать многие активные вещества неорганической и органической природы, которые также способны проявлять как антиоксидантные, так и прооксидантные свойства (Рогожин, 2004). К тому же при действии сильных окислителей аскорбиновая кислота может окисляться в треоновую и щавелевую кислоты. Поэтому эквивалент аскорбиновой кислоты может изменяться в зависимости от силы окисляющего ее окислителя (Крешков, 1971).

В экспериментах использовали культуральную жидкость, водный и водно-спиртовой экстракты (50:50) циано-бактериальных сообществ №2, №21 и культуры *Anabaena constricta* IPPAS B-2020.

В результате анализа культуральной жидкости наибольшая антиоксидантная активность обнаружена в объеме 100 мкл у циано-бактериального сообщества №21 – 36,1% (табл. 31). У культуры *Anabaena constricta* IPPASB-2020 активность была ниже контрольной на 6,3–17,2 %.

В водных экстрактах цианобактерий выявлено, что в объеме 20 мкл антиоксидантная активность была выше контрольной (аскорбиновая кислота) на 10,1-26,8 %. В водно-спиртовых экстрактах в объеме 20 мкл активность оказалась сниженной от 3,2 до 4,3 %.

Таблица 31 - Антиоксидантная активность исследуемых почвенных культур цианобактерий

Вариант опыта		Антиоксидантная активность, %	
		20 мкл	100 мкл
Контроль – аскорбиновая кислота		12,5±0,02	25,0±0,11
Культуральная жидкость	<i>Anabaena constricta</i> IPPASB-2020	6,2±0,01	7,8±0,09
	Сообщество №2	17,7±0,01	24,2±0,07
	Сообщество №21	27,1±0,03	<b>36,1±0,02</b>
Водный экстракт	<i>Anabaena constricta</i> IPPASB-2020	<b>39,3±0,94</b>	28,7±0,06
	Сообщество №2	22,6±0,08	12,2±0,07
	Сообщество №21	28,7±0,07	5,8±0,12
Водно-спиртовый экстракт	<i>Anabaena constricta</i> IPPASB-2020	3,2±0,02	27,7±0,01
	Сообщество №2	4,3±0,20	<b>39,6±0,02</b>
	Сообщество №21	4,3±0,10	7,7±0,01

Таким образом, выраженной антиоксидантной активностью обладал водный экстракт цианобактерий *Anabaena constricta* IPPASB-2020 в объеме 20 мкл - 39,3%, а также культуральная жидкость сообщества №21 36,1% и водно-спиртовый экстракт сообщества №2 в объеме 100 мкл 39,6%.

#### 6.4.2. Исследование антиоксидантной активности водных техногенных культур цианобактерий

Наибольшую антиоксидантную активность выявили в водном и водно-спиртовом экстрактах (50:50) *Phormidium ramosum* IPPASB-2022 - 18,3% и 18,5%, превышающих контроль на 46,4% и 48,0 %, соответственно (табл. 32).

Таблица 32 - Антиоксидантная активность исследуемых водных культур цианобактерий

Исследуемое вещество		Антиоксидантная активность, %
		20 мкл
Контроль – аскорбиновая кислота		12,5±0,08
Культуральная жидкость	<i>Phormidium ramosum</i> IPPASB-2022	7,4±0,02
Сырая биомасса	<i>Phormidium ramosum</i> IPPASB-2022	5,1±0,09
Водный экстракт	<i>Phormidium ramosum</i> IPPASB-2022	<b>18,3±0,07</b>

	Сообщество №2	12,2±0,05
Водно-спиртовой экстракт	<i>Phormidium ramosum</i> IPPASB-2022	18,5±0,07
	Сообщество №2	8,0±0,02

Антиоксидантная активность водного экстракта сообщества №2 (12,22%) почти идентична активности аскорбиновой кислоты (12,5%). В остальных вариантах активность была ниже контрольной.

### 6.5. Исследование антибактериальной активности водных культур цианобактерий

В последние десятилетия наблюдается значительное увеличение резистентности патогенных бактерий к антибактериальным препаратам - с прямыми последствиями в человеческой заболеваемости. Цианобактерии являются богатыми источниками структурно новых и биологически активных метаболитов. Исследования указывают на наличие некоторых биологически активных соединений в пресноводных сине-зеленых водорослях, которые проявляют антибактериальные, противомикробные, противогрибковые, и другие виды фармакологической активности (Borowitzka, Borowitzka, 1992; Mayer, Namann, 2005; Ozemir et al., 2004; Ghasemi et al., 2004).

Таблица 33 - Антибактериальная активность водно-спиртовых экстрактов и сырой биомассы культуры *Phormidium ramosum* IPPAS B-2022

Микроорганизмы	Контроль	Диаметр зоны ингибирования (см)		
		Водно-спиртовой экстракт культуры (свежеприготовленный)	Водно-спиртовой экстракт чистой культуры (экспозиция 6 месяцев)	Сырая биомасса
<i>Escherichia coli</i>	-	-	0,8 ± 0,35	1,0 ± 1,69
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	0,8 ± 0,25	0,9 ± 0,37	-

- = нет активности, ингибированная зона не превышает 0,6 см; 0,7-1,2 мм = умеренная активность; >1,2 = высокая активность (Yigit D. et al., 2009).

Полугодовой водно-спиртовой экстракт (1:1) культуры *Phormidium ramosum* IPPAS B-2022 обладал антибактериальной активностью, подавив рост *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* (табл. 33). Микроорганизмы при этом являются умеренно резистентными к экстрактам.

Наибольший показатель антибактериальной активности наблюдали в варианте с сырой биомассой цианобактерии *Phormidium ramosum* IPPAS B-2022. К *Bacillus subtilis* цианобактерии не проявили антибактериальных свойств.

### **6.6. Исследование колонизирующей способности почвенных цианобактерий**

Способность циано-бактериальных сообществ колонизировать поверхность корней растений исследовали на растениях семейства пасленовые – томатах *Solanum lycopersicum* (сорт Дар Заволжья) и перца *Capsicum annuum* L. (сорт Калифорнийское чудо). В опыте с томатами исследовали колонизирующую способность циано-бактериальных сообществ №2 (в двух вариантах №2 (1) - свежепересеянное и №2 (2) – культивируемое в течение 3 месяцев) и №21. В опыте с перцем исследовали свежепересеянные сообщества № 2 и №21.

На пятые сутки экспозиции обнаружены первые культуральные признаки роста – обрастания зеленого цвета вблизи корней, которые были видны невооружённым глазом. На 30 сутки визуально наблюдался активный рост зеленых обрастаний на корешках растений, который был интенсивнее при обработке семян сообществом № 2, в отличие от сообщества № 21 (рис. 63). В контрольных пробирках рост не наблюдался.

В это же время из пробирок отбирали корни длиной 1 см, которые стерильно отделяли от агара и исследовали на наличие прикрепленных цианобактерий микроскопически. Микроскопическое исследование показало присутствие цианобактерий на корне и в зоне корневых волосков.

Для оценки плотности прикрепления цианобактерий к корням, фрагменты корешков помещали в 100 мл стерильной дистиллированной воды и встряхивали на перемешивающем устройстве в течение 1 часа (45 об/мин), затем

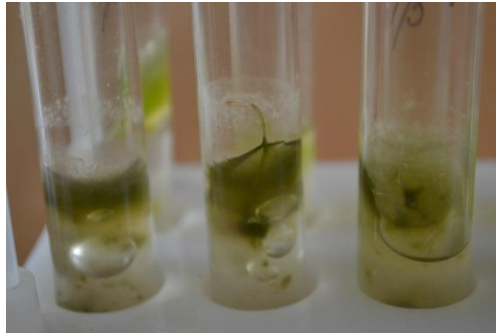


Рисунок 63 – Проростки томатов с обрастаниями цианобактерий

проводили повторное микроскопическое исследование.

Микроводоросли плотно прилегали к корню и обнаружены в том же количестве, что и ранее. На поверхности корневых волосков, обработанных сообществом №2(1) обнаружены цианобактериальные клетки, как кокковой формы, так и трихомной. Преобладали нити азотфиксирующих цианобактерий *Anabaena* №2(1) (рис. 64)



Рисунок 64 - Колонизация цианобактериями поверхности корня томатов, (сообщество №21) (×400)

Наибольшее количество цианобактерии при микроскопировании наблюдалось на корнях, обработанных сообществом №2(1). В сообществе №21 прикрепленных цианобактерий было значительно меньше.

Для количественного учета водорослей в корневой зоне растений, исследованные фрагменты корешков помещали в среду Громова на 30 дней культивирования, после чего определяли оптическую плотность суспензии.

При измерении оптической плотности суспензии отмечено, что наибольший показатель соответствовал  $0,114 \pm 0,25$  в варианте с развитием циано-бактериального сообщества №2(1) на фрагменте корешка. При обработке семян тем же сообществом, но развивающемся в течение трех месяцев №2(2), количество цианобактерий оказалось ниже, оптическая плотность составила  $0,078 \pm 0,05$ . В пробирках со свежепересеянным сообществом №2(1) колонизация была интенсивнее, чем в варианте с обработкой семян сообществом №2(2). Оптическая плотность при обработке сообществом №21 составила  $0,097 \pm 0,01$ . Питательную среду Громова 6, оптическая плотность которой составила  $0,022 \pm 0,19$ , использовали как контроль, так как в ней нет клеток микроорганизмов, а имеются только растворенные соли.

Исследование выращивания проростков на полужидком агаре дает понять степень колонизации цианобактериями ризосферы растения данного вида.

Данные, полученные после эксперимента свидетельствуют о том, что изучаемые колонии цианобактерий способны колонизировать прикорневое пространство. Наибольшей степенью колонизации обладало сообщество № 2.

В опыте с перцем на пятые сутки экспозиции были обнаружены первые культуральные признаки роста – обрастания зеленого цвета цианобактерий вблизи корней, которые были видны невооружённым глазом. На 30 сутки визуально наблюдался интенсивный рост на корешках, который при обработке семян сообществом №21 оказался интенсивнее, чем при обработке сообществом №2.

При микроскопическом исследовании были обнаружены прикрепленные к поверхности корня цианобактерии. После встряхивания на перемешивающем устройстве часть бактерий отделилась от корня, но основная часть осталась на поверхности. В варианте с сообществом № 21 был обнаружен рост и прикрепление цианобактерий к поверхности корня, но в большей степени, чем в варианте с сообществом №2.

Затем фрагменты корешков помещали в среду Громова 6 на 1 месяц. При

измерении оптической плотности суспензии, культивируемой 1 месяц, отмечено, что наибольший показатель соответствовал  $0,110 \pm 0,08$  в варианте с обработкой сообществом №21. Следовательно, количество цианобактерий на корнях растения в данном варианте было наибольшее. Минимальный показатель имеет среда Громова б, так как в ней нет клеток микроорганизмов, а имеются только растворенные соли  $0,022 \pm 0,19$ . В варианте с сообществом №2 оптическая плотность составила  $0,048 \pm 0,27$ .

Зависимость оптической плотности и количества цианобактерий в суспензии прямопропорциональная, поэтому, чем выше плотность, тем концентрированнее суспензия и тем больше в ней содержание клеток цианобактерий. Наибольшая оптическая плотность была у томатов с цианобактериальным сообществом №2(1), у перца – с сообществом №21. Это свидетельствует о том, что данные сообщества обладают способностью к колонизации растений. В наименьшей степени оказалось взаимодействие перца и циано-бактериального сообщества №2, и томатов и циано-бактериального сообщества №21.

### **6.7. Исследование устойчивости цианобактерий к пестицидам**

Для проведения опыта использовали гербицид «Глифос» на основе глифосата, который на первом этапе исследования разводили в соответствии с инструкцией по применению для получения рабочего раствора.

На 38 сутки экспозиции визуально рост циано-бактериального сообщества наблюдался в разведениях с наименьшей концентрацией токсиканта. Так, в разведении рабочего раствора 1:5 визуально был отмечен рост тяжелой зеленой массы на дне пробирки. В разведении 1:10 были желтого цвета, развития не наблюдалось. В разведении рабочего раствора 1:100 культура цианобактерий характеризовалась активным ростом по стенкам пробирки и интенсивностью сине-зеленой окраски такой же, как и в контроле. Кроме того, в рабочем растворе обнаружены обрастания на стенках пробирок по урезу среды и рост тяжелой сине-зеленой массы.



В результате выявлено, что максимальное значение оптической плотности составило и составило  $0,405 \pm 0,10$  в разведении 1:100, что позволяет говорить об интенсивном росте культуры. Минимальное значение оптической плотности установлено в разведении 1:1 и составило  $0,235 \pm 0,02$ , что говорит об ингибировании роста циано-бактериального сообщества глифосатом (табл. 34).

Таблица 34 – Влияние глифоса на развитие циано-бактериального сообщества

Вариант образца	Среднее значение коэффициента светопропускания	Среднее значение оптической плотности
Образец с рабочим раствором	$45,65 \pm 10,05$	$0,370 \pm 0,09$
Образец с разведением 1:1	$57,80 \pm 3,39$	$0,235 \pm 0,02$
Образец с разведением 1:5	$48,35 \pm 4,95$	$0,316 \pm 0,04$
Образец с разведением 1:10	$49,95 \pm 1,05$	$0,306 \pm 0,01$
Образец с разведением 1:100	$38,95 \pm 6,55$	$0,405 \pm 0,10$
Контрольный образец	$39,15 \pm 4,55$	$0,396 \pm 0,03$

На втором этапе рабочий раствор глифоса заменили на его концентрат. На 38 сутки экспозиции в варианте с рабочим раствором глифоса обнаружены обрастания на стенках пробирок по урезу среды и рост тяжелой сине-зеленого цвета. В остальных разведениях культуры оказались обесцвеченными.

В результате проведенного эксперимента выявлено, что максимальное значение оптической плотности в разведении 1:100 и составило  $0,370 \pm 0,09$ , что позволяет говорить об интенсивном росте культуры. Данное значение близко к контролю  $0,396 \pm 0,03$ , в котором культура развивалась без элюентов. Минимальное значение коэффициента светопропускания было установлено в концентрированном глифосе и составило  $0,031 \pm 0,02$ , что говорит о полном ингибировании роста циано-бактериального сообщества.

Микроскопические исследования проводили в вариантах опыта, в которых визуально был установлен рост циано-бактериальных сообществ по интенсификации окраски сине-зеленого цвета (рис. 65).

В разведении рабочего раствора 1:100 при микроскопировании не

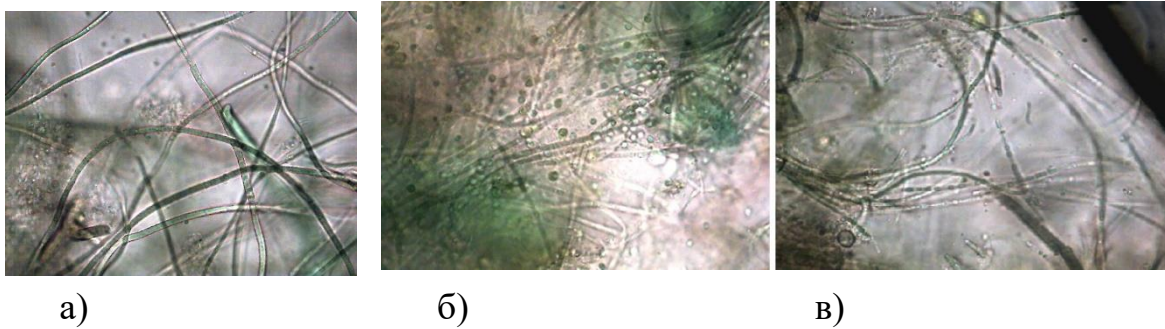


Рисунок 65 - Циано-бактериальное сообщество а) - без воздействия пестицида (контроль); б) и в) с рабочим раствором глифоса: б) – преобладают кокковые формы; в) – распадание нитей цианобактерий на отдельные клетки

обнаружено изменений клеток, но в рабочем растворе глифоса отмечено распадание нитей на клетки (рис. 65). Также в рабочем растворе глифоса обнаружено развитие большого количества кокковых форм наряду с нитевидными формами.

При исследовании влияния пестицида на циано-бактериальные сообщества выявлено ингибирование роста культуры практически во всех разведениях глифоса. В рабочем растворе, разведении 1:100 рабочего раствора установлено стимулирующее действие на цианобактерии.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ к ГЛАВЕ 6.

Таким образом, в ходе исследований выявили устойчивость цианобактерий к экстремальным значениям гидрохимических факторов среды: рН, температуры, концентрации неорганического фосфора, солености. Установили отсутствие фитотоксических свойств у всех исследуемых культур цианобактерий. Выявили активное антагонистическое действие культур циано-бактериальных сообществ №2, №11, №15, №21 и культуры *Anabaena constricta* IPPASB-2020 на фитопатогенные грибы родов *Fusarium*, *Phythium*, *Alternaria*. Обнаружили антиоксидантную активность водных и почвенных культур цианобактерий. Выявили антибактериальные, колонизирующие свойства цианобактерий и устойчивость к пестицидам.

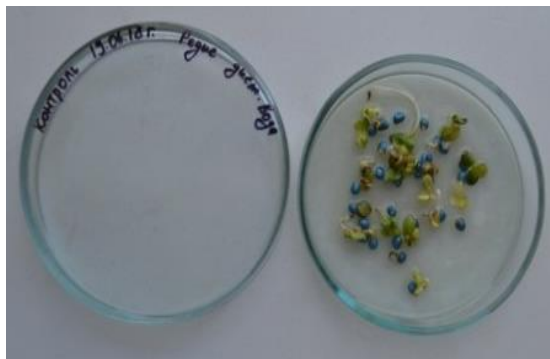
## ГЛАВА 7. СВОЙСТВА ШТАММОВ АКТИНОМИЦЕТОВ

### 7.1. Исследование фитотоксичности штаммов актиномицетов в опыте с редисом (семейство Капустные)

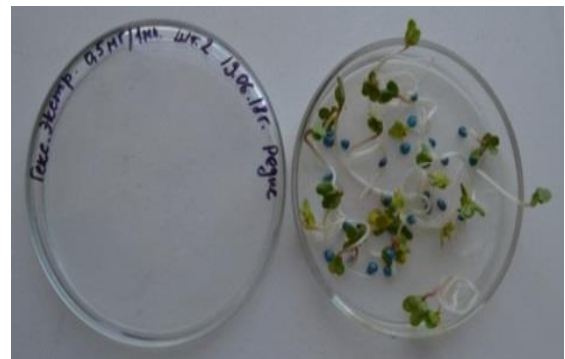
При определении фитотоксичности суспензий и экстрактов штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 проращивание семян редиса наблюдалось через 72 часа экспозиции. Наибольшее проращивание выявлено при обработке гексановыми экстрактами исследуемых штаммов, которое составило от 64,5% до 90,1% (табл. 35, рис. 66).

Таблица 35 - Влияние штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 на всхожесть семян редиса

№ п/п	Вариант	Среднее количество проросших семян, %					
		<i>N. umidischolae</i> RCAM04882		<i>S. carpaticus</i> RCAM04697		<i>N. umidischolae</i> RCAM04883	
		0,5 мг/мл	1 мг/мл	0,5 мг/мл	1 мг/мл	0,5 мг/мл	1 мг/мл
1	Гексановый экстракт	77,3	74,1	90,1	87,5	69,0	64,5
2	Метанольный экстракт	59,8	55,9	59,2	57,0	66,4	65,0
3	Водно-спиртовой экстракт (20:80)	67,2	65,2	75,7	70,8	68,3	65,2
4	Водно-спиртовой экстракт (50:50)	72,2	60,1	74,1	73,8	70,2	63,3
5	Водно-спиртовой экстракт (80:20)	75,5	60,3	86,6	84,1	77,5	69,1
6	Суспензия	69,4		75,5		57,9	
7	Контроль №1	42,1					
8	Контроль №2	44,4					



А



Б

Рисунок 66 - Исследование влияния штамма *S. carpaticus* RCAM04697 на всхожесть семян редиса: А – контроль, Б – опыт (ориг., 2018)

Максимальная всхожесть обнаружена в варианте при обработке гексановым экстрактом штамма *S. carpaticus* RCAM04697 в концентрации 0,5 мг/мл – 90,1%, которая выше контроля на 45,7-48,0%.

Обработка метанольными экстрактами бактерий показала наименьшую всхожесть, которая колебалась от 55,9% до 66,4%. Однако следует отметить, что по сравнению с экстрактами, суспензия изучаемых микроорганизмов характеризовалась всхожестью от 57,9% (штамм *N. umidischolae* RCAM04883) до 75,5% (штамм *S. carpaticus* RCAM04697), у штамма *N. umidischolae* RCAM04882 - 69,4%. У штамма *N. umidischolae* RCAM04883 максимальная всхожесть обнаружена в водно-спиртовом экстракте (80:20) в концентрации 0,5 мг/мл – 77,5%.

Анализ данных, полученный в результате проведения исследования, показал, что при сравнении фитотоксического действия на редис трех штаммов актиномицетов значительный эффект наблюдался во всех вариантах суспензии и экстрактов штамма *S. carpaticus* RCAM04697.

Установлено, что во всех вариантах экстрактов трех штаммов бактерий при концентрации 0,5 мг/мл наблюдается увеличение всхожести семян редиса, чем при концентрации 1 мг/мл, что свидетельствует о повышении ингибирующего эффекта при увеличении концентрации изучаемых образцов. Биометрические показатели растений редиса определяли на 14-е сутки эксперимента (рис. 67).

Наиболее высокие биометрические показатели растений, характеризующиеся длиной корня выявлены в гексановом экстракте штамма *S. carpaticus* RCAM04697 2,67-2,82 см, превышающем контроль на 2,55 и 2,53 см – 2,38 и 2,40 см; и водно-спиртовом экстракте 80:20 в концентрации 0,5 мг/мл – 2,44 см, превышающем контроль на 2,15-2,17 см. Достаточно низкие значения длины корня редиса в варианте с данными бактериями установлены в метанольном экстракте, которые составили 0,31-0,41 см. Длина корня в остальных вариантах данных актиномицетов не превышала 1,85 см.

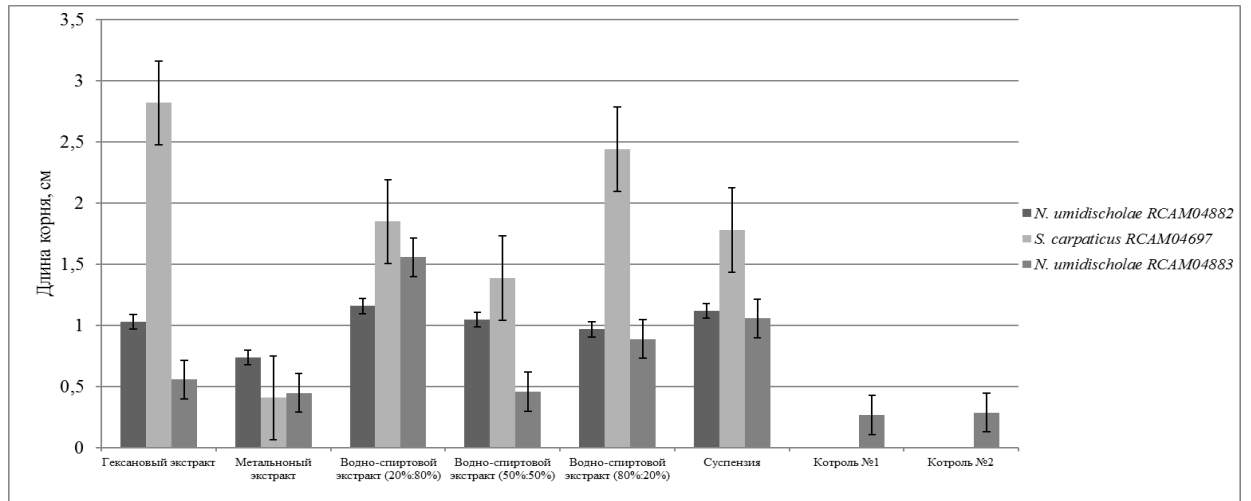


Рисунок 67 – Влияние штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 на биометрические показатели редиса (конц. 0,5 мг/мл)

Самые низкие значения длины корня представлены у штамма *N. umidischolae* RCAM04883 и составили 0,28 см (гексановый экстракт, 1 мг/мл). Один из высоких показателей длины корня у данных бактерий обнаружен в водно-спиртовом экстракте 20:80 в концентрации 0,5 мг/мл и составил 1,56 см. Остальные биометрические данные штамма *N. umidischolae* RCAM04883 характеризуются длиной корня от 0,37 см до 0,89 см.

Длина корня редиса при обработке штаммом *N. umidischolae* RCAM04882 колебалась от 0,69 см (метанольный экстракт, 1 мг/мл) до 1,16 см (водно-спиртовой экстракт, 0,5 мг/мл).

Установлено, что все варианты экстрактов трех штаммов нетоксичны, и концентрация 0,5 мг/мл оказалась эффективнее, чем концентрация 1 мг/мл, которая проявляет ингибирующие свойства. Проявление высокой фитостимулирующей активности у гексановых экстрактов может быть связано с присутствием соединений стероидной природы, которые, по литературным данным, являясь физиологически активными веществами, обладают высокой биологической активностью (Джафаров и др., 2010). При экстракции гексаном, который является неполярным растворителем, извлекается большая группа веществ, характеризующихся биологической активностью (Чудина и др., 2011).

**7.2. Исследование активности штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 в отношении вирусных патогенов растений**

Полученные данные свидетельствуют о том, что суспензии исследуемых штаммов проявляют противовирусную активность в отношении ВОМ и ВМТо. Наибольшие показатели противовирусной активности на данные фитовирусы представлены при обработке суспензией штамма *S. carpaticus* RCAM04697: при инокуляции ВОМ количество бессимптомных растений составило 40,0%, при ВМТо – 32,5% (табл. 36, рис. 68).

Наименьшее значение противовирусной активности на исследуемые вирусы установлено при обработке суспензией штамма *N. umidischolae* RCAM04883 (ВОМ – 27,5%; ВМТо – 18,8%). Противовирусная активность суспензии штамма *N. umidischolae* RCAM04882 не превышала 33,8% в

Таблица 36 - Противовирусная активность суспензий штаммов *N. umidischolae* RCAM04882, *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04883 в лабораторных условиях на томате

Вариант эксперимента	Количество инокулированных растений, шт.	Количество растений без симптомов	
		шт.	%
Контроль при инокуляции ВОМ	80	2	2,5
Контроль при инокуляции ВМТо	80	4	5,0
<i>S. carpaticus</i> RCAM04697			
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ВОМ	80	32	40,0
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ВМТо	80	26	32,5
<i>N. umidischolae</i> RCAM04882			
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ВОМ	80	27	33,8
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ВМТо	80	21	26,3
<i>N. umidischolae</i> RCAM04883			
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ВОМ	80	22	27,5
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ВМТо	80	15	18,8



А

Б

Рисунок 68 – Противовирусная активность в лабораторных условиях на томатах: А – контроль при инокуляции BOM, Б – обработка суспензией штамма *S. carpaticus* RCAM04697 (ориг., 2021)

отношении BOM и 26,3% в отношении ВМТо. Анализ полученных данных показал, что ВМТо менее устойчив к действию штаммов актиномицетов (18,8%-32,5%), чем BOM (27,5%-40,0%).

Изучение противовирусной активности штаммов актиномицетов на картофеле методами растений-индикаторов, иммунострипов и ПЦР-диагностики показало присутствие свойств, способствующих снижению развития и распространения фитовирусов (табл. 37).

Выявлено, что суспензии исследуемых штаммов обладают противовирусными свойствами в отношении YBK и ХBK. Максимальное значение противовирусной активности на данные вирусные патогены представлено при обработке суспензией штамма *S. carpaticus* RCAM04697: при инокуляции YBK количество бессимптомных растений составило 51,3%, при ХBK – 41,3%. Минимальный показатель противовирусной активности на исследуемые вирусы выявлен при обработке суспензией штамма *N. umidischolae* RCAM04883 (YBK – 40,0%; ХBK – 32,5%).

Таблица 37 - Противовирусная активность суспензий штаммов *N. umidischolae* RCAM04882, *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04883 в лабораторных условиях на картофеле

Вариант эксперимента	Количество инокулированных растений, шт.	Количество растений и клубней без симптомов	
		шт.	%
Контроль при инокуляции УВК	80	3	3,8
Контроль при инокуляции ХВК	80	2	2,5
<i>S. carpaticus</i> RCAM04697			
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции УВК	80	41	51,3
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ХВК	80	33	41,3
<i>N. umidischolae</i> RCAM04882			
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции УВК	80	39	48,8
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ХВК	80	29	35,0
<i>N. umidischolae</i> RCAM04883			
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции УВК	80	32	40,0
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ХВК	80	26	32,5

Противовирусная активность суспензии штамма *N. umidischolae* RCAM04882 не превышала 48,8% в отношении УВК и 35,0% в отношении ХВК. Установлено, что УВК менее устойчив к действию штаммов актиномицетов (40,0%-51,3%), чем ХВК (32,5%-41,3%).

Таким образом, лабораторные опыты по изучению противовирусных свойств суспензий исследуемых бактерий свидетельствует о сдерживании развития и распространения вирусных возбудителей ВОМ, ВМТо, УВК, ХВК (приложение 13).

### **7.3. Антагонистическая активность штаммов актиномицетов по отношению к фитопатогенным грибам родов *Fusarium*, *Phythium*, *Alternaria***

Штаммы *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 проявили различную степень фунгицидной активности по отношению к *Fusarium graminearum*, *Fusarium sporotrichioides*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium poae*, *Alternaria tenuissima*, *Pythium ultimum* (табл. 38).

Таблица 38 - Антагонизм суспензий штаммов *N. umidischolae* RCAM04882,



*S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04883 к фитопатогенным грибам

Изолят микромицета	ДЗИ, см		
	<i>S. carpaticus</i> RCAM04697	<i>N. umidischolae</i> RCAM04882	<i>N. umidischolae</i> RCAM04883
Контроль	-	-	-
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	3,1±0	1,0±1	0,8±0*
<i>Fusarium graminearum</i>	2,7±1*	1,7±1	2,0±1
<i>Fusarium culmorum</i>	3,0±0*	2,6±0	2,2±1*
<i>Fusarium poae</i>	1,7±1	1,8±1*	0,7±1
<i>Alternaria tenuissima</i>	3,3±0	1,1±0	1,2±0*
<i>Pythium ultimum</i>	2,1±1*	0,6±0	0,7±0

Примечание: \* – угнетение

Анализ полученных данных показал наибольшую фунгицидную активность штамма *S. carpaticus* RCAM04697 по отношению к *Alternaria tenuissima* 3,3 см и *Fusarium sporotrichioides* – 3,1 см. При микроскопировании отмечено усиленное спороношение и лизис мицелия. Спектр зон подавления роста фитопатогенных грибов штаммом *S. carpaticus* RCAM04697 колеблется в пределах от 1,7 до 3,3 см. Умеренную фунгицидную активность проявили два других штамма. Наибольшая активность обнаружена по отношению к *Fusarium culmorum* с зоной задержки роста 2,6 см и 2,2 см.

Цианобактерии в отличие от актиномицетов по отношению к *Alternaria tenuissima* проявили наименьшую фунгицидную активность – 0,7 см. Но относительно фитопатогена *Fusarium culmorum* *Streptomyces carpaticus* RCAM 04697, *Anabaena constricta* IPPASB-2020 и циано-бактериальные сообщества проявили высокие антагонистические свойства с ДЗИ от 3,0 см до полного подавления роста гриба во всей чашке.

#### 7.4. Антиоксидантные свойства штаммов актиномицетов

При определении антиоксидантной активности использовали трехсуточные суспензии штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883, а также их экстракты: водно-

спиртовые (80:20, 50:50, 20:80), метанольные и гексановые.

Исследования показали, что штаммы актиномицетов обладают высокими значениями антиоксидантной активности относительно принятого стандарта аскорбиновой кислоты. Анализируя полученные сведения, показатели антиоксидантной активности варьируют от 35,2% (водно-спиртовой экстракт 80:20) до 88,8% (суспензия штамма *S. carpaticus* RCAM04697), что существенно выше показателя аскорбиновой кислоты – 12,5% (табл. 39).

Таблица 39 - Антиоксидантная активность штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883

№ п/п	Вариант	АОА, %		
		<i>S. carpaticus</i> RCAM04697	<i>N. umidischolae</i> RCAM04882	<i>N. umidischolae</i> RCAM04883
1	Гексановый экстракт	37,2±0,15	63,8±0,07	61,0±0,08
2	Метанольный экстракт	56,1±0,18	46,9±0,11	59,0±0,05
3	Водно-спиртовой экстракт (20:80)	<b>76,0±0,08</b>	38,8±0,06	58,0±0,09
4	Водно-спиртовой экстракт (50:50)	63,5±0,05	59,7±0,15	58,0±0,13
5	Водно-спиртовой экстракт (80:20)	35,2±0,12	<b>71,4±0,02</b>	61,0±0,05
6	Суспензия	<b>88,8±0,09</b>	62,8±0,05	43,0±0,07
7	Контроль	12,5		

Антиоксидантная активность гексанового экстракта оказалась самой высокой у штамма *N. umidischolae* RCAM04882 и составила 63,8%, а у штамма *S. carpaticus* RCAM04697 самой низкой – 37,2%.

Наибольшее значение антиоксидантной активности метанольного экстракта установлено у штамма *N. umidischolae* RCAM04883 и составило 59,0%, наименьшее у штамма *N. umidischolae* RCAM04882 – 46,9%. Среди трех разных вариантов водно-спиртовых экстрактов достаточно высокий процент отмечен в модификации 20:80 штамма *S. carpaticus* RCAM04697 (76,0%), однако низкая антиоксидантная активность проявляется в такой же модификации водно-спиртового экстракта у штамма *N. umidischolae* RCAM04882 и составляет – 38,8%. Максимальный показатель антиоксидантной активности суспензии выявлен у штамма *S. carpaticus* RCAM04697 (88,8%), минимальный у штамма *N.*

*umidischolae* RCAM04883 (43,0%).

Следует отметить, что при сравнении антиоксидантной активности в пределах суспензии и экстрактов одного штамма актиномицетов не наблюдается четкой закономерности, так как данный показатель у штамма *S. carpaticus* RCAM04697 достаточно высок в суспензии 88,8%, у штамма *N. umidischolae* RCAM04882 - в водно-спиртовом экстракте (80:20) 71,4%, а у штамма *N. umidischolae* RCAM04883 – в гексановом и водно-спиртовом экстрактах (80:20) 61,0%. В связи с чем, можно предположить, что антиоксидантная активность проявляется дифференцированно в различных вариантах штаммов актиномицетов.

Наибольшую антиоксидантную активность проявили суспензия 88,8% и водно-спиртовой экстракт (20:80) 76,0% штамма *S. carpaticus* RCAM04697. Максимальная антиоксидантная активность штамма *N. umidischolae* RCAM04882 обнаружена в гексановом и водно-спиртовом (80:20) экстрактах 63,8% и 71,4%, соответственно.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ к ГЛАВЕ 7.**

Таким образом, обнаружены фитостимулирующие, противовирусные, фунгицидные и антиоксидантные свойства исследуемых штаммов актиномицетов.

## **ГЛАВА 8. ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА МЕТАБОЛИТОВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ И АКТИНОМИЦЕТОВ**

### **8.1. Исследование трансформации экзогенных метаболитов (НОС) альго-цианобактериального комплекса на основе природного водоема (р. Ахтуба)**

Цианобактерии и водоросли, как основное фотосинтетическое звено многих пресноводных экосистем играют важную роль в формировании химического состава и запасов органических веществ в водоеме. Они продуцируют и выделяют в окружающую среду ряд биологически активных соединений: белки, углеводы, липиды, органические кислоты, стерины, изопреноиды, фитогормоны, фенольные соединения, витамины и др. (Сиренко, 1988; Кирпенко и др., 2010).

Среди этих соединений одними из наименее изученных являются низкомолекулярные органические соединения (НОС). Благодаря синтезу и выделению в окружающую среду различных НОС водоросли и цианобактерии вступают в разнообразные взаимоотношения в альгоценозах, важнейшими из которых являются аллелопатические. Расшифровка механизмов образования метаболитов фитопланктона, установление их химической природы и трансформации в водной среде представляет большой интерес не только для процессов самоочищения водоемов от патогенной микро - и микофлоры, но и для получения природных противомикробных, антифунгальных и антиводорослевых препаратов путем управляемого биосинтеза с использованием водорослей (приложение 12).

Формирование и развитие фитопланктонных сообществ удобно изучать на лабораторных моделях – микрокосмах или накопительных культурах, имитирующих природные экосистемы. Одним из наиболее подходящих методов для обнаружения, а также качественного и количественного определения природных растворенных НОС является высокоэффективная газовая хромато-масс-спектрометрия.

Хроматографический анализ трех исследованных проб (табл. 40-42)

показал, что в культуральной среде водорослей и цианобактерий находятся насыщенные, ненасыщенные и ароматические углеводороды, карбоновые кислоты, фенольные и терпеновые соединения и их производные.

В начальной пробе (нативная речная вода р. Ахтубы) обнаружено 22 НОС, из которых 6 – неидентифицированных (табл. 40). Среди 22 соединений наибольшее процентное содержание от общего объема экстракта приходится на лимонен (1-метил-4-проп-1-ен-2-илциклогексен) (19,71%) и 2-гептеналь (12,84%), которые относятся к терпенам и терпеноидам. Данные соединения широко распространены в природе и имеют важное значение для сохранения экологического баланса в межвидовых взаимоотношениях бактерий, цианобактерий, микроводорослей и их симбионтов, макрофитов, простейших, беспозвоночных и растений, а также между различными трофическими уровнями (Algal chemical ecology., 2008; Гольдин, Гольдина, 2011). Эти метаболиты проявляют широкий спектр биологических свойств (Племенков, 2007) и участвуют практически во всех функциональных проявлениях действия низкомолекулярных органических веществ в водоемах (Курашов и др., 2012). Лимонен встречается во многих маслах, фруктах, растениях (Самусенко, 2011). Он используется для обезжиривания металла перед промышленным окрашиванием, в бытовой химии, как активный компонент в пестицидах (Горбунова, 2013). Лимонен и гептеналь, являющиеся компонентами экстрактов можжевельника и шалфея, проявляли антимикробную активность относительно бактерий родов *Staphylococcus*, *Escherichia* и грибов рода *Candida* (Голованов, 2011).

Известно, что выявленный в пробе гексанон, проявлял антимикробную активность в отношении 7 видов бактерий и одного микромицета (Vukovic et al., 2009). Фунгицидные и антимикробные свойства гексанола описаны в работах (Lanciotti et al, 2003).

Содержание ароматических соединений - фталатов в пробе №1 составляло от 2,27 до 3,65%.

Таблица 40 - Состав экзогенных метаболитов микрэкосистемы в начальный период (проба №1)

№	Вещество	Формула	RT	ИК	%	С
1	3-гексанон	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	2,73	803	8,06	0,0057
2	2-гексанол	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O	2,94	811	3,21	0,0023
3	3-метилциклопентан-1-он	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O	3,93	846	2,75	0,0019
4	5-метокси-2-метилпентан-2-ол	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	6,12	915	5,74	0,0040
5	(Е)-гепт-2-еналь	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O	9,99	999	12,84	0,0090
6	1-метил-4-проп-1-ен-2-илциклогексен [лимонен]	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	11,29	1021	19,71	0,0139
7	1-нонилазиридин	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> N	17,10	1114	4,50	0,0032
8	додекан	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	23,85	1200	2,68	0,0019
9	тетрадекан	C <sub>12</sub> H <sub>30</sub>	37,56	1400	2,07	0,0015
10	(Е)-8-метилгептадец-8-ен	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub>	54,12	1864	0,78	0,0006
11	бис (2-метилпропил)-1,2-бензолдикарбоксилат; [диизобутилфталат]	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	54,30	1871	2,27	0,0016
12	дибутил-1,2-бензолдикарбоксилат; [дибутилфталат]	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	55,92	1960	3,93	0,0028
13	этил гептадеканоат	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	56,43	1998	1,98	0,0014
14	неидентифицированное m/z 267 [M+], 83 (100)		56,98	2056	0,62	0,0004
15	<i>эйкозан-2-ол</i>	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub> O	57,05	2063	1,51	0,0011
16	неидентифицированное m/z 320[M+], 95 (100)		58,25	2210	5,75	0,0040
17	неидентифицированное m/z 322 [M+], 69 (100)		58,60	2262	1,72	0,0012
18	докоз-1-ен	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub>	58,63	2266	4,33	0,0030
19	неидентифицированное m/z 347 [M+], 83 (100)		58,91	2308	3,91	0,0028
20	неидентифицированное m/z 334 [M+], 44 (100)		59,48	2400	5,45	0,0038
21	неидентифицированное m/z 325[M+], 44 (100)		60,33	2523	2,54	0,0018
22	бис (2-этилгексил)-1,2-бензолдикарбоксилат; [диэтилгексилфталат]	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	60,46	2539	3,65	0,0026
	ВСЕГО					0,070

Примечание: RT – время удерживания, мин; ИК – индекс Ковача; % – доля соединения среди всех НОС; С – концентрация соединения в воде, мг/л; (для некоторых веществ в квадратных скобках указаны тривиальные или наиболее часто употребляемые наименования).

Фталаты используются в химической промышленности и рассматриваются как загрязнители природной среды (Heise, Litz, 2004). Бис (2-метилпропил)-1,2-бензолдикарбоксилат (диизобутилфталат), дибутил-1,2-бензолдикарбоксилат (дибутилфталат) и бис (2-этилгексил)-1,2-бензолдикарбоксилат

(диэтилгексилфталат) используются в промышленности в качестве пластификаторов (увеличивающих гибкость), растворителей для парфюмерных масел, стабилизаторов духов, в печатных красках, в клеях и т.д. Однако, растения, в том числе водные, и водоросли в природных условиях также синтезируют эти соединения, участвующие как фитотоксины в аллелопатических взаимодействиях (Xuan et al., 2006; Курашов и др., 2013). Высоким содержанием дибутилфталата характеризовалась культуральная среда *Oscillatoria neglecta* – 12% от общего количества растворенных экзометаболитов (Кирпенко и др., 2012). Следует отметить, что все исследованные альгологически чистые культуры цианобактерий *Oscillatoria neglecta*, *Anabaena variabilis*, *Anabaena cylindrical* и зеленых водорослей *Acutodesmus obliquus* содержали в различных концентрациях фталаты (Кирпенко и др., 2012).

В начальной пробе также обнаружены алканы – додекан и тетрадекан. Тетрадекан является как природным, так и антропогенным соединением, которое используют в качестве растворителя и синтетического промежуточного продукта. Это вещество попадает в окружающую среду в виде выбросов летучих веществ, выхлопов автомобилей, сточных вод, свалок и промышленных отходов. Додекан используют в качестве растворителя, в органическом синтезе. Это соединение является отходом резиновой и бумажной промышленности. Кроме того, они входят в состав нефтепродуктов.

Было бы трудно предположить, какое происхождение имеют эти 2 алкана в начальной пробе, если бы не результаты обследования культуральной среды через две недели. Во второй срок наблюдений в микроэкосистеме уже были обнаружены 13 соединений алканового ряда (включая упомянутые выше) (табл. 41) с содержанием 0,48-7,27%, что однозначно связано с функционированием альго-бактериального сообщества.

Таблица 41 - Состав экзогенных метаболитов микроэкосистемы после 2-х недель культивирования (проба №2)

№	Вещество	Формула	RT	ИК	%	C
1	неидентифицированное m/z 100 [M+], 55 (100)		2,61	799	3,65	0,0085
2	октан	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub>	2,68	800	7,09	0,0165
3	неидентифицированное m/z 86 [M+], 86 (100)		3,40	827	3,99	0,0093
4	неидентифицированное m/z 98 [M+], 56 (100)		3,89	845	1,17	0,0027
5	3-метилпентан-3-тиол	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> S	6,70	928	4,20	0,0098
6	5-этил-2,4-диметилгепт-2-ен	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub>	9,98	999	2,11	0,0049
7	5-метилгептан-1-ол	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O	10,11	1001	2,41	0,0056
8	4,7,7-триметилбицикло- [2.2.1]-гептан-3-он [камфор]	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	18,45	1131	0,83	0,0019
9	бензойная кислота	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	23,33	1193	12,05	0,0280
10	додекан	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	23,85	1200	2,20	0,0051
11	2-метилтридекан	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	37,41	1397	7,32	0,0170
12	тетрадекан	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	37,56	1400	1,03	0,0024
13	тетрадекановая кислота,	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	51,29	1765	0,57	0,0013
14	бис (2-метилпропил)-1,2- бензолдикарбоксилат; [диизобутилфталат]	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	54,30	1871	0,79	0,0018
15	дибутил-1,2-бензолдикарбоксилат; [дибутилфталат]	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	55,92	1960	0,68	0,0016
16	гексадекановая кислота	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	56,02	1968	0,95	0,0022
17	этилен гептадеканоат	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	56,44	1999	0,45	0,0011
18	5-[(1S,4aS,8aS)-5,5,8a-триметил-2- метилен-3,4,4a,6,7,8-гексагидро- 1H-нафтален-1-ил]-3-метилпент-1- ен-3-ол; [манол]	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O	56,87	2044	0,64	0,0015
19	неидентифицированное m/z 267 [M+], 83 (100)		56,99	2057	0,16	0,0004
20	(E)-4-метилнонадец-4-ен	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub>	57,05	2063	0,48	0,0011
21	генэйкозан	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	57,39	2100	0,48	0,0011
22	докозан	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub>	58,15	2200	1,69	0,0039
23	трикозан	C <sub>23</sub> H <sub>48</sub>	58,82	2300	2,31	0,0054
24	неидентифицированное m/z ? [m+], 347 (100)		58,90	2306	1,22	0,0028
25	тетракозан	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	59,44	2400	5,33	0,0124
26	пентакозан	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	60,09	2500	6,27	0,0146
27	бис (2-этилгексил)-1,2- бензолдикарбоксилат; [диэтилгексилфталат]	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	60,46	2539	1,18	0,0027
28	гексакозан	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	60,90	2600	6,44	0,0150
29	гептакозан	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	61,94	2700	7,27	0,0169
30	октакозан	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	63,30	2800	5,06	0,0118
31	нонакозан	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	65,07	2900	5,52	0,0128
32	триаконтан	C <sub>30</sub> H <sub>62</sub>	67,39	3000	4,47	0,0104



	ВСЕГО				100,00	0,2327
--	-------	--	--	--	--------	--------

Примечание: (обозначения как в табл. 1)

Обнаружение алканов в водной среде часто считается обусловленным антропогенным происхождением. Однако, несомненно, что и растения в природных условиях их синтезируют (Xuan et al., 2006). В сравнении с первой пробой, компонентный состав алканов увеличился, что подтверждает выделение этих веществ развивающейся микрофлорой. В достаточно высоких концентрациях появились гексакозан и гептакозан (6,44% и 7,27%). Высокое содержание алканов было выявлено также в культуральной среде монокультуры цианобактерий *Oscillatoria neglecta* (до 11,14%) (Кирпенко и др, 2010). В смешанных культурах *Oscillatoria neglecta* и *Anabaena variabilis* количество алканов снижалось. Гептадекан и гексакозан обнаружены в качестве основных алканов в культурах зеленых водорослей *Chlorella kessleri*, *C. vulgaris*, *Chlorella sp.*, *Scenedesmus acutus*, *S. acuminatus*, *S. obliquus* и цианобактерий вида *Spirulina platensis* (Rezanka et al., 1982). Показано, что почвенная цианобактерия *Microcoleus vaginatus* из пустыни Негев, продуцировала 4 нормальных и более 60 разветвленных алканов, состав которых не обычен, а также ряд жирных кислот циклических и ненасыщенных углеводородов, альдегидов, спиртов и кетонов (Дембицкий и др., 2001). Преобладающими соединениями были гептадекан (12%), 7-метилгептадекан (7,8%), гексадекановая кислота (6,5%) и др. Эфирное масло *Anthemis altissima*, в составе которого находился трикозан проявляло антимикробную активность по отношению к видам бактерий *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* (Samadi et al., 2012). Тетракозан обнаружен в метанольном экстракте мангровых растений (Uddin et al., 2012). Нонакозан был основным компонентом фракций, полученных из растений *Salvia miltiorrhiza* (Liang, Xu, 2012).

Таким образом, с высокой долей вероятности мы можем предположить, что и в начальной пробе алканы являются экзометаболитами водорослей.

Всего во второй пробе обнаружено 32 НОС, из которых 4 – не идентифицированы (табл. 41). В наибольшей концентрации содержалась бензойная кислота (12,05%), которая отсутствовала в 1-й пробе. Бензойная кислота обладает антимикробными и фунгицидными свойствами (Eun-Soo Park et al., 2001; Drăcea et al., 2008). Она участвует в аллелопатических взаимодействиях многих наземных и водных растений (Macias et al., 2008; Putnam, 1983).

Во второй пробе присутствуют те же фталаты, что и в первой: диизобутилфталат, дибутилфталат и диэтилгексилфталат, только в меньших концентрациях.

В пробе № 2 обнаружено соединение камфора (табл. 41), которая известна как антибактериальный агент с активными антагонистическими свойствами (Chehregani et al., 2013). Действие камфоры доказано на бактериях *Enterobacter aerogenes* и *Staphylococcus aureus* (Mohsenzadeh et al., 2011).

Спустя две недели после постановки эксперимента в культуральной жидкости появились жирные кислоты (табл. 41). Их суммарная концентрация составила 1,52% от общего количества НОС. Жирные кислоты известны как активные аллелохимические агенты, которые могут выполнять защитные функции (Курашов и др., 2013). Цианобактерии родов *Scytonema* и *Aphanizomenon* выделяли в среду жирнокислотные компоненты (Дембицкий и др., 2001; Дембицкий, 2002). Гексадекановая кислота обнаружена у почвенных цианобактерий с содержанием 6,54% (Дембицкий и др., 2001). Гексадекановая (или пальмитиновая) кислота входит в состав глицеридов большинства растительных масел. Тетрадекановая (миристиновая) кислота встречается в природе во многих эфирных маслах растений (Позднякова, Бубенчиков, 2014) и участвует в аллелопатических взаимодействиях (Nakai et al., 2005).

Таким образом, появление в среде бензойной кислоты и жирных кислот свидетельствует о наличии активных аллелопатических взаимодействий между отдельными представителями микроэкосистемы.

Особого внимания заслуживает обнаруженный во 2-срок маноол, отличающийся значимыми биохимическими, фармакологическими, физиологическими и токсикологическими свойствами. Так, маноол является одним из главных компонентов эфирного масла рдеста маленького. Показано накопление маноола в тканях *P. pusillus* в течение вегетационного сезона (Курашов и др., 2013). Маноол, содержащийся в прополисе, обладал антипролиферативной активностью (Pratsinis et al., 2010). Содержание в составе живицы *Copaifera langsdorffii* дитерпена маноола, обуславливало ее антибактериальные свойства (Souza et al., 2011).

Проходящая в накопительной культуре сукцессия привела к увеличению числа обнаруживаемых в культуральной жидкости НОС. Об этом свидетельствуют результаты исследования третьей пробы, в которой было обнаружено уже 53 соединения; 8 из которых остались неидентифицированными. Состав соединений 3-й пробы существенно отличается и от 1-й и от 2-й разнообразием компонентного состава, увеличением доли терпенов, насыщенных углеводов, спиртов, альдегидов, кетонов (табл. 42).

Таблица 42 - Состав экзогенных метаболитов микроэкосистемы после месяца культивирования (проба №3)

№	Вещество	Формула	RT	ИК	%	C
1	3-гексанон	$C_6H_{12}O$	2,83	807	1,86	0,0047
2	2-гексанон	$C_6H_{12}O$	2,91	809	4,03	0,0102
3	2-гексанол	$C_6H_{14}O$	3,02	813	0,61	0,0016
4	(E)-гекс-2-еналь	$C_6H_{10}O$	3,92	846	0,29	0,0007
5	неидентифицированное m/z 98 [m+], 56 (100)		4,01	849	0,42	0,0011
6	2-(2-метилпентан-2-ил)оксиран	$C_8H_{16}O$	4,06	851	0,79	0,0020
7	гексан-2,4-дион	$C_6H_{10}O_2$	5,05	887	0,53	0,0014
8	окт-1-ен-3-он	$C_8H_{14}O$	5,25	894	0,85	0,0021
9	метил (E)-5-метоксипент-3-еноат	$C_7H_{12}O_3$	6,25	918	3,03	0,0077
10	(5E)-2-метилгепта-2,5-диен-4-ол	$C_8H_{14}O$	6,73	929	3,47	0,0088
11	(E)-3,7-диметилокт-2-ен	$C_{10}H_{20}$	7,33	941	7,14	0,0181
12	2,3-диметилокт-2-ен	$C_{10}H_{20}$	9,39	986	1,71	0,0043
13	5-этил-2,4-диметилгепт-2-ен	$C_{11}H_{22}$	10,04	1000	1,55	0,0039

14	3-этил-5-метилгепт-1-ин-3-ол	$C_{10}H_{18}O$	10,19	1003	1,58	0,0040
15	2,2,3,3,4,4-гексаметилоксолан	$C_{10}H_{20}O$	10,61	1010	0,59	0,0015
16	(E)-3-метилдец-4-ен	$C_{11}H_{22}$	11,36	1022	2,20	0,0056
17	пентилциклопентан	$C_{10}H_{20}$	11,81	1030	0,60	0,0015
18	(E)-3-метилдец-3-ен	$C_{11}H_{22}$	12,12	1035	0,24	0,0006
19	3,7-диметилнонан	$C_{11}H_{24}$	12,46	1040	0,78	0,0020
20	1-бутил-1-метил-2-пропилциклопропан	$C_{11}H_{22}$	12,89	1048	0,63	0,0016
21	(Z)-3-метилдец-2-ен	$C_{11}H_{22}$	15,10	1085	0,89	0,0022
22	(Z)-9-метилундец-2-ен	$C_{12}H_{24}$	17,15	1114	4,16	0,0106
23	1-(1,2,2,3-тетраметилциклопентил)этанон	$C_{11}H_{20}O$	20,90	1162	1,21	0,0031
24	додец-1-ен	$C_{12}H_{24}$	22,76	1186	0,91	0,0023
25	5-этилнонан-2-ол	$C_{11}H_{24}O$	24,64	1210	1,11	0,0028
26	1,2,4,5-тетраэтилциклогексан	$C_{14}H_{28}$	27,80	1251	0,50	0,0013
27	3-метилтетрадекан	$C_{15}H_{32}$	37,50	1398	0,88	0,0022
28	тетрадец-1-ен	$C_{14}H_{28}$	38,46	1421	1,21	0,0031
29	3-метилтетрадекан	$C_{15}H_{32}$	39,37	1444	0,72	0,0018
30	2-метилпентадекан	$C_{16}H_{34}$	45,85	1597	0,31	0,0008
31	ундецилциклопентан	$C_{16}H_{32}$	47,73	1652	0,52	0,0013
32	2-метилгептадекан	$C_{18}H_{38}$	50,57	1741	0,34	0,0009
33	3-метилоктадекан	$C_{19}H_{40}$	52,24	1797	0,38	0,0010
34	октадекан-3-он	$C_{18}H_{36}O$	54,00	1860	0,15	0,0004
35	5-гептадеценаль	$C_{17}H_{32}O$	54,15	1865	0,21	0,0005
36	бис (2-метилпропил)-1,2-бензолдикарбоксилат; [диизобутилфталат]	$C_{16}H_{22}O_4$	54,30	1871	0,22	0,0006
37	(Z)-нонадец-5-ен	$C_{19}H_{38}$	55,38	1920	0,17	0,0004
38	дибутил-1,2-бензолдикарбоксилат; [дибутилфталат]	$C_{16}H_{22}O_4$	55,92	1960	0,37	0,0009
39	этинил гептадеканоат	$C_{19}H_{36}O_2$	56,46	2001	0,91	0,0023
40	3-метилкозан	$C_{21}H_{44}$	57,01	2059	0,88	0,0022
41	неидентифицированное m/z 347 [m+], 347 (100)		57,30	2089	0,20	0,0005
42	неидентифицированное m/z 295 [m+], 71 (100)		58,18	2200	1,05	0,0027
43	неидентифицированное m/z 295 [m+], 83 (100)		58,59	2260	0,49	0,0012
44	трикозан	$C_{23}H_{48}$	58,82	2300	0,45	0,0012
45	неидентифицированное m/z ? [m+], 81 (100)		59,45	2395	1,31	0,0033
46	2-метилтрикозан	$C_{24}H_{50}$	59,50	2403	0,82	0,0021
47	неидентифицированное m/z 352 [m+], 71 (100)		60,09	2493	2,61	0,0066
48	бис (2-этилгексил)-1,2-бензолдикарбоксилат; [диэтилгексилфталат]	$C_{24}H_{38}O_4$	60,46	2539	2,10	0,0053

49	гексакозан	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	60,90	2600	1,48	0,0038
50	неидентифицированное m/z 426 [m+], 191 (100)		61,46	2647	5,96	0,0151
51	гептакозан	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	61,94	2700	4,77	0,0121
52	октакозан	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	63,30	2800	23,78	0,0603
53	неидентифицированное m/z 441 [m+], 97 (100)	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>6</sub>	65,10	2893	6,02	0,0153
	ВСЕГО				100,00	0,25

Примечание: (обозначения как в табл. 1)

Оценка сходства компонентного состава НОС культуральной жидкости микроэкосистемы в разные сроки по индексам сходства Жаккара и Сьёренсена (табл. 43) показала, что с течением времени состав экзометаболитов сильно изменился. Так, наиболее сильные отличия наблюдались между исходной водой и культуральной жидкостью после месяца культивирования, что показывает, что состав присутствующих в воде НОС прежде всего определяется функционирующей микрофлорой.

Таблица 43 - Сходство компонентного состава НОС культуральной жидкости микроэкосистемы в разные сроки

	Проба 1	Проба 2	Проба 3
Проба 1	х	<b>0.21</b>	<b>0.11</b>
Проба 2	0.35	х	<b>0.16</b>
Проба 3	0.19	0.27	х

Примечание: (Проба 1 – исходная вода; Проба 2 - после 2-х недель культивирования; Проба 3 - после месяца культивирования) оцененное по индексам сходства Жаккара (**полужирный шрифт**) и Сьёренсена-Чекановски (*курсив*).

Следует отметить, что к 3-му сроку наблюдений (месяц существования микроэкосистемы) по сравнению со 2-м сроком произошло значительное снижение как числа присутствующих в воде алканов (с 13 до 4), так и их относительного содержания (с 55,16 % до 30,48%). При этом наиболее высоко было процентное содержание октакозана, которое выросло с 5,06 до 23,78% (табл. 41, 42). Абсолютная концентрация алканов снизилась с 0,128 мг/л до 0,076 мг/л. Высокое содержание в составе НОС 3-го срока отмечено также для терпена (Е)-3,7-диметил-окт-2-ена (7,14%).

Выявленные в 3-й пробе додецен и тетрадецен относят к антропогенным соединениям и рассматривают как загрязнители окружающей среды (Костин и

др., 2008). Однако факт их отсутствия в исходной воде и во 2-й срок наблюдений (через 2 недели) показывает, что они синтезируются микрофлорой, являясь ее экзометаболитами.

В результате проведенных исследований обнаружен широкий спектр метаболитов водорослей, цианобактерий и их бактериальных спутников, которые отражали интенсивно протекающие между ними эколого-биохимические взаимодействия, в том числе и аллелопатические.

В течение месяца инкубирования накопительной культуры проводили визуальные и микроскопические наблюдения за развитием альгофлоры. Спустя две недели после постановки эксперимента обнаружено появление зеленого оттенка среды и обрастаний на стенках сосуда в виде маленьких пятен. По прошествии месяца культивирования, на 3-м этапе анализа, наблюдалось повышение мутности среды и интенсивности зеленой окраски. По урезу среды обнаружены зеленая полоска на стенках сосуда и разрастания пятен зеленого цвета. На поверхности среды образовалась тонкая мутная пленка. На данном этапе наблюдалось осаждение хлопьев на дно сосуда.

В культуральной среде трех проб выявлены представители цианобактерий, диатомовых, зеленых и эвгленовых водорослей, но доминирующими оказались цианобактерии, а наибольшим разнообразием отличались диатомовые водоросли.

Изучение альгофлоры показало доминирование в исходной пробе цианобактерий вида *Gomphosphaeria naegelina* (Kutz.) и диатомовых водорослей вида *Cocconeis placentula* (Ehr.), *Navicula* sp. (Boyu.). Встречались цианобактерии *Gloeocapsa* sp. (Kutz.), диатомовые водоросли *Stephanodiscus* sp. (Ehr.), *Gomphonema constrictum* (Ehr.), *Melosira* sp. (Ag.), *Cyclotella* sp. (Kutz.), *Cymbella* sp. (Ag.), зеленые водоросли *Chlamidomonas simplex* (Pasch.), эвгленовые *Trachelomonas verrucosa* (Stokes).

При микроскопическом анализе 2-й пробы, обнаружено увеличение числа клеток цианобактерий вида *Gloeocapsa* sp. в толще среды до  $4,9 \times 10^2$  кл/мл, по

сравнению с 1-й пробой. Присутствовали цианобактерии *Gomphosphaeria sp.*, диатомовые водоросли *Navicula sp.*, *Cocconeis sp.*, *Stephanodiscus sp.*, *Cymbella sp.*, зеленые водоросли *Chlorella vulgaris* (Beij.).

Микроскопическое исследование 3-й пробы показало доминирование ( $7,0 \times 10^4$  кл/мл) в толще среды цианобактерий рода *Gloeocapsa*, в поверхностной пленке - диатомовых водорослей рода *Navicula*. Присутствовали *Cymbella sp.*, *Cocconeis placentula*, *Nitzschia sp.* (Hass), *Ankistrodesmus angustus* (Bern), *Actinastrum sp.* (Lagerh.), *Chlorella vulgaris* и *Scenedesmus sp.* (Turp).

В результате анализа альгофлоры культуральной среды обнаружено превалирование в первой пробе цианобактерий вида *G. naegelina*, в третьей пробе - цианобактерий вида *Gloeocapsa sp.*, т.е. произошла замена доминантов. Причем эти доминанты отмечены практически в одинаковых количествах: *G. naegelina* –  $6,8 \times 10^4$  кл/мл (исходная проба), *Gloeocapsa sp.* –  $7,0 \times 10^4$  кл/мл (через месяц культивирования). В 3-й пробе обнаружены скопления зеленых водорослей *C. vulgaris* и *Scenedesmus sp.* Присутствие в большой концентрации (23,78%) октакозана в 3-й пробе совпало с массовым развитием цианобактерий *Gloeocapsa sp.* в присутствии диатомовых водорослей рода *Navicula* и зеленых водорослей родов *Chlorella* и *Scenedesmus*.

Микроорганизмы в водной экосистеме находятся в сложном биоценозе, характеризующемся различными взаимоотношениями как между собой, так и с водорослями и макрофитами. Микроорганизмы являются индикаторами, наиболее быстро реагирующими на изменение окружающей среды. Их развитие и активность находятся в прямой связи с составом органических и неорганических веществ в среде, так как микроорганизмы способны разрушать соединения естественного и антропогенного происхождения.

Изучение бактериального состава в системе показало незначительное его количество и большое разнообразие (табл. 44). Из эколого-трофических групп были обнаружены гетеротрофы, включающие микроорганизмы, способные усваивать высокие (сапротрофы) и низкие (олиготрофы) концентрации

органических веществ; хемотробы, деструктирующие минеральные компоненты; амило- и сахаролитические, липолитические. Среди них выделены микроскопические грибы, бактерии, в том числе, актиномицетоподобные формы. Данные микроорганизмы часто встречаются в составе спутников цианобактерий (Батаева, Дзержинская, 2009).

Численность микроорганизмов была в пределах порядка  $10^2$  кл/мл. Учет микрофлоры показал общую тенденцию незначительного увеличения количества микроорганизмов в процессе культивирования системы (табл. 44). Однако на голодном агаре, на котором развивается исключительно автохтонная микрофлора, происходило снижение количества клеток к третьей пробе и смена доминирующих морфотипов: грамположительных палочковидных клеток на грамотрицательные.

В первой пробе на всех средах, кроме Гаузе и Чапека преобладали грамотрицательные палочковидные клетки, в третьей пробе превалировали грамположительные палочковидные формы и стрептококки (ПА/10 и ПА/100). На среде Селибера выделены липолитические бактерии - грамотрицательные палочки во всех опытах. Сапротрофы на среде ПА – питательном агаре колебались в численности и морфотипах. На среде Гаузе получены амилолитические бактерии – грамположительные актиномицетоподобные формы. На среде Чапека выделены микромицеты родов *Fusarium*, *Alternaria*, *Mycelia sterilia*.

Таблица 44 - Учет микрофлоры в культуральной среде водорослей и цианобактерий

Питательная среда	Количество микроорганизмов (КОЕ/мл) и доминирующие морфотипы в пробе		
	№1	№2	№3
ПА	$2,0 \times 10^2$ Гр- палочки и кокки	$2,4 \times 10^2$ Гр+ палочки	$1,5 \times 10^2$ Гр+- палочки
ПА/10	$4,6 \times 10^2$ Гр- палочки	$1,2 \times 10^2$ Гр+кокки	$2,6 \times 10^2$ Гр- палочки Гр+ стрептококки
ПА/100	$0,7 \times 10^2$ Гр- палочки	$0,9 \times 10^2$ Гр- палочки	$2,0 \times 10^2$ Гр+ стрептококки



Голодный агар	0,72×10 <sup>2</sup> Гр- палочки	1,8×10 <sup>2</sup> Гр+палочки	0,1×10 <sup>2</sup> Гр+ палочки
Селибера	0,6×10 <sup>2</sup> Гр- палочки	1,2×10 <sup>2</sup> Гр- палочки	2,7×10 <sup>2</sup> Гр- палочки
Гаузе	0,1×10 <i>Cladosporium</i>	0,2×10 Пигментированные микровицеты	0,5×10 <sup>2</sup> Гр+ палочки и кокки Актиномицетоподобные
Чапека	0,1×10 <i>Fusarium</i> <i>Mycelia sterilia</i>	0,1×10 <i>Alternaria</i>	0,2×10 <sup>2</sup> Не идентифицированы

Анализ полученных гидрохимических и микробиологических данных показал, что незначительная численность в первой пробе микроорганизмов, использующих в своем метаболизме органические вещества (сапротрофы, амилитические, липолитические, сахаролитические), свидетельствует о низкой концентрации этих веществ в системе. Данные по НОС показывают, что их наименьшая концентрация наблюдалась именно в начальной пробе (0,070 мг/л). В дальнейшем происходил рост концентрации НОС до 0,233 мг/л (через 2 недели) и до 0,250 мг/л (через месяц культивирования) (табл. 40-42).

Эксперименты показали, что увеличение состава и концентрации метаболитов в культуральной среде микрорекосистемы после одного месяца культивирования обуславливается увеличением численности основных групп микроорганизмов наряду с изменениями в составе водорослей и цианобактерий.

Учитывая, что аллелопатическая активность водорослей, цианобактерий, микроскопических грибов обусловлена, как правило, не одним специфическим для конкретных видов соединением, а совокупностью веществ разной природы, обнаруженные в экзометаболических комплексах разнообразные физиологически активные соединения, обладающие аллелохимическим потенциалом и оказывающие влияние на различные стороны метаболизма клеток водорослей, очевидно, являются значимым фактором формирования и функционирования альгофлоры.

Специфика экзометаболических комплексов водорослей в связи с аллелопатическими взаимодействиями в пресноводных экосистемах требует дальнейшего серьезного изучения в связи с необходимостью познания эколого-

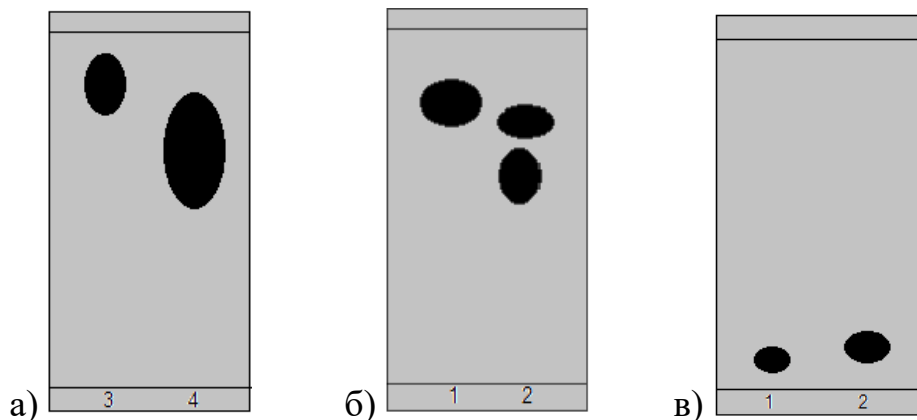
биохимических механизмов формирования и функционирования альго-бактериальных сообществ.

## 8.2. Исследование компонентного состава метаболитов техногенных водных циано-бактериальных сообществ и *Phormidium ramosum* В.-Peters. IPPASB-2022

### 8.2.1. Исследование состава метаболитов культур цианобактерий методом ТСХ, ВЭТСХ

Предварительное изучение групп компонентов метаболитов культуральной жидкости и водно-спиртовых экстрактов (50:50) культуры *Phormidium ramosum* IPPAS В-2022 и циано-бактериального сообщества №2 проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ).

Было проанализировано 18 элюирующих систем (табл. 45). Лучшее разделение и качество хроматографических зон достигнуто в системах хлороформ, этанол : уксусная кислота (1:1), бутанол, этанол : вода (1 : 9), бутанол : уксусная кислота : вода (4 : 1 : 5), этанол : вода (1:9), бутанол : уксусная кислота : вода (4 : 1 : 5) (рис. 69).



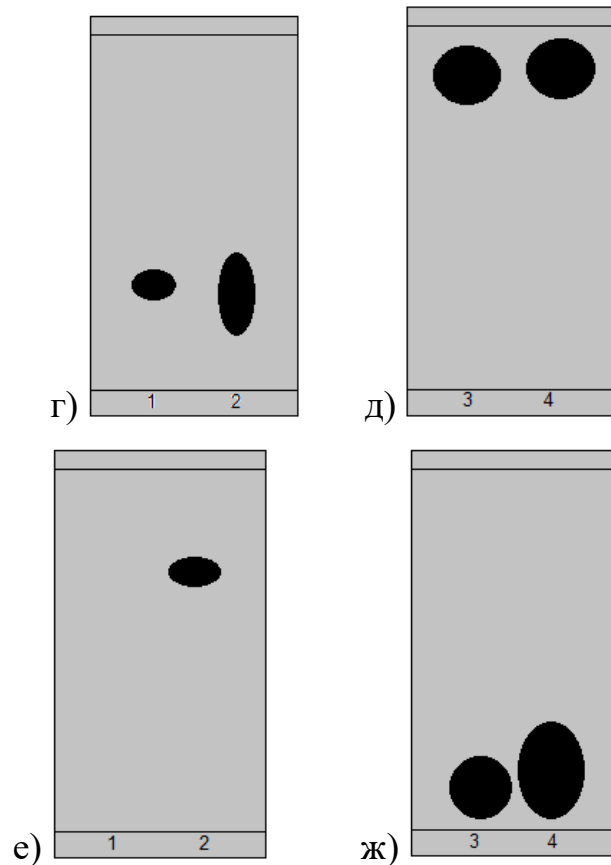


Рис. 69. Схематический вид хроматографических зон: (1 – водно-спиртовой экстракт культуры *Phormidium ramosum* IPPAS B-2022; 2 – водно-спиртовой экстракт сообщества №2; 3 – культуральная жидкость культуры *Phormidium ramosum* IPPAS B-2022; 4 – культуральная жидкость сообщества №2. а), в) система – хлороформ; б) система – этанол : уксусная кислота (1:1); г) система – бутанол; д), е) система – этанол : вода (1:9); ж) система – бутанол : уксусная кислота : вода (4 : 1 : 5).

Различные соединения, находящиеся в смеси, поднимаются с разными скоростями в зависимости от их сродства к сорбенту (Кирхнер, 1981; Столяров и др., 2002; Cseke et al., 2006).

Для каждой хроматографической зоны был подсчитан показатель Rf. Идентификация зон на хроматограммах представлена в таблице 45.

Элюирующая система – Этанол : вода (1:9) – показала слабое разделение веществ. Из культуральных жидкостей проб №3, №4 было выделено по одной группе веществ, имеющие показатели Rf (№3)=0,930; Rf (№4)=0,920.

Элюирующая система – этанол : вода (9:1) – показала достаточное разделение веществ в пробах №2, №3 и №4 с показателями Rf (№2)=0,700; Rf (№3)=0,640; Rf (№4)=0,660. Элюирующая система – этанол : вода (1:1) – показала разделение группы веществ только в пробе №2 с показателем Rf (№2)=0,810. Такие системы как гексан, этилацетат и гексан : этилацетат (3:1), хлороформ : уксусная кислота (5 : 2), растворители, содержащие бензол и метанол не показали разделения веществ ни в одной пробе.

Таблица 45 - Идентификация хроматографических зон

№ п/п	Элюент	Показатель Rf± 0,02			
		Проба №1. Экстракт <i>Phormidium</i> <i>ramosum</i> IPPAS B-2022	Проба №2. Экстракт сообщества №2	Проба №3. Культуральная жидкость <i>Phormidium</i> <i>ramosum</i> IPPAS B-2022	Проба №4. Культуральная жидкость сообщества №2
1	Гексан	-	-	-	-
2	Этилацетат	-	-	-	-
3	Гексан : этилацетат (3 : 1)	-	-	-	-
4	Этанол : вода (1 : 9)	-	0, 870	0, 930	0, 920
5	Этанол : вода (9 : 1)	-	0, 700	0, 640	0, 660
6	Этанол : вода (1 : 1)	-	0, 810	-	-
7	Хлороформ	0, 066	0, 077	0, 860	0, 720
8	Хлороформ : уксусная кислота (5 : 2)	-	-	-	-
9	Уксусная кислота	-	0, 506	-	-
10	Бутанол : уксусная кислота : вода (4 : 1 : 5)	-	-	0, 110	0, 195
11	Бутанол	0, 360	0, 350	-	-
12	Этанол : гексан (1 : 1)	-	0, 044	-	-
13	Этанол : уксусная кислота (1 : 1)	0, 807	0, 739	-	-
14	Бензол : метанол : уксусная кислота (45 : 8 : 4)	-	-	-	-
15	Бензол : метанол (9 : 1)	-	-	-	-
16	Бензол	-	-	-	-
17	Метанол	-	-	-	-
18	Этилацетат : метанол : вода (16 : 1 : 1)	-	-	-	-

«-» - отсутствие разделения

Хлороформ является одной из наилучших систем для разделения. Она

показала разделение веществ во всех образцах. Из пробы № 1 с помощью этой элюирующей системы выделена группа веществ с показателем  $R_f=0,066$ ; из пробы №2 - группа веществ с показателем  $R_f=0,077$ ; из пробы №3 группа веществ с  $R_f=0,860$ ; из пробы №4 группа веществ с  $R_f=0,720$ . По литературным данным такая величина  $R_f$  соответствует метиловому эфиру кислотной формы витамина А (Katsui et al., 1963).

Элюирующая система – уксусная кислота – показала разделение группы веществ в образце с водно-спиртовым экстрактом циано-бактериального сообщества №2 с показателем  $R_f=0,506$ . Элюент бутанол показал разделение по группе веществ в образцах №1 и №2, значения  $R_f$  при этом составили 0,360 и 0,350 соответственно. Система – этанол : гексан (1:1) – показала разделение группы вещества в пробе №2 с показателем  $R_f=0,044$ . Элюирующая система – бутанол : уксусная кислота : вода (4:1:5) – показала достаточное разделение веществ из образцов №3 и №4 с показателями  $R_f=0,110$  и  $R_f=0,195$ , соответственно.

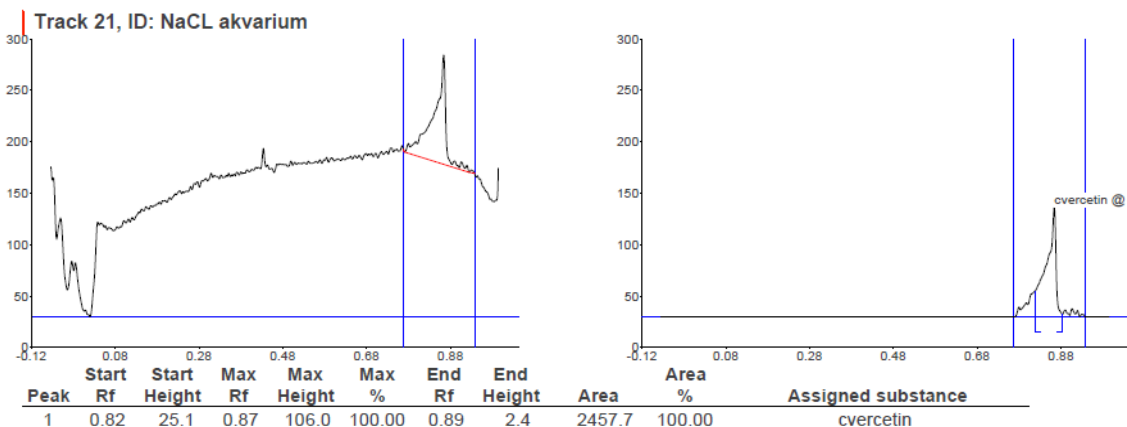


Рисунок 70 - Содержание кверцетина в водно-спиртовом экстракте циано-бактериального сообщества №2

Хорошее разделение веществ также показала элюирующая система – этанол : уксусная кислота. Значения  $R_f$  при этом составили 0,807 в пробе №1 и 0,739 в пробе №2.

Методом ВЭТСХ в водно-спиртовом экстракте сообщества №2 обнаружен флавоноид кверцетин (рис. 70). Кверцетин – это флавоноид, обладающий высокой биологической активностью. Содержание его в экстракте накопительной культуры составило 22,78 мг при длине Rf равной 0,87.

В результате исследований методами ТСХ и ВЭТСХ в культуральной жидкости сообщества №2 с помощью элюирующей системы «хлороформ» обнаружен метиловый эфир кислотной формы витамина А с Rf 0,72, в водно-спиртовом экстракте сообщества №2 обнаружен флавоноид кверцетин, обладающий высокой биологической активностью.

### 8.2.2. Исследование состава органических кислот цианобактерий

Использование ВЭЖХ обеспечивает возможность разделения большого количества органических кислот и углеводов без сложной и длительной пробоподготовки (Ergonul, Nergiz, 2010).

Исследование водно-спиртовых экстрактов (50:50) циано-бактериального сообщества №2 и культуры *Phormidium ramosum* IPPAS В-2022 методом ВЭЖХ показало наличие органических кислот: изолимонной, молочной, аспарагиновой, фумаровой (табл. 46).

Таблица 46 - Органические кислоты водно-спиртовых экстрактов цианобактерий

Тривиальное название	Название по ИЮПАК	Содержание, г/л	
		Циано-бактериальное сообщество №2	<i>Phormidium ramosum</i> IPPAS В-2022
Изолимонная кислота	1-Гидроксипропан-1,2,3-трикарбоновая кислота	–	0,363
Молочная кислота	2-гидрокси-пропановая кислота	–	0,226
Аспарагиновая кислота	2-аминобутандиовая кислота	3,473	–
Фумаровая кислота	Транс-бутендиовая кислота	0,001	–

В водно-спиртовом экстракте циано-бактериального сообщества №2 обнаружено наибольшее количество аспарагиновой кислоты – 3,473 г/л. А в

экстрактах *Phormidium ramosum* IPPAS В-2022 - наибольшее количество изолимонной и молочной (0,363 г/л и 0,226 г/л) кислот. Изолимонная кислота является изомером лимонной кислоты, обладает высокой антиоксидантной активностью, также, как и фумаровая кислота (Triantisb et al., 2002). Молочная кислота обладает антибактериальными свойствами. Аспарагиновая кислота проявляет иммуномодулирующие и защитные свойства.

### **8.3. Исследование компонентного состав метаболитов почвенных культур цианобактерий**

#### **8.3.1. Биологически активные вещества биомассы цианобактерий**

Как автотрофные организмы, водоросли и цианобактерии могут синтезировать самые различные витамины, типичные для растений. Значительная часть витаминов накапливается в клетках, а большое количество их выделяется в среду и используется не только самими водорослями, но и сопутствующими их микро- и макроскопическими организмами. В характеристике витаминов как особой группы биологически активных соединений выступает их способность в ничтожных концентрациях катализировать ферментативные процессы (Сиренко, 1988).

В результате биохимического анализа содержание аскорбиновой кислоты в сообществе №2 составило 1,74 мг %, в сообществе № 15 - 1,47 мг %, а в сообществе № 11 – 1,21 мг %, в сообществе № 21 – 1,34 мг % сырого вещества. Содержание витамина С у сине-зеленых водорослей *M. aeruginosa*, *A. flos-aquae* и *O. planctonica* составляет 2,63 - 2,40 мг % сырого вещества (Сиренко, 1988).

Углеводы водорослей значительно влияют на рост, размножение и функциональную активность сопутствующих бактерий, в тесных ассоциациях с которыми представители альгофлоры развиваются в природных биотопах. Бактерии, в свою очередь, оказывают влияние на метаболические процессы клеток водорослей и других микроорганизмов. Например, глюкоза, галактоза и фруктоза из гидролизатов слизи динофитовой водоросли *Katodinium dosrabisulcum* ингибировали рост одних и стимулировали развитие других видов

(18 из 36 исследованных) морских бактерий, которые обеспечивали водоросли дополнительным количеством витамина В12, тиамин, биотин и других биологически активных веществ.

В результате проведенных исследований в сообществе №2 содержание глюкозы составило - 0,81%, в сообществе №15 - 0,81%, а в сообществе №11 - 0,58% и в сообществе №21 - 0,85%.

Фосфор поглощается водорослями и цианобактериями главным образом в виде солей ортофосфорной кислоты — фосфатов, однако доступны и некоторые органические соединения, например, аденозинтрифосфат и глицерофосфат. Азот цианобактерии фиксируют из атмосферы. В пахотной дерново-подзолистой почве цианобактерии фиксируют до 20 кг/га азота в год (Панкратова, 1989). Содержание общего азота в биомассе цианобактерий составляет 2,5–8,0% на воздушно-сухое вещество (Румянцев, Крюков, 2012).

По результатам биохимического анализа содержание фосфора в биомассе сообщества №2 составило 0,65%, сообщества №15 – 0,72%, сообщества №11 – 0,66% и сообщества №21 – 0,71% на воздушно-сухое вещество. По литературным данным содержание фосфора в цианобактериях составляет 0,7–1,2% на воздушно-сухое вещество (Румянцев, 2012).

Содержание азота в биомассе сообщества №2 составило 3,12%, сообщества №15 – 4,85%, сообщества №11 – 4,42% и сообщества №21 – 4,85% на воздушно-сухое вещество. Общее содержание азота в *Anabaena cylindrica* достигало 6,51 % сухого вещества, белка – примерно 35%. У *A. variabilis*, *A. oscillarioides*, а также четырех других видов содержание общего азота колебалось от 5,1 до 8,3 %.

Все исследуемые циано-бактериальные сообщества в большей или меньшей степени содержали биологически активные вещества, но по аскорбиновой кислоте самый высокий показатель был у сообщества №2 - 1,74 %, по глюкозе у сообщества №21 - 0,85%, по фосфору у сообщества №15 – 2,85% и по азоту у сообщества №15 и №21 – 4,85%.



### 8.3.2. Исследование метаболитов циано-бактериальных сообществ методом спектрофотометрии

Спектрофотометрическое исследование проводили с целью выявления группы доминирующих веществ в культуральной жидкости циано - бактериальных сообществ.

В результате спектрофотометрического анализа всех исследуемых сообществ, показатели оптической плотности (А) убывают от длин волн 312 до 1000 нм, но при этом наблюдается резкий скачок показателя при длине волны 350 нм. Так же были проанализированы показатели светопропускания (Т), которые возрастают от длин волн 312 до 1000 нм, но при длине волны 350 нм у всех исследуемых сообществ наблюдается резкое убывание показателей.

Полученные в результате спектрального анализа УФ – спектры, по нашему мнению, показывают возможное наличие в экстрактах фенольных соединений, так как во всех исследуемых сообществах максимум поглощения равен 350 нм. Отдельные группы фенольных соединений отличаются друг от друга по своим спектральным характеристикам. По нашему мнению, выделенная нами группа фенольных соединений относится к группе флавоны, так как им соответствует длины волн 320-350 нм (Сиренко и др., 1975) (табл. 47).

Таблица 47 - Результаты спектрофотометрического исследования культуральной жидкости

Длина волны	ЦБС №2		ЦБС №15		ЦБС №11		ЦБС №21	
	А	Т	А	Т	А	Т	А	Т
312	0,184	65,4	0,848	14,2	0,070	84,9	0,085	82,2
350	0,397	40,0	2,088	0,8	0,136	73,1	0,162	69,0
400	0,170	67,6	1,726	1,9	0,052	88,8	0,055	88,1
450	0,091	81,1	1,577	2,6	0,030	93,4	0,025	94,5
500	0,057	87,7	1,369	4,3	0,019	95,7	0,013	97,1
550	0,041	91,1	1,115	7,7	0,014	96,9	0,007	98,3
600	0,030	93,3	1,019	9,6	0,010	97,6	0,004	99,0
650	0,023	94,8	0,953	11,1	0,009	98,0	0,003	99,4
700	0,019	95,7	0,874	13,4	0,008	98,2	0,003	99,4
750	0,015	96,5	0,774	16,8	0,007	98,5	0,002	99,6
800	0,013	97,1	0,706	19,7	0,006	98,7	0,001	99,7
850	0,011	97,5	0,648	22,5	0,005	98,8	0,001	99,8
900	0,009	97,9	0,592	25,6	0,004	99,0	0,000	100,0
950	0,009	98,0	0,543	28,7	0,005	98,9	0,002	99,6
1000	0,008	98,1	0,503	31,4	0,004	99,0	0,002	99,6

Важнейшая функция фенольных соединений — защита растений от разнообразных вредных воздействий извне. Значительное количество растительных фенольных соединений, принадлежащих практически ко всем основным их классам, обладает антибиотической или фитонцидной активностью. Находясь постоянно в тканях и выделяясь в окружающую среду в ходе обменных процессов или при повреждениях, эти соединения являются важным фактором устойчивости и выживания растений (Стом, 1970). Участие в регуляции роста — одна из важнейших функций растительных фенольных соединений. Фенольные соединения по их действию на ростовые процессы могут быть разделены на три группы: неактивные, стимуляторы и ингибиторы (Райе, 1978; Струбицкий, 1986).

В результате спектрального анализа, выделенная группа фенольных соединений относится к группе флавонов, так как им соответствует длины волн 320-350 нм.

### **8.3.3. Исследование состава метаболитов цианобактерий методами ТСХ и ВЭТСХ**

В качестве предварительного анализа состава культуральной жидкости провели исследования методом ТСХ. Проанализировали 18 элюирующих систем, из которых 8 показали разделение веществ: гексан, этилацетат, этанол:вода (1:9; 9:1; 1:1), хлороформ, хлороформ+уксусная кислота, этанол+гексан (табл. 48).

Элюирующая система - этилацетат показала слабое разделение веществ. Из сообществ №21 и №15 были выделены по одной группе веществ, имеющие показатели  $R_f=0,02$ ;  $R_f=0,03$ . Элюирующей системой - хлороформ из сообществ №21 и №15 выделены предположительно 2 схожие группы веществ, так как имеют одинаковый показатель  $R_f=0,02$ , из 15-го выделена еще одна группа веществ, имеющая показатель  $R_f=0,15$ . В системе с гексаном обнаружено разделение на две хроматографические зоны с  $R_f=0,50$  и  $R_f=0,70$  для цианобактериального сообщества №21, и на три зоны с  $R_f=0,80$ ,  $R_f=0,65$ ,  $R_f=0,30$  для

Таблица 48 - Идентификация хроматографических зон

№ п/п	Элюент	Показатель $R_f \pm 0,02$			
		Проба №1. Культуральная жидкость ЦБС №21	Проба №2. Культуральная жидкость ЦБС №15	Проба №3. Культуральная жидкость ЦБС №2	Проба №4. Культуральная жидкость <i>Anabaena constricta</i> IPPASB-2020
1	Гексан	0,50; 0,70	-	-	0,80; 0,65; 0,30
2	Этилацетат	0,02	0,03	-	-
3	Гексан : этилацетат (3 : 1)	-	-	-	-
4	Этанол : вода (1 : 9)	0,81; 0,78; 0,94	0,89	-	-
5	Этанол : вода (9 : 1)	0,79; 0,93	0,79; 0,93	0,10	0,70
6	Этанол : вода (1 : 1)	0,88	0,88	-	0,81
7	Хлороформ	0, 02	0, 02; 0,15	-	-
8	Хлороформ : уксусная кислота (5 : 2)	0,17; 0,41	0,19; 0,23; 0,61	-	-
9	Уксусная кислота	-	-	-	-
10	Бутанол : уксусная кислота : вода (4 : 1 : 5)	-	-	-	-
11	Бутанол	-	-	-	-
12	Этанол : гексан (1 : 1)	0,04; 0,06	0, 04	-	-
13	Этанол : уксусная кислота (1 : 1)	-	-	-	-
14	Бензол : метанол : уксусная кислота (45 : 8 : 4)	-	-	-	-
15	Бензол : метанол (9 : 1)	-	-	-	-
16	Бензол	-	-	-	-
17	Метанол	-	-	-	-
18	Этилацетат : метанол : вода (16 : 1 : 1)	-	-	-	-

«-» - отсутствие разделения

культуры *Anabaena constricta* IPPASB-2020. Хлороформ+уксусная кислота (5:2) является одной из наилучших систем для разделения фенольных соединений

(Сиренко, 1975), что и показал наш эксперимент. Из сообщества № 21 данная элюирующая система выделила 2 группы веществ с показателем  $R_f=0,17$  и  $R_f=0,41$ , а из сообщества № 15 - 3 группы веществ с показателями  $R_f=0,19$ ,  $R_f=0,23$ ,  $R_f=0,61$ . Из сообщества № 21 система этанол+гексан выделила две группы веществ с показателем  $R_f=0,04$  и  $R_f=0,06$ , из сообщества №15 – одну с показателем  $R_f=0,04$ .

Также исследовали системы этанол:вода разного процентного соотношения: (1:9; 9:1; 1:1), в которых обнаружено разделение. Из сообщества № 21 с помощью этанольного элюента 1:9 выделено 3 группы веществ с показателями  $R_f=0,81$ ,  $R_f=0,78$ ;  $R_f=0,94$  (рис. 71). Из сообщества № 15 выделена 1 группа веществ с показателем  $R_f=0,89$ .

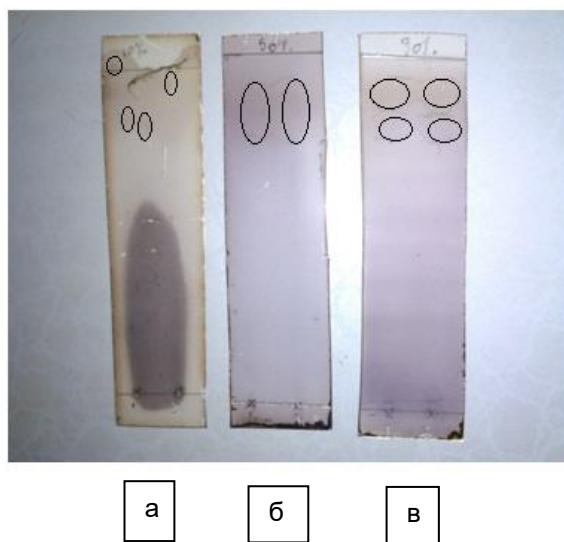


Рисунок 71 – Исследование состава культуральной жидкости ЦБС № 21, 15 методом ТСХ. а) – этанол:вода 1:9, б) – этанол:вода 1:1, в) – этанол:вода 9:1; 1 – ЦБС №21, 2 – ЦБС №15.

В элюирующей системе этанол+вода 9:1 обнаружено по одной хроматографической зоне для сообщества №2 с показателем  $R_f=0,10$  и для *Anabaena constricta* IPPASB-2020 с  $R_f=0,70$ . Для сообществ №21 и №15 выявлено по два разделения с показателями  $R_f=0,79$ ;  $R_f=0,93$ . Этанольная система 1:1 выделила по одной сходной группе веществ из ЦБС №21 и №15 с показателем

Rf=0,88, из *Anabaena constricta* IPPASB-2020 - Rf=0,81.

Методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) на пластинах Sorbfil ПТСХ-П-В-УФ в водно-спиртовых экстрактах сообществ №2 и №21 обнаружен флавоноид кверцетин, который обладает высокой биологической активностью (рис. 72, 73).

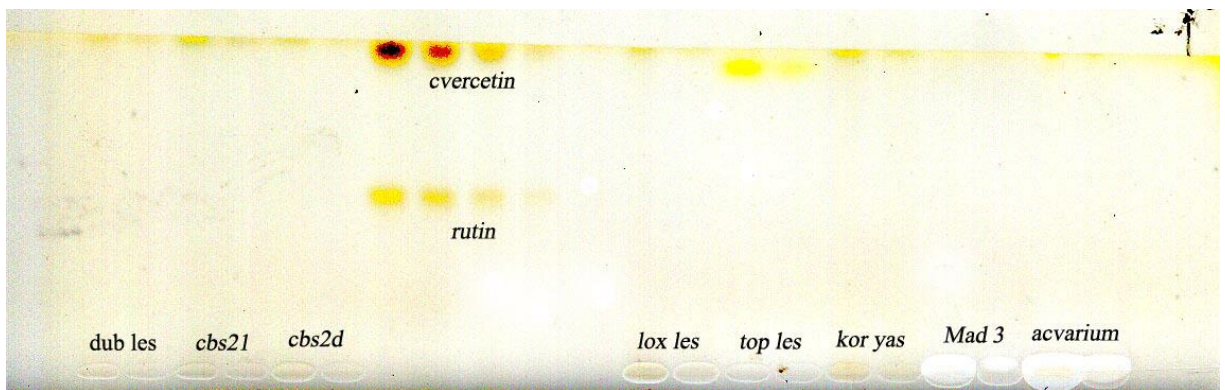
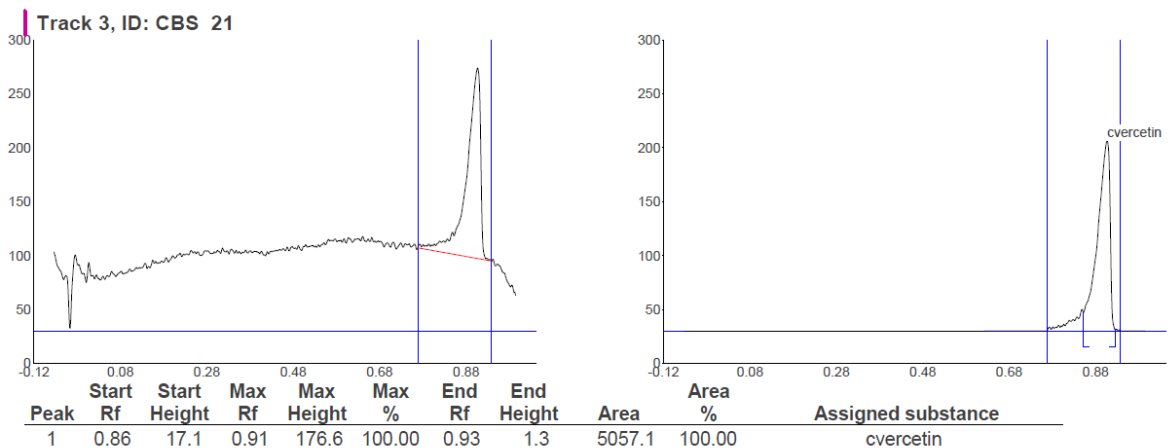
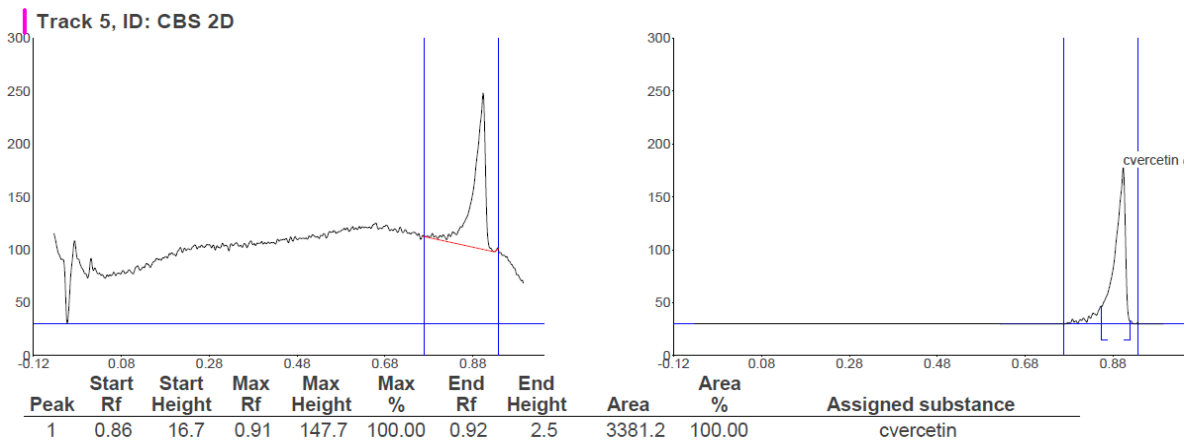


Рисунок 72 - Хроматографическая пластина с выявлением кверцетина



a)



б)

Рисунок 73 - Содержание кверцетина в циано-бактериальных сообществах №2 и №21

Таким образом, максимальное разделение выявлено с элюирующими системами этанол-вода в разных концентрациях, гексан и хлороформ+уксусная кислота, с помощью которых хорошо выделяются фенольные соединения.

### 8.3.4. Исследование состава органических кислот цианобактерий

Исследование водно-спиртовых экстрактов (50/50, 80/20, 20/80) сухой биомассы цианобактерий методом ВЭЖХ показало наличие органических кислот: аспарагиновой, муравьиной, пропионовой, фумаровой, изолимонной, молочной, уксусной, пировиноградной (таблица 49, рисунок 74).

Таблица 49 - Органические кислоты водно-спиртовых экстрактов почвенных цианобактерий

Тривиальное название	Название по ИЮПАК	Содержание, г/л							
		Сооб. №2 50/50	Сооб. №2 80/20	Сооб. №2 20/80	Сооб. №21 50/50	Сооб. №21 80/20	Сооб. №21 20/80	Anab. 80/20	Anab. 20/80
Аспарагиновая кислота	2-аминобутандиовая кислота	0,349	-	-	0,072	-	-	-	-
Муравьиная кислота	Метановая кислота	0,016	0,030	0,027	0,039	0,021	0,029	-	-
Пропионовая кислота	Пропановая кислота	0,766	-	-	-	-	-	-	-
Фумаровая кислота	Транс-бутендиовая	0,001	-	-	-	-	-	-	-

	кислота								
Изолимонная кислота	1-гидрокси-1,2,3-пропантрикарбонная кислота	-	0,496	-	-	0,507	-	0,439	-
Молочная кислота	2-гидроксипропановая кислота	-	-	0,257	-	-	0,235	-	0,207
Уксусная кислота	Этановая кислота	-	-	0,373	-	-	0,309	-	0,270
Пировиноградная кислота	2-оксопропановая кислота	-	0,089	0,090	-	0,080	0,083	-	-

Примечание: «-» - кислота не обнаружена

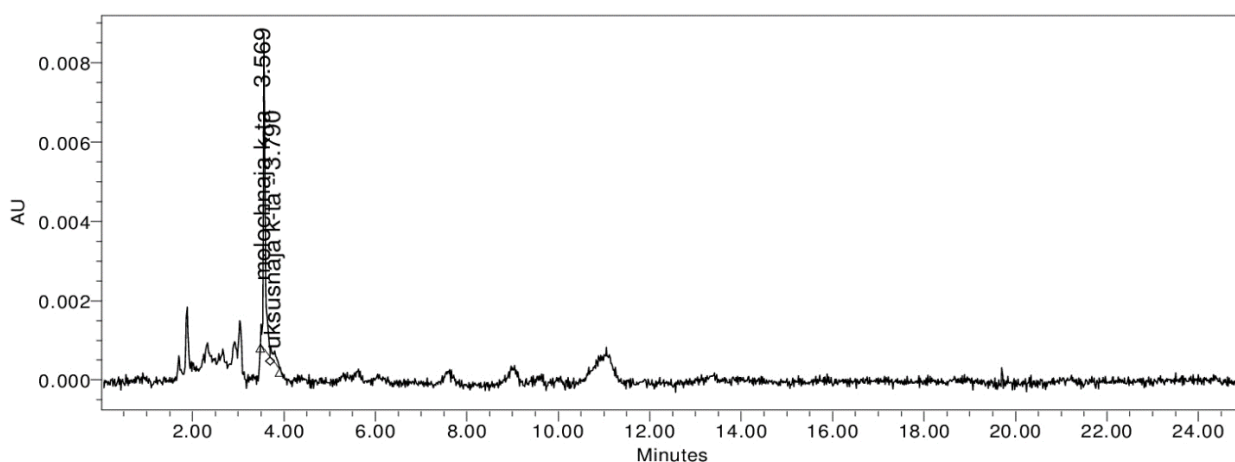


Рисунок 74 - Хроматограмма водно-спиртового экстракта (20/80) культуры *Anabaena constricta* IPPASB-2020

В экстрактах сообщества №2 обнаружено наибольшее количество пропионовой - 0,766 г/л и изолимонной кислот - 0,496 г/л. В экстракте сообщества №21 и культуры *Anabaena constricta* IPPASB-2020 в максимальном количестве обнаружена изолимонная кислота. Молочная и уксусная кислоты выявлены во всех вариантах концентраций водно-спиртовых экстрактов 20/80. Муравьиная и пропионовая кислоты обладает активными противомикробными свойствами, в том числе и фунгицидными. Фумаровая кислота проявляет антиоксидантную активность (Maiza-Benabdesselam et al., 2007). Молочная кислота является активным антибактериальным агентом (Lamb et al., 2006).

### 8.3.5. Исследование состава НОС цианобактерий

Исследование НОС культуральной жидкости, экстрагируемой гексаном, сообщества №21 проводили методом газовой хроматографии и масс-спектрометрии. В ЦБС № 21 обнаружено 1480 соединений, из которых было выбрано 5 соединений с наибольшим процентом вероятности (табл. 50).

Таблица 50 - Результаты хромато-масс-спектрометрического исследования культуральной жидкости циано-бактериального сообщества № 21

Химическое название соединения	Молекулярная формула	UPAC Name	Концентрация %
Reserpine (резерпин)	C <sub>33</sub> H <sub>40</sub> N <sub>2</sub> O <sub>9</sub>	метил (1R,15S,17R,18R,19S,20S)-6,18-dimethoxy-17-(3,4,5-trimethoxybenzoyl)oxy-1,3,11,12,14,15,16,17,18,19,20,21-dodecahydroyohimban-19-carboxylate	0,23
Peonidin-3,5-diglucoside (пеонидин 3,5-диглюкозид)	C <sub>28</sub> H <sub>33</sub> O <sub>16</sub>	(2S,3R,4S,5S,6R)-2-[7-hydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxochromenylium-5-yl]oxy-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol	0,17
Cyclo(Gln-Trp-Phe-Gly-Leu-Met (цикло (L-глутаминил-L-триптофил-L-фенилаланилглицил-L-лейцил-L-метионил)	C <sub>38</sub> H <sub>50</sub> N <sub>8</sub> O <sub>7</sub> S	3-[(2S,8S,14S,17S)-8-benzyl-5-(1H-indol-3-ylmethyl)-14-(2-methylpropyl)-17-(2-methylsulfanylethyl)-3,6,9,12,15,18-hexaoxo-1,4,7,10,13,16-hexazacyclooctadec-2-yl]propanamide	0,17
Yohimbine (йохимбин)	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	methyl (1S,15R,18S,19R,20S)-18-hydroxy-1,3,11,12,14,15,16,17,18,19,20,21-dodecahydroyohimban-19-carboxylate	0,19
Buprenorphine (бупренорфин)	C <sub>29</sub> H <sub>41</sub> NO <sub>4</sub>	(2S)-2-[-(-)-(5R,6R,7R,14S)-9α-циклопропилметил-4,5-эпокси-6,14-этанол-3-гидрокси-6-метоксиморфинан-7-ил]-3,3-диметилбутан-2-ол	0,15

В метаболитах сообщества идентифицированы: три соединения, относящиеся к алкалоидам (резерпин, бупренорфин, йохимбин), одно - (пеонидин 3,5-диглюкозид) к флавоноидам, одно – к пептидам (цикло (L-глутаминил-L-триптофил-L-фенилаланилглицил-L-лейцил-L-метионил). В наибольшем количестве обнаружен резерпин – 0,23% и йохимбин - 0,19%.



Reserpine (резерпин) - алкалоид, обладает низкой токсичностью. В основном известен как медицинский препарат с успокаивающим влиянием на центральную нервную систему. Peonidin 3,5 – diglucoside (пеонидин 3,5-диглюкозид) - продукт относится к антоцианам, который является классом природных химических веществ, входящих в состав флавоноидов. Пеонидин 3,5 – диглюкозид обладает антибиотической и фитонцидной активностью, и, следовательно, может оказывать влияние на подавление развития других микроорганизмов. Buprenorphine (бупренорфин) - производное опиоидного алкалоида тебаина. В основном известен как фармакологический препарат - анальгетик центрального действия. Cyclo (Gln-Trp-Phe-Gly-Leu-Met) (цикло (L-глутаминил-L-триптофил-L-phenylalanylglucyl-L-лейцил-L-метионил)) - пептид. Yohimbine (йохимбин) - растительный алкалоид.

В современных экологических условиях необходимы новые подходы в поиске средств защиты растений от возбудителей заболеваний. Поэтому актуален поиск средств защиты растений среди веществ природного происхождения, не вызывающих нарушения экологического равновесия. Одними из таких веществ являются растительные алкалоиды, которые могут быть очень эффективны при использовании их в качестве защитных веществ растений. В результате широких исследований у них выявлены бактериостатические (Tyski, 1988), противовирусные, гербицидные, токсичные и другие эффекты. В то же время алкалоиды могут повышать всхожесть и энергию прорастания семян, урожайность различных сельскохозяйственных культур за счет стимуляции процессов обмена веществ в растениях (Kahnt, 1991), снижают накопление нитратов, они также обладают антимуtagenным действием. Алкалоиды, как уже было отмечено, могут использоваться как защитные вещества против болезней растений.

#### **8.4. Исследование химического состава метаболитов штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883**

#### 8.4.1. Исследование состава метаболитов штаммов актиномицетов методом качественных реакций

Для установления основных групп веществ, потенциально проявляющих антагонистическую активность, в анализируемых экстрактах проведены качественные реакции на обнаружение гликозидов, сапонинов, алкалоидов, флавоноидов исследуемых бактерий.

Наличие флавоноидов установлено во всех анализируемых образцах данных бактерий, за исключением гексанового экстракта (приложение 15). Реакция на определение алкалоидов показала их присутствие в гексановых экстрактах всех штаммов, водно-спиртовых экстрактах (50:50; 80:20) и метанольном экстракте штамма *N. umidischolae* RCAM04882, в водно-спиртовых экстрактах (20:80) штаммов *N. umidischolae* RCAM04883 и *S. carpaticus* RCAM04697 (табл. 51).

Таблица 51 - Химический состав суспензий и экстрактов штаммов *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 и *S. carpaticus* RCAM04697

Реакция	Группа веществ	№ штамма	Полученный результат*					
			Водно-спирт. экстракт (20:80)	Водно-спирт. экстракт (50:50)	Водно-спирт. экстракт (80:20)	Гексановый экстракт	Метанольный экстракт	Суспензия
С раствором аммиака	флавоноиды	RCAM04882	+	+	+	-	+	+
		RCAM04883	+	+	+	-	+	+
		RCAM04697	+	+	+	-	+	+
Пенообразование	сапонины	RCAM04882	-	-	-	-	-	-
		RCAM04883	-	-	-	-	-	-
		RCAM04697	-	-	-	-	-	-
Осаждения Вагнера-Бушарда	алкалоиды	RCAM04882	-	+	+	+	+	-
		RCAM04883	+	-	-	+	-	-
		RCAM04697	+	-	-	+	-	-
Келлера-Килиани	гликозиды	RCAM04882	+	+	+	-	+	+
		RCAM04883	+	+	+	-	-	+
		RCAM04697	+	+	+	-	-	+

Примечание: \* «-» - отсутствие ожидаемого результата; «+» - наличие ожидаемого результата

Алкалоиды – это физиологически активные соединения, участвующие в

регулировании роста и обмена веществ, многие из которых являются сильнейшими ядами (Орехов, 1955). Кроме того, алкалоиды активно применяются в сфере защиты растений в качестве инсектицидов (Matolcsy et al., 2002).

Результаты качественных реакций, свидетельствуют об отсутствии сапонинов во всех исследуемых образцах. Гликозиды выявлены во всех изучаемых пробах за исключением гексанового экстракта, а также метанольного экстракта штаммов *N. umidischolae* RCAM04883 и *S. carpaticus* RCAM04697. Противовирусная активность гликозидов в отношении ДНК- и РНК-содержащих вирусов подтверждена в работе Reddy et al. (2020). Гликозиды являются средством удаления ядовитых веществ путем их связывания и превращения в инертные формы. Они представляют собой форму сохранения сахаров в качестве резерва питания (Халецкий, 1966).

В составе метаболитов трех штаммов обнаружены флавоноиды, алкалоиды и гликозиды. Наличие флавоноидов установлено во всех исследуемых образцах штаммов, за исключением гексанового экстракта.

Флавоноиды обладают фунгицидными, бактерицидными и антиоксидантными свойствами, способны изменять активность многих ферментов обмена веществ (Cowan, 1999; Middleton et al., 2000; Астафьева и др., 2015). В работе Dai W. с соавторами выявлено, что флавоноиды способны проявлять ингибирующее действие на РНК-содержащие вирусы (Dai et al., 2019).

#### **8.4.2. Исследование метаболитов штаммов актиномицетов методом ТСХ**

Изучение компонентного состава суспензии и экстрактов трех штаммов проводили методом ТСХ. ТСХ пригодна для исследования летучих и нелетучих соединений и применяется для анализа витаминов, стероидов, лекарственных веществ, синтетических органических материалов, эфирных масел, смол, пестицидов и других веществ.

В суспензии и экстрактах штамма *N. umidischolae* RCAM04882 разделение

показали 26 из 38 элюентов разной степени полярности. В суспензии штамма наилучшее разделение и качество хроматографических зон достигнуто с помощью элюирующих систем: бензол: метанол: уксусная кислота (1:1:1), уксусная кислота, пропанол: этилацетат: вода (5:1:3), пропанол: уксусная кислота: вода (3:3:2) (табл. 52).

Таблица 52 - Идентификация хроматографических зон на хроматограммах штамма *N. umidischolae* RCAM04882

№ п/п	Элюент	Суспензия Rf±0,02	Водно-спиртовой экстракт Rf±0,02			Гексановый экстракт Rf±0,02	Метанольный экстракт Rf±0,02
			20:80	50:50	80:20		
1	Ацетон	0,0705	0,0349	0,0562	0,0751	-	-
2	Бензол	-	-	-	-	-	-
3	Бензол: метанол (1:1)	0,1149	-	-	0,0602	-	0,0779
4	Бензол: метанол: уксусная кислота (1:1:1)	0,3049 0,1929 0,0976	-	-	-	-	-
5	Бутанол	-	0,7176	-	0,6706	-	-
6	Бутанол: уксусная кислота (1:1)	0,7407	-	-	-	-	0,9438
7	Бутанол: уксусная кислота: вода (1:1:1)	0,7222	-	-	-	-	-
8	Гексан	-	-	-	-	-	-
9	Гексан: этилацетат (1:1)	-	-	-	-	-	-
10	Метанол	0,1666	-	-	-	-	-
11	Уксусная кислота	0,1369 0,2328 0,3698	-	-	-	-	-
12	Хлороформ	-	-	-	-	-	-
13	Хлороформ: уксусная кислота (1:1)	0,0344	-	-	-	-	-
14	Этилацетат	-	-	-	-	-	-
15	Этанол: гексан: этилацетат (1:1:1)	-	-	-	-	-	-
16	Этанол: уксусная кислота (1:1)	0,3975	-	-	-	-	-
17	Этилацетат: метанол: вода (1:1:1)	-	0,1460	-	0,1460	-	-
18	Этилацетат: тетрахлорэтан: вода (1:1:3)	-	-	-	-	-	-
19	Этилацетат: метанол (2:1)	-	-	-	-	-	-
20	Вода: лимонный натрий: лимонная кислота (2:1:5)	0,8556	-	-	-	-	-
21	Бутанол: вода: этанол (4:2:1)	0,2816	0,2561	0,3256	0,2439	-	0,2250
22	Бутанол: метанол (1:1)	0,6538	0,7375	0,6364	0,6875	-	-
23	Этанол: вода (4:1)	0,7682	-	-	-	-	-

24	Этанол: вода (2:8)	0,8505	0,8667	-	0,8667	-	-
25	Этанол: вода (5:5)	0,9333	-	-	-	-	0,8720
26	Этанол: вода (8:2)	0,7037	-	-	-	-	-
27	Метанол: бензол: хлороформ (4:2:1)	-	-	-	-	-	-
28	Хлороформ: Этилацетат (1:2)	-	-	-	-	-	-
29	Бензол: метанол (3:1)	-	-	-	-	-	-
30	Пропанол: этилацетат: вода (5:1:3)	0,2195 0,3171 0,4390	-	-	-	-	-
31	Хлороформ: метанол (1:2)	0,1222	0,0795	-	0,0739	-	-
32	Пропанол: уксусная кислота: вода (3:3:2)	0,8555 0,9222	-	-	-	-	-
33	Ацетонитрил	0,0112	-	0,0667	-	-	-
34	Ацетонитрил: вода (2:2)	0,1149	0,0889	0,1111	0,1000	-	0,8888
35	Изопропиловый спирт	0,2280	-	-	-	0,7865	0,7752
36	Этанол: вода (7:3)	-	-	0,4444	-	-	-
37	Хлороформ: метанол (9:1)	-	-	-	-	-	-
38	Хлороформ: метанол (95:5)	0,1222	0,0795	-	-	-	-

В водно-спиртовых экстрактах разделение показали элюирующие системы – ацетон, бензол: метанол (1:1), бутанол, этилацетат: метанол: вода (1:1:1), бутанол: вода: этанол (4:2:1), бутанол: метанол (1:1), этанол: вода (2:8), хлороформ: метанол (1:1), ацетонитрил, ацетонитрил: вода (2:2), этанол: вода (7:3), хлороформ: метанол (95:5). В гексановом экстракте разделение показал изопропиловый спирт с показателем  $R_f=0,7865$ .

В метанольном экстракте разделение показали элюирующие системы: бензол: метанол (1:1), бутанол: уксусная кислота (1:1), бутанол: вода: этанол (4:2:1), этанол: вода (5:5), ацетонитрил: вода (2:2), изопропиловый спирт.

Наилучшими системами, показавшими разделение в нескольких экстрактах и суспензии, являлись ацетон, бутанол: вода: этанол (4:2:1), бутанол: метанол (1:1), ацетонитрил: вода (2:2). Элюирующая система бутанол: вода: этанол (4:2:1) показала разделение в суспензии с показателем  $R_f=0,2816$ , в водно-спиртовом экстракте 20:80 с  $R_f=0,2561$ , в водно-спиртовом экстракте 50:50 с  $R_f=0,3256$ , в водно-спиртовом экстракте 80:20 с  $R_f=0,2439$ , в метанольном экстракте с  $R_f=0,2250$ .

Схожие данные обнаружены при идентификации зон на хроматограммах

при исследовании штамма *N. umidischolae* RCAM04883 (табл. 53).

Таблица 53 - Идентификация хроматографических зон на хроматограммах штамма *N. umidischolae* RCAM04883

№ п/п	Элюент	Суспензия Rf±0,02	Водно-спиртовой экстракт Rf±0,02			Гексановый экстракт Rf±0,02	Метано- льный экстракт Rf±0,02
			20:80	50:50	80:20		
1	Ацетон	0,1904	0,1000 0,2125	0,0889	0,0344	-	-
2	Бензол	-	-	-	-	-	-
3	Бензол: метанол (1:1)	0,0930	-	-	-	-	0,0697
4	Бензол: метанол: уксусная кислота (1:1:1)	0,0778 0,2222 0,3444	-	0,8667	-	-	-
5	Бутанол	0,6250	-	0	0,6746	-	-
6	Бутанол: уксусная кислота (1:1)	0,6556	-	0,7889 0,9222	-	0,9438	-
7	Бутанол: уксусная кислота: вода (1:1:1)	0,7222	-	0,8202	-	-	-
8	Гексан	-	-	-	-	-	-
9	Гексан: этилацетат (1:1)	-	-	-	-	-	-
10	Метанол	0,1097	-	0,0769	0,0555	-	-
11	Уксусная кислота	0,1195 0,1829 0,3049 0,8902	0,7528	-	-	-	-
12	Хлороформ	-	-	-	-	-	-
13	Хлороформ: уксусная кислота (1:1)	0,0795	-	0,0787	-	-	-
14	Этилацетат	-	-	-	-	-	-
15	Этанол: гексан: этилацетат (1:1:1)	-	0,1176	-	-	-	-
16	Этанол: уксусная кислота (1:1)	0,4137 0,1724	0,88070	0,9000	-	-	-
17	Этилацетат: метанол: вода (1:1:1)	0,1176	0,0833	-	0,1279	-	-
18	Этилацетат: тетрахлорэтан: вода (1:1:3)	0,7558	0,7558	-	-	-	-
19	Этилацетат: метанол (2:1)	-	-	-	-	-	-
20	Вода: лимонный натрий: лимонная кислота (2:1:5)	0,8556	-	-	-	-	-
21	Бутанол: вода: этанол (4:2:1)	0,2954	-	0,2584	0,3048	-	0,6790
22	Бутанол: метанол (1:1)	-	0,7683	0,5115	0,5063	-	-

23	Этанол: вода (4:1)	0,3158 0,6974	-	0,7622	-	-	-
24	Этанол: вода (2:8)	0,9111	-	0	0,9213	-	-
25	Этанол: вода (5:5)	0,9111	-	0,4444	0	-	0,8977
26	Этанол: вода (8:2)	0,2857 0,6571	-	0,8778	0,7073	-	0,7857
27	Метанол: бензол: хлороформ (4:2:1)	-	-	-	-	-	-
28	Хлороформ: этилацетат (1:2)	-	-	-	-	-	-
29	Бензол: метанол (3:1)	-	-	-	-	-	-
30	Пропанол: этилацетат: вода (5:1:3)	0,3255	-	0,8764	-	-	-
31	Хлороформ: метанол (1:2)	0,1222	-	0,0667	-	-	-
32	Пропанол: уксусная кислота: вода (3:3:2)	0,7222	-	0,7865	-	-	-
33	Ацетонитрил	0,0795	0,0843	-	0,0224 0,1378	-	-
34	Ацетонитрил: вода (2:2)	0,0805	0,0714	0,1236	0,1279	-	0,8414
35	Изопропиловый спирт	0,3376	-	0,1282 0,9103	-	-	0,1093
36	Этанол: вода (7:3)	-	-	0,4444	-	-	-
37	Хлороформ: метанол (9:1)	-	-	-	-	-	-
38	Хлороформ: метанол (95:5)	0,1222	-	1,0667	-	-	-

В суспензии и экстрактах штамма *N. umidischolae* RCAM04883 разделение показали 28 из 38 элюентов разной степени полярности.

Наилучшее разделение обнаружено в суспензии штамма *N. umidischolae* RCAM04883 элюирующими системами: бензол: метанол: уксусная кислота (1:1:1); уксусная кислота; этанол: уксусная кислота (1:1); этанол: вода (4:1); этанол: вода (8:2).

Наилучшим элюентом для водно-спиртовых экстрактов штаммов оказался ацетон с показателями  $R_f=0,1000$ ,  $R_f=0,2125$ ,  $R_f=0,0889$ ,  $R_f=0,0344$ ; бутанол:метанол (1:1) с показателями  $R_f=0,7683$ ,  $R_f=0,5115$ ,  $R_f=0,5063$ ; ацетонитрил:вода (2:2) с показателями  $R_f=0,0714$ ,  $R_f=0,1236$ ,  $R_f=0,1279$ . В гексановом экстракте разделение показала система бутанол: уксусная кислота (1:1) с показателем  $R_f=0,9438$  (Grigoryan et al., 2020). В метанольном экстракте

разделение показали элюирующие системы: бензол: метанол (1:1); бутанол: вода: этанол (4:2:1); этанол: вода (5:5); этанол: вода (8:2); ацетонитрил: вода (2:2); изопропиловый спирт.

Результаты ТСХ штамма *S. carpaticus* RCAM04697 показали разделение 20 из 38 элюентов разной степени полярности (табл. 54).

Таблица 54 - Идентификация хроматографических зон на хроматограммах штамм *S. carpaticus* RCAM04697

№ п/п	Элюент	Суспензия Rf±0,02	Водно-спиртовой экстракт Rf±0,02			Гексанов ый экстракт Rf±0,02	Метанол ьный экстракт Rf±0,02
			20:80	50:50	80:20		
1	Ацетон	0,0823 0,2705	0,040	0,1111 0,8889	0,0448	-	0,8965
2	Бензол	-	-	-	-	-	-
3	Бензол:метанол (1:1)	0,0909	-	-	-	-	0,0465
4	Бензол:метанол: уксусная кислота (1:1:1)	0,3049 0,1829 0,0976	-	0,8667	-	0,9545	-
5	Бутанол	-	-	0,4881	0,6913	-	-
6	Бутанол:уксусная кислота (1:1)	0,7561	-	0,8111 0,9222	-	-	-
7	Бутанол:уксусная кислота:вода (1:1:1)	0,6700	-	0,7978	-	-	-
8	Гексан	-	-	-	-	-	-
9	Гексан: этилацетат (1:1)	-	-	-	-	-	-
10	Метанол	0,1623	-	0,0641	0,0694	-	-
11	Уксусная кислота	0,1369 0,2297 0,3698 0,5753	0,7303	-	-	-	0,9111
12	Хлороформ	-	-	-	-	-	-
13	Хлороформ: уксусная кислота (1:1)	0,0459	-	0,8587	-	-	-
14	Этилацетат	-	-	-	-	-	-
15	Этанол:гексан: этилацетат (1:1:1)	-	0,0235	-	-	-	-
16	Этанол:уксусная кислота (1:1)	0,4268 0,5542	-	0,9000	-	-	-
17	Этилацетат: метанол:вода (1:1:1)	-	0,0611	-	0,1176	-	-
18	Этилацетат: тетрахлорэтан: вода (1:1:3)	0,8876	0,0602	-	-	-	0,5487
19	Этилацетат: метанол (2:1)	-	-	-	-	-	-
20	Вода:лимонный натрий:лимонная	0,8333	-	-	-	-	-



	кислота (2:1:5)						
21	Бутанол:вода: этанол (4:2:1)	0,3239	-	0,2472	0,2891	-	0,6707
22	Бутанол:метанол (1:1)	0,7179	0,3171	0,4943	0,5375	-	-
23	Этанол:вода (4:1)	0,0205	-	0,7403	-	-	-
24	Этанол:вода (2:8)	0,8390	-	-	0,9111	0,9444	-
25	Этанол:вода (5:5)	0,9444	-	-	-	-	0,8850
26	Этанол:вода (8:2)	0,6584	0,6818 0,8523	0,9111	0,6913	-	0,7826
27	Метанол:бензол: хлороформ (4:2:1)	-	-	-	-	-	-
28	Хлороформ: этилацетат (1:2)	-	-	-	-	-	-
29	Бензол:метанол (3:1)	-	-	0,9341	-	-	-
30	Пропанол: этилацетат:вода (5:1:3)	0,4634 0,3659 0,2805	-	0,8876	-	-	-
31	Хлороформ: метанол (1:2)	0,1000	-	0,0889 0,6167	-	-	-
32	Пропанол: уксусная кислота: вода (3:3:2)	0,8333	-	0,7753	-	-	-
33	Ацетонитрил	0,0444	0,0225	-	0,0337 0,1235	-	-
34	Ацетонитрил: вода (2:2)	0,0689	0,0833	0,1011	0,1279	-	0,8426
35	Изопропиловый спирт	0,1429	-	0,1410 0,8974	0,1176	-	-
36	Этанол:вода (7:3)	-	-	-	-	-	-
37	Хлороформ:метанол (9:1)	-	-	-	-	-	-
38	Хлороформ:метанол (95:5)	-	-	-	-	-	-

ТСХ водно-спиртовых экстрактов штамма *S. carpaticus* RCAM04697 показала разделение в элюирующих системах: ацетон; бензол:метанол: уксусная кислота (1:1:1); бутанол; бутанол:уксусная кислота (1:1); бутанол:уксусная кислота:вода (1:1:1); метанол; уксусная кислота; хлороформ: уксусная кислота (1:1); этанол:гексан: этилацетат (1:1:1); этанол:уксусная кислота (1:1); этилацетат: метанол:вода (1:1:1); этилацетат: тетрахлорэтан: вода (1:1:3); бутанол:вода: этанол (4:2:1); бутанол:метанол (1:1); этанол:вода (4:1); этанол:вода (2:8); этанол:вода (8:2); бензол:метанол (3:1); пропанол: этилацетат:вода (5:1:3); хлороформ: метанол (1:2); пропанол: уксусная кислота: вода (3:3:2); ацетонитрил; ацетонитрил: вода (2:2); изопропиловый спирт

По данным хроматографии гексанового экстракта штамма *S. carpaticus*

RCAM04697 установлено разделение веществ лишь в двух элюирующих системах с показателями Rf: бензол:метанол:уксусная кислота (1:1:1) с Rf=0,9545 и этанол:вода (2:8) с Rf=0,9444. ТСХ метанольного экстракта штамма *S. carpaticus* RCAM04697 свидетельствует о том, что разделение веществ с показателем Rf=0,9111 выявлено в элюирующей системе уксусная кислота. Кроме того, разделение веществ выявлено в системах: ацетон; бензол:метанол (1:1); этилацетат: тетрахлорэтан: вода (1:1:3); бутанол:вода: этанол (4:2:1); этанол:вода (5:5); этанол:вода (8:2); ацетонитрил: вода (2:2).

Наилучшие системы для разделения хроматографических зон штамма *S. carpaticus* RCAM04697, которые показали разделение в 5 из 6 образцов - ацетон, этанол:вода (8:2), ацетонитрил:вода (2:2). Зная значения Rf и элюент, можно установить предполагаемое вещество, которое обнаружено в результате тонкослойной хроматографии (табл. 55).

Таблица 55 - Определение группы веществ по значениям Rf и элюентам (по Кирхнеру, 1981)

№ п/п	Элюент	Группы веществ	Наименование образца		
			<i>N. umidischolae</i> RCAM04882	<i>N. umidischolae</i> RCAM04883	<i>S. carpaticus</i> RCAM04697
1	Ацетон	производные пиридина: γ-пиридинкарбоновая кислота, α- пиридинкарбоновая кислота	водно-спиртовой экстракт 50:50 Rf 0,0562	-	-
2	Этанол:вода (7:3)	аминокислота: оксипролин	водно-спиртовой экстракт 50:50 Rf 0,4444	-	-
3	Этанол:вода (4:1)	антибиотик: алтиомицин	-	-	суспензия Rf 0,0205
4	Хлороформ: метанол (95:5)	антибиотик: нарбомицин	суспензия Rf 0,1222		-
		антибиотик: форомацидин С	-	водно-спиртовой экстракт 50:50 Rf 1,0667	-
		антибиотик: тилозин	водно-спиртовой экстракт 20:80 Rf 0,0795	-	-
5	Метанол	антибиотик: эритромицин	суспензия Rf 0,1666	-	-
6	Бензол: метанол (1:1)	фенол: протокатеховый альдегид	водно-спиртовой экстракт 80:20 Rf 0,0602	метанольный экстракт Rf 0,0697	-

Таким образом, учитывая полученные данные, следует отметить, что исследуемые бактерии являются богатым источником различных веществ, которые могут быть использованы в различных отраслях промышленности, включая сельское хозяйство.

В водно-спиртовом экстракте 50:50 штамма *N. umidischolae* RCAM04882 определены производные пиридина:  $\alpha$ - пиридинкарбоновая кислота,  $\gamma$ - пиридинкарбоновая кислота с показателем  $R_f$  0,0562 (Кирхнер, 1981). С помощью элюирующей системы этанол:вода (7:3) в водно-спиртовых экстрактах 50:50 двух штаммов выделена аминокислота – оксипролин с показателем  $R_f=0,4444$ .

Антибиотик алтиомицин установлен в суспензии штамма *S. carpaticus* RCAM04697 ( $R_f=0,0205$ ) с помощью системы этанол:вода (4:1). С помощью элюирующей системы хлороформ:метанол (95:5) в суспензии штаммов *N. umidischolae* RCAM04882 и *N. umidischolae* RCAM04883 выделен антибиотик нарбомицин ( $R_f=0,1222$ ), в водно-спиртовом экстракте 20:80 штаммов *N. umidischolae* RCAM04882 ( $R_f$  0,0795) идентифицирован антибиотик тилозин, в водно-спиртовом экстракте 50:50 штамма *N. umidischolae* RCAM04883 выявлен антибиотик форомацидин С ( $R_f=1,0667$ ). Антибиотик эритромицин установлен в суспензии штаммов *N. umidischolae* RCAM04882 с помощью метанола, показатель  $R_f=0,1666$ . С помощью системы бензол:метанол (1:1) в экстрактах (водно-спиртовый штамма *N. umidischolae* RCAM04882, метанольный штамма *N. umidischolae* RCAM04883) определен фенол – протокатеховый альдегид.

Таким образом, ТСХ исследуемых штаммов свидетельствует о присутствии ряда веществ, обладающих ценными биотехнологическими свойствами, большая часть из которых обладает бактериостатическими и бактерицидными свойствами. Производные пиридина ( $\gamma$ -пиридинкарбоновая кислота,  $\alpha$ - пиридинкарбоновая кислота) проявляют выраженные антивитаминные свойства. Их используют в качестве сырья для получения

ценных противотуберкулёзных препаратов, а также в производстве гербицидов (Строев, 1986). Аминокислота оксипролин содержится в коллагене и поэтому часто встречается во многих желатиновых продуктах. Используется в качестве диагностического маркера обмена костной ткани и фиброза печени (Brinckmann et al., 2005). Антибиотик алтиомицин используется как цитостатический препарат в терапии некоторых онкологических заболеваний и является первым антибиотиком, у которого обнаружена противоопухолевая активность (Овчинников, 1987). Антибиотик нарбомицин обладает бактерицидной активностью, но у некоторых микроорганизмов к нему проявляется устойчивость (Шемякин, 1961). Антибиотик форомацидин С обладает бактериостатическим и бактерицидным действиями. Он эффективен в отношении стрептококков, стафилококков и возбудителей анаэробной инфекции, преимущественно активен против грамположительных бактерий. По литературным данным микроорганизмы практически не развивают устойчивость к данному антибиотику (Прохоров, 1978). Антибиотик тилозин обладает широким спектром действия против грамположительных бактерий, включая стафилококки, стрептококки, коринебактерии. Показано, что он активен в отношении *Campylobacter coli*, некоторых спирохет и микоплазм (Хирш и др., 1999). Эритромицин является бактериостатическим антибиотиком, спектр действия которого включает грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы (Ющук и др., 2012). Протокатеховый альдегид — один из простейших представителей полифенолов, который обладает антиоксидантными свойствами (Nackman et al., 1948).

#### **8.4.3. Исследование состава органических кислот штаммов актиномицетов**

Методом ВЭЖХ исследовали компонентный состав водно-спиртовых экстрактов трех штаммов. В составе соединений штамма *N. umidischolae* РСАМ04882 методом ВЭЖХ обнаружены органические кислоты: фумаровая, яблочная, молочная, изолимонная, уксусная, лимонная.

Органические кислоты, выявленные при хроматографии штамма *N. umidischolae* RCAM04883 следующие: уксусная, изолимонная, молочная, фумаровая. Результаты изучения штамма *S. carpaticus* RCAM04697 данным методом выявили кислоты: изолимонная, уксусная, фумаровая, молочная, пировиноградная, яблочная.

При проведении ВЭЖХ водно-спиртовых экстрактов бактерий штамма *N. umidischolae* RCAM04882 из шести органических кислот, выявленных в результате анализа, наибольшее содержание составила уксусная кислота – от 0,337 г/л до 51,448 г/л, которая выявлена в трех концентрациях водно-спиртового экстракта (табл. 56).

Таблица 56 - Органические кислоты водно-спиртовых экстрактов штамма *N. umidischolae* RCAM04882

№ п/п	Тривиальное Название	Название по ИЮПАК	Содержание, г/л		
			конц. 20:80	конц. 80:20	конц. 50:50
1	Изолимонная кислота	1-гидрокси-1,2,3-пропантрикарбоновая кислота	0,460	-	-
2	Уксусная кислота	этановая кислота	51,448	14,392	0,337
3	Фумаровая кислота	транс-бутендиовая кислота	0,001	0,002	0,001
4	Яблочная кислота	2-гидроксибутандиовая кислота	-	0,029	-
5	Молочная кислота	2-гидроксипропановая кислота	-	0,168	-
6	Лимонная кислота	2-гидрокси-1,2,3-пропантрикарбоновая кислота	-	0,003	-

Уксусная кислота обладает мощными антиоксидантными и противомикробными свойствами (Goldwhite, 2003). Фумаровая кислота также выявлена в трех концентрациях водно-спиртовых экстрактов с содержанием от 0,001 г/л до 0,002 г/л. Данная кислота, являясь транс-изомером, характеризуется антиоксидантными, антисептическими и бактерицидными свойствами (Milas, 1943).

Изолимонная кислота обнаружена в водно-спиртовом экстракте (20:80) с содержанием 0,460 г/л. Изолимонная кислота относится к группе регуляторов энергетического обмена веществ, обладает антистрессовыми, антигипоксическими и антиоксидантными свойствами (Комов и др., 2004). Кроме того, ВЭЖХ водно-спиртового экстракта (80:20) показала присутствие

яблочной (0,029 г/л), молочной (0,168 г/л) и лимонной (0,003 г/л) кислот.

По результатам ВЭЖХ водно-спиртовых экстрактов штамма *N. umidischolae* RCAM04883 установлено наличие четырех органических кислот (табл. 57).

Таблица 57 - Органические кислоты водно-спиртовых экстрактов штамма *N. umidischolae* RCAM04883

№ п/п	Тривиальное название	Название по ИЮПАК	Содержание, г/л		
			конц. 20:80	конц. 80:20	конц. 50:50
1	Изолимонная кислота	1-гидрокси-1,2,3-пропантрикарбоновая кислота	0,449	-	-
2	Уксусная кислота	этановая кислота	-	-	0,337
3	Фумаровая кислота	транс-бутендиовая кислота	0,001	0,001	0,001
4	Молочная кислота	2-гидроксипропановая кислота	-	0,184	-

Наибольшим содержанием обладала изолимонная кислота (0,449 г/л), которая выявлена в водно-спиртовом экстракте (20:80). Наименьшее содержание фумаровой кислоты (0,001 г/л) зафиксировано во всех трех концентрациях водно-спиртового экстракта. Уксусная кислота с содержанием 0,337 г/л установлена в водно-спиртовом экстракте (50:50), а молочная кислота в водно-спиртовом экстракте (80:20) и составила 0,184 г/л.

По результатам высокоэффективной жидкостной хроматографии водно-спиртовых экстрактов штамма *S. carpaticus* RCAM04697 установлено наличие шести органических кислот (табл. 58).

Таблица 58 - Органические кислоты водно-спиртовых экстрактов штамма *S. carpaticus* RCAM04697

№ п/п	Тривиальное название	Название по ИЮПАК	Содержание, г/л		
			20:80	80:20	50:50
1	Изолимонная кислота	1-гидрокси-1,2,3-пропантрикарбоновая кислота	-	0,484	-
2	Уксусная кислота	этановая кислота	20,395	19,443	21,277
3	Фумаровая кислота	транс-бутендиовая кислота	0,004	0,004	0,004
4	Молочная кислота	2-гидроксипропановая кислота	0,270	-	-
5	Пировиноградная кислота	2-оксипропановая кислота	-	0,082	-
6	Яблочная кислота	2-гидроксипропановая кислота	0,063	-	0,009

В наибольшем количестве обнаружена уксусная кислота, присутствие которой зафиксировано в трех вариантах водно-спиртовых экстрактов: водно-спиртовой экстракт (20:80) – 20,395 г/л; водно-спиртовой экстракт (80:20) – 19,443 г/л; водно-спиртовой экстракт (50:50) – 21,277 г/л. Наименьшее содержание органических кислот, которые представлены фумаровой кислотой выявлено также во всех вариантах водно-спиртовых экстрактов и составило 0,004 г/л, соответственно. Изолимонная кислота с содержанием 0,484 г/л обнаружена в водно-спиртовом экстракте (80:20), в котором также установлено присутствие пировиноградной кислоты (0,082 г/л). Молочная кислота зафиксирована в водно-спиртовом экстракте (20:80), ее содержание составило 0,270 г/л. Яблочная кислота присутствовала в двух образцах: водно-спиртовой экстракт (20:80) с содержанием 0,063 г/л и водно-спиртовой экстракт (50:50) с содержанием 0,009 г/л.

ВЭЖХ водно-спиртовых экстрактов (20:80) выявила идентичные органические кислоты: у трех штаммов – фумаровая, у двух штаммов – изолимонная (рис. 74).

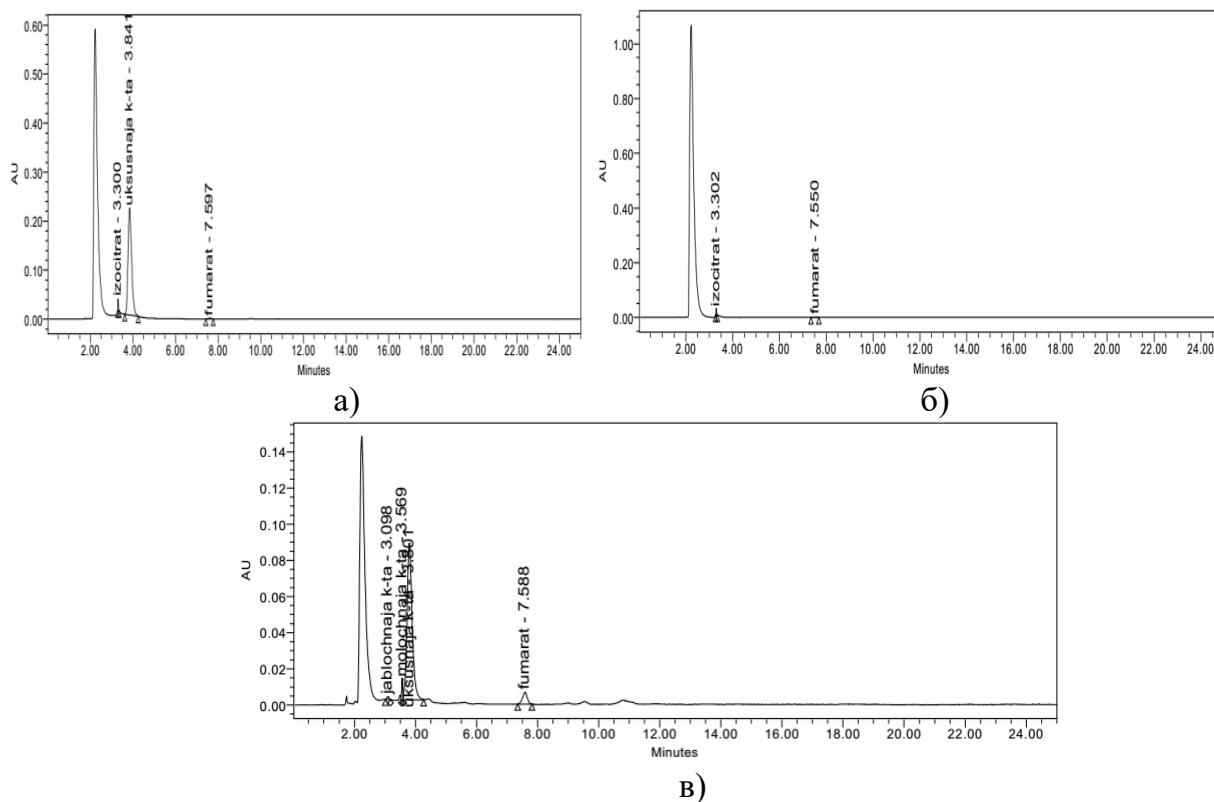


Рисунок 74 - ВЭЖХ водно-спиртовых экстрактов (20:80): а) - *N.*

*umidischolae* RCAM04882, б) - *N. umidischolae* RCAM04883, в) - *S. carpaticus* RCAM04697

Отметим, что кроме данных кислот изучение водно-спиртового экстракта (20:80) *N. umidischolae* RCAM04882 выявило наличие уксусной кислоты с самым большим содержанием (51,448 г/л). Изолимонная кислота – трикарбоновая кислота, обладающая высокой антиоксидантной активностью (Комов и др., 2004).

Исследование водно-спиртовых экстрактов (80:20) показало присутствие одинаковых органических кислот, в двух штаммах (*N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883) - молочная и в трех штаммах - фумаровая (рис. 75).

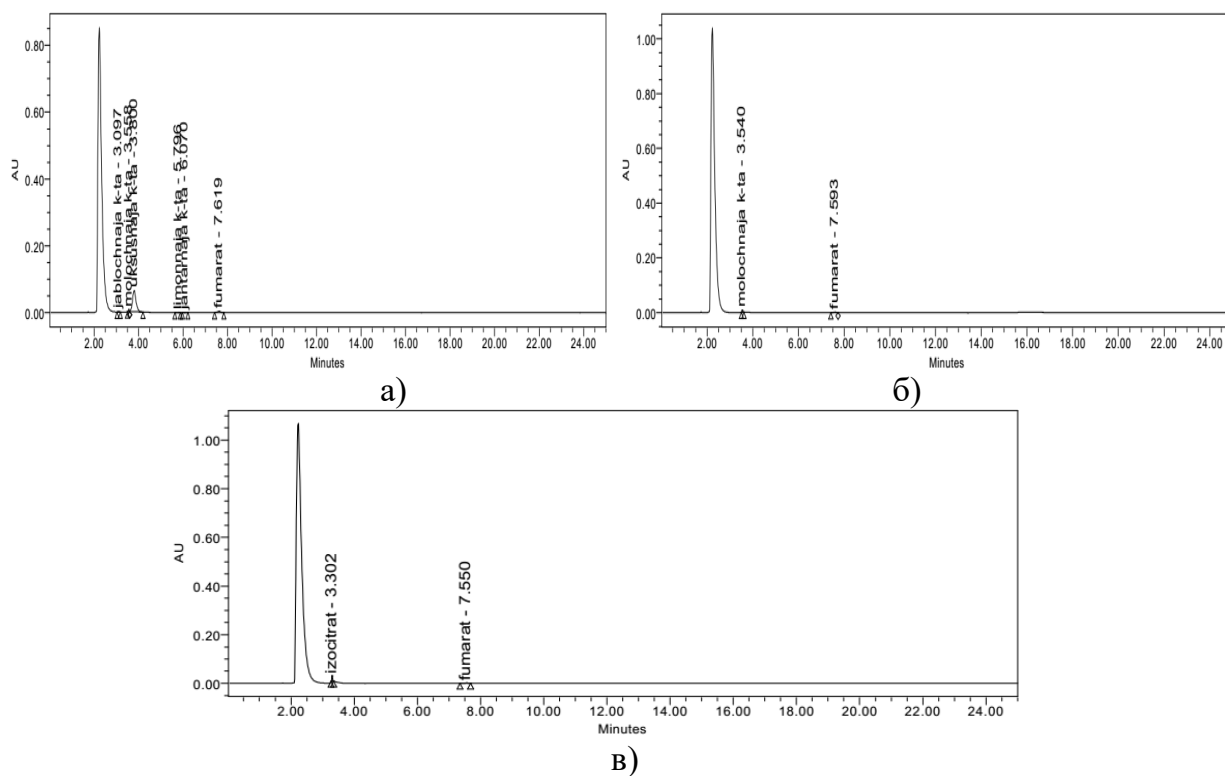


Рисунок 75 - ВЭЖХ водно-спиртовых экстрактов (80:20): а) - *N. umidischolae* RCAM04882, б) - *N. umidischolae* RCAM04883, в) - *S. carpaticus* RCAM04697

Следует отметить, что ВЭЖХ водно-спиртового экстракта штамма *N. umidischolae* RCAM04882 за исключением представленных выше кислот, выявила присутствие: уксусной (14,392 г/л), яблочной (0,029 г/л), лимонной (0,003 г/л).



Результаты ВЭЖХ водно-спиртового экстракта (50:50) свидетельствуют о получении идентичных результатов при исследовании трех штаммов актиномицетов. Установлено наличие уксусной и фумаровой кислот (рис. 76).

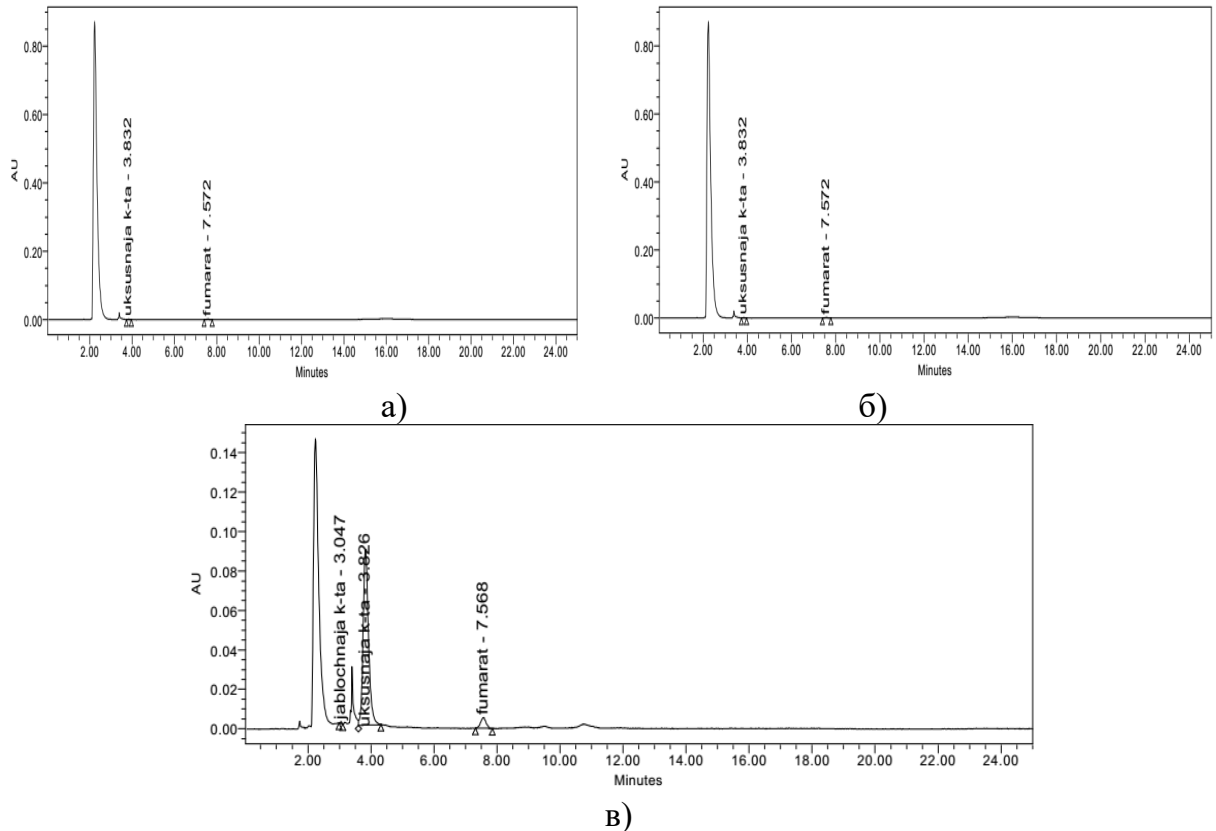


Рисунок 76 - ВЭЖХ водно-спиртовых экстрактов (50:50): а) - *N. umidischolae* RCAM04882, б) - *N. umidischolae* RCAM04883, в) - *S. carpaticus* RCAM04697

Молочная кислота, или лактат, представляет собой особый элемент, входящий в карбоновую группу и отличается выраженными антибактериальными свойствами (Lamb et al., 2006). В группу карбоновых кислот входит также лимонная, способная ингибировать окисление (Arelblat, 2014). Яблочная кислота отличается высокими бактерицидными свойствами (Нейланд, 1990). В результате исследований в наибольшем количестве у штаммов *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883, *S. carpaticus* RCAM04697 обнаружены уксусная, изолимонная и молочная кислоты. Исследования Zinn M.-К. с соавторами (2020) показали, что уксусная кислота в

концентрациях 5%, 7,5% и 10% обладает противовирусным эффектом.

#### **8.4.4. Исследование НОС метаболитов штамма *S. carpaticus* RCAM04697**

Штамм *S. carpaticus* RCAM04697 обладает наиболее выраженными противовирусными, фунгицидными и ростостимулирующими свойствами, в связи с чем, выбран для более детального исследования компонентного состава метаболитов.

ГХ/МС анализ показал наличие в составе вторичных метаболитов - спиртов, альдегидов, углеводов, эфиров, сульфатов и других групп НОС, что согласуется с результатами других исследователей и представлениями о стрептомицетах, как о продуцентах биологически активных метаболитов (Bereziuk et al., 2017).

Обнаружено, что именно в гексановом экстракте штамма *S. carpaticus* RCAM04697 содержалось максимальное количество метаболитов – 13 НОС, в метанольном – минимальное – 3 НОС.

В наибольшем количестве обнаружено соединение этил 5-(пиридин-4-ил)-1Н-пиразол-3-карбоксилат (57,8%) 0,00174 мг/г сухого вещества в метанольном экстракте. По данным Karrouchi K. с соавторами вещества, содержащие пиразол, характеризуются противовирусными, противомикробными и противоопухолевыми свойствами (Karrouchi et al., 2018). В метанольном экстракте обнаружены еще два НОС, которых нет в других экстрактах и суспензии: метилпальмитат (15,9%), который находит применение в качестве эмульгатора и стабилизатора эмульсий (Lewis et al., 1993); метиловый эфир 8-октадеценовой кислоты (26,2%), содержащийся в эфирных маслах цитрусовых (табл. 58).

Мажорными метаболитами в суспензии, в гексановом и водно-спиртовом экстрактах оказались 3-бутенилпентиловый эфир и 2-метилпентан-2,4-диол (1,2-гександиол).

Таблица 58 - Состав экзогенных метаболитов суспензии и экстрактов

штамма *S. carpaticus* RCAM04697

№ п/п	Вещество (в скобках IUPAC имя)/формула	LRI*	Гексановый экстракт		Водно- спиртовый экстракт (50:50)		Метаноль- ный экстракт		Суспензия	
			%	С	%	С	%	С	%	С
1	2-метилпентан-2,4-диол (2-methylpentane-2,4-diol)/ C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	912	20,69	1,05	18,01	0,78	-	-	23,20	1,12
2	3-гексилгидропероксид (3-hydroperoxyhexane)/ C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	950	-	-	-	-	-	-	8,91	0,43
3	3-бутенилпентиловый эфир (1-but-3- enoxypentane)/ C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O	967	19,49	0,99	15,59	0,68	-	-	32,17	1,55
4	2-этилгексанол (2- ethylhexan-1-ol)/ C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O	1056	7,43	0,38	-	-	-	-	-	-
5	5-оксогексил ацетат (5- Oxohexyl acetate)/C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	1088	-	-	-	-	-	-	7,67	0,37
6	1-додеканол (dodecan-1- ol)/ C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> O	1481	4,69	0,24	10,25	0,45	-	-	3,64	0,17
7	неидентифицированное m/z ?[M+], 97 (100)	1724	6,86	0,35	17,42	0,76	-	-	12,26	0,59
8	2,6,10,14- тетраметилпентадекан [пристан] (2,6,10,14- tetramethylpentadecane)/ C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	1728	3,57	0,18	-	-	-	-	-	-
9	неидентифицированное m/z ?[M+], 253 (100)	1787	8,80	0,45	6,19	0,27	-	-	5,17	0,25
10	октадекан (octadecane)/ C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	1800	2,27	0,12	3,52	0,15	-	-	0,84	0,04
11	2,6,10,14- тетраметилгексадекан [фитан] (2,6,10,14- tetramethylhexadecane )/ C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	1804	3,46	0,18	-	-	-	-	-	-
12	изопропилмиристит (propan-2-yl tetradecanoate)/ C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	1822	7,15	0,36	10,27	0,45	-	-	5,32	0,26
13	метилпальмитат (methyl hexadecanoate)/ C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	1929	-	-	-	-	15, 9	0,48	-	-
14	8-октадеценал ((E)- octadec-8-enal)/ C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O	2011	2,51	0,13	-	-	-	-	0,84	0,04
15	метильный эфир 8- октадеценовой кислоты (methyl octadec-8-enoate)/ C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	2078	-	-	-	-	26, 2	0,79	-	-
16	тетракозан (tetracosane)/ C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	2400	7,55	0,38	-	-	-	-	-	-
17	этил 5-(пиридин-4-ил) - 1H-пиразол-3-карбоксилат (ethyl 3-pyridin-4-yl-1H-	2409	-	-	-	-	57, 8	1,74	-	-

	pyrazole-5-carboxylate)/ C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>									
18	бензол, 1,1'-[2-метил-2 - (фенилтио)циклопропили ден]бис- ((1-methyl-2,2- diphenylcyclopropyl)sulfan ylbenzene)/ C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> S	2567	-	-	18,75	0,82	-	-	-	-
19	2-метилпентокозан (2- methylpentacosane)/ C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	2583	5,53	0,28	-	-	-	-	-	-
Всего:			100,0	5,1	100,0	4,4	100,0	4,8	100,0	3,0

Примечание: \* – линейный индекс удерживания; % - доля соединения среди всех НОС; С – концентрация соединения в экстракте, мкг/г сухого вещества

Содержание в суспензии составило 32,17 и 23,2%, в гексановом экстракте – 19,49 и 20,69% и в водно-спиртовом экстракте (50:50) – 15,59 и 18,01% соответственно. Соединение 1,2-гександиол обладает широким антимикробным спектром действия, нарушает потенциал цитоплазматической мембраны и эффективен против как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Данное вещество характеризуется фунгицидными свойствами, его используют как консервант, сурфактант, эмульгатор (Lide et al., 1994).

1-Додеканол, выявленный в гексановом (4,69%), водно-спиртовом (50:50) (10,25%) экстрактах, суспензии (3,64%) и пристан, выявленный в гексановом экстракте (3,57%) входят в состав феромонов, половых аттрактантов и сурфактантов для контроля численности насекомых-вредителей (Никольский, 1966). Комплекс феромонов на основе 1-додеканола высвобождается в виде паров со всей поверхности в течение всего сезона.

Октадекан, обнаруженный в гексановом и водно-спиртовом (50:50) экстрактах и суспензии, является бактериальным и растительным метаболитом. Изопропилмирикат в суспензии составил 5,32%, а в гексановом экстракте – 7,15%, в водно-спиртовом (50:50) – 10,27%. Изопропилмирикат - представляет собой сложный эфир жирной кислоты. Он используется в качестве пестицида против насекомых (Lide et al., 1994). 8-Октадеценал, содержащийся в гексановом экстракте и суспензии, используют в качестве стабилизатора, загустителя и регулятора вязкости.

В водно-спиртовом экстракте (50:50) штамма *S. carpaticus* RCAM04697 обнаружено 8 НОС, из которых 2 – неидентифицированных. Среди 8 соединений наибольшее процентное содержание от общего объема экстракта приходится на бензол, 1,1'-[2-метил-2-фенилтио)циклопропилиден]бис- (18,75%). Возможные биологические активности данного соединения не изучены.

2-Этилгексанол обнаружен только в гексановом экстракте и составил 7,43%. 2-Этилгексанол – соединение, относящееся к классу спиртов, которое может оказывать нервно-паралитическое действие в отношении людей (Ernstgard, 2010). Тетракозан (7,55%) идентифицирован в гексановом экстракте и является составляющим компонентом экстрактов, полученных из различных органов растений (Нишанбаев и др., 2019).

2-Метилпентокозан, выявленный в гексановом экстракте, используется в качестве растворителя и промежуточного продукта при производстве химических веществ (Гейн и др., 2014). 3-Гексилгидропероксид выявлен лишь в суспензии (8,91%) и применяется в качестве окислителя в препаративном синтезе.

Распределение по группам НОС суспензии и экстрактов штамма *S. carpaticus* RCAM04697 показало: присутствие во всех вариантах эфиров; присутствие спиртов и углеводов во всех образцах, за исключением метанольного; альдегиды представлены в гексановом экстракте и суспензии; сульфаты установлены только в водно-спиртовом экстракте (50:50) (табл. 59).

Таблица 59 - Группы веществ, выявленные при исследовании экзогенных метаболитов штамма *S. carpaticus* RCAM04697

№ п/п	Группы веществ	Относительное количество, %	Концентрация мг/г сухого вещества
1.	Суспензия		
2.	Спирты	26,84	0,00129
3.	Альдегиды	0,84	0,00004
4.	Углеводы	0,84	0,00004
5.	Эфиры	37,49	0,00180
6.	Неидентифицированные вещества	17,43	0,00084
7.	Различные функциональные группы	16,57	0,00080

8.	ВСЕГО	100,00	0,0048
9.	Водно-спиртовой экстракт (50:50)		
10.	Спирты	28,26	0,00123
11.	Углеводороды	3,52	0,00015
12.	Эфиры	25,86	0,00113
13.	Неидентифицированные вещества	23,61	0,00103
14.	Сульфаты	18,75	0,00082
15.	ВСЕГО	100,00	0,0044
16.	Гексановый экстракт		
17.	Спирты	32,81	0,00167
18.	Альдегиды	2,51	0,00013
19.	Углеводороды	22,37	0,00114
20.	Эфиры	26,65	0,00136
21.	Неидентифицированные вещества	15,66	0,00080
22.	ВСЕГО	100,00	0,0051
23.	Метанольный экстракт		
24.	Эфиры	42,18	0,00127
25.	Различные функциональные группы	57,82	0,00174
26.	ВСЕГО	100,00	0,0030

При всех вариантах экстракции в составе НОС преобладали спирты и эфиры.

Как показали исследования, выявленные вещества обладают ценными с сельскохозяйственной точки зрения свойствами: противовирусными, противомикробными и противоопухолевыми (этил 5-(пиридин-4-ил) - 1Н-пиразол-3-карбоксилат); бактерицидными, фунгицидными и антисептическими свойствами (1,2-гександиол); инсектоакарицидными (изопропилмиристат). 1-додеканол входит в состав феромонов, половых аттрактантов и сурфактантов для контроля численности насекомых-вредителей.

Фунгицидная активность штамма *S. carpaticus* RCAM04697 описана в патенте на изобретение (приложение № 11). Известно, что фунгицидная активность актинобактерий определяется синтезом первичных метаболитов – хитиназ, деструктурирующих хитин грибов и дрожжей. Выявлены *in situ* молекулярные детерминанты хитинолитической активности микроорганизмов - фермент хитиназа и ген *chi A* (хитинах группы А), принадлежащий представителям филогенетических групп *Actinobacteria* и *Firmicutes*

(Манучарова, 2012). Вторичные метаболиты штамма, по нашему мнению, могут играть роль в интенсификации фунгицидной активности.

Синтез одновременно нескольких вторичных метаболитов, обладающих различной биологической активностью определяет многофункциональность штамма *S. carpaticus* RCAM04697 и перспективу его использования в производстве новых биопрепаратов. Следует отметить, что выявленные метаболиты подтверждают полученные нами ранее сведения о том, что суспензия и экстракты (гексановый, водно-спиртовой (50:50), метанольный) штамма *S. carpaticus* RCAM04697 могут быть использованы в качестве основы для создания биологических средств защиты растений, обладающих высокой биологической эффективностью с инсектицидными, акарицидными, фунгицидными, бактерицидными свойствами.

Обнаруженные метаболиты широкого спектра действия штамма *S. carpaticus* RCAM04697, по-видимому, влияют на способность стрептомицетов к хорошей выживаемости и высокой конкурентоспособности в различных экологических нишах – почве, растениях и семенах.

Считаем необходимым продолжить исследования в области изучения свойств метаболитов актиномицетов, в частности, стрептомицетов, в связи с необходимостью расшифровки эколого-биохимических механизмов их существования, характеризующихся большим потенциалом в различных отраслях промышленности, а особенно в области экологических агротехнологий.

---

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ к ГЛАВЕ 8.**

Таким образом, исследуемые цианобактерии и образуемые ими сообщества и штаммы актиномицетов активно синтезируют соединения с высокой биологической активностью и могут быть использованы в качестве основы для создания биопрепаратов, удобрений, биологических средств защиты растений.

---

## **ГЛАВА 9. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ БИОДЕГРАДАЦИИ ЦИАНОБАКТЕРИЯМИ КОМПОНЕНТОВ ВЫСОКОМИНЕРАЛИЗОВАННЫХ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ВОД**

### **9.1. Биодegradация компонентов пищевых засоленных сточных вод при интродукции цианобактерий в экспериментальных условиях**

#### **9.1.1. Исследование физических показателей при биодegradации сточных вод цианобактериями**

В природных условиях активное развитие циано-бактериальных сообществ и матов обнаруживается в засоленных озерах, лагунах, где доминирующим звеном являются фототрофные бактерии, среди которых цианобактерии являются основными продуцентами органического вещества и формируют структуру мата. Присутствует и деструкционная ветвь, осуществляемая разными бактериями (Заварзин, 2003).

В техногенных условиях цианобактерии обнаруживаются в отходах и сточных водах различного состава, в том числе и пищевых. Развиваясь в техногенных экосистемах цианобактерии обладают защитными механизмами приспособления к экстремальным условиям окружающей среды (Андреюк и др., 1990; Герасименко, 2003; Заварзин, 2003). Внеклеточные метаболиты цианобактерий (полисахариды, витамины и т.д.) и их нитчатое строение способствуют созданию благоприятной среды для развития в симбиозе с ними различных групп микроорганизмов, вследствие чего очистка происходит эффективнее. Циано-бактериальные метаболиты включают антибактериальные (Jaki et al., 2000), противогрибковые (Kajiyama et al., 1998), противовирусные (Patterson et al., 1994), антиоксидантные (Asan-Ozusaglam et al., 2013) и др. Цианобактерии устойчивы к высокой солености, интенсивности света, изменениям pH, высокой температуре, высушиванию, ультрафиолету и т.д.

Одной из актуальных и сложных задач является поиск технологий очистки отходов с высокими концентрациями солей от органических веществ. В процессе переработки рыбы образуется большое количество засоленных сточных вод



сложного состава с высокими концентрациями твердых частиц и органических веществ; значительными концентрациями солей, масел, жиров, азотистых веществ – продуктов распада белков, биогенных элементов – азота и фосфора. Существующие физические и химические способы очистки соленых сточных вод дорогостоящи и малоэффективны, так как не обеспечивают полного удаления белка и жира из среды, что затрудняет их повторное использование. Особенно актуальна эта проблема для Астраханской области, в которой функционирует много предприятий по переработке рыбной продукции.

Для выявления эффективности биodeградации органических веществ сточных вод цианобактериями был поставлен эксперимент, который показал, что через месяц в пробах с цианобактериями стало наблюдаться заметное обесцвечивание воды. Так как процессы деструкции органических веществ в агрессивной соленой среде замедляются, то системы культивировали достаточно длительное время – 5 месяцев. Через 5 месяцев экспозиции была проведена оценка критериев: цвет, мутность, запах, его интенсивность.

Физические показатели необходимы для оценки качества воды. Под физическими свойствами воды понимают ряд признаков, определяющих внешний вид пробы воды, воспринимаемых непосредственно органами чувств (зрением, обонянием, вкусовыми ощущениями и т.п.) или путем сравнения с условно принятыми эталонами. В данной работе физические показатели включают запах, его интенсивность, цвет и мутность.

Запах природных и сточных вод зависит от температуры, содержания газов, насыщающих воду, химического состава неорганических примесей, содержания органических веществ. Запах исходной воды при температуре 20°C для хозяйственно-питьевых целей должен быть не более 2 баллов, а для водоемов рыбохозяйственного назначения – отсутствовать.

Оценку интенсивности запаха производили в начале при температуре 15-20°C, а затем при нагревании до температуры 60°C (колба была накрыта часовым стеклом).

Запах сточной воды был определен как гнилостный (Г), рыбий (Р), а интенсивность запаха составила 5 баллов (очень сильная) в начальном, а также в нагретом состоянии. Запах сточной воды с внесенными цианобактериями трех проб был неопределенным (Н), со специфическим запахом водорослей, интенсивность которого составляла 3 балла во всех случаях (табл. 60).

Цветность воды зависит от наличия в ней растворенных и взвешенных примесей (коллоидных соединений железа, гуминовых и взвешенных веществ, водорослей). В результате работы цвет сточной воды определили, как светло-коричневый, а цвет сточной воды с культурами — прозрачный с желтоватым оттенком.

Для определения мутности воды с помощью фотоэлектроколориметра в качестве сравнения использовали дистиллированную воду. В результате было установлено, что наибольшим показателем светопропускания сточной воды является показатель при длине волны 420 нм. Мутность воды при этом составляет 35,1%. Наибольшим показателем светопропускания сточной воды с внесенными культурами цианобактерий явился показатель при длине волны 600 нм. При этом мутность составляла 79,1%; 85,5% и 83,2% соответственно (табл. 60).

Таблица 60 - Сравнительная характеристика физических показателей качества воды

Вариант опыта	Запах	Интенсивность запаха, баллы	Цвет	Мутность (светопропускание), %
Сточная вода	Гнилостный, рыбий	5	Светло-коричневый	35,1
Сточная вода с цианобактериальным сообщ. № 1	Неопределенный, запах водорослей	3	Прозрачный с желтым оттенком	79,1
Сточная вода с цианобактериальным сообщ. № 2	Неопределенный, запах водорослей	3	Прозрачный с желтым оттенком	85,5
Сточная вода с культурой <i>Phormidium ramosum</i> IPPAS B-2022	Неопределенный, запах водорослей	3	Прозрачный с желтым оттенком	83,2

В результате исследования физических показателей контрольной сточной воды и воды с внесенными цианобактериями произошло уменьшение интенсивности запаха сточной воды. Прозрачность воды возросла более чем в два раза, что говорит о способности циано-бактериальных культур утилизировать взвешенные вещества.

### **9.1.2. Исследование химических показателей при биодegradации сточных вод цианобактериями**

К химическим показателям качества воды относятся: активная реакция среды (рН), пенистость, сухой остаток. Через 5 месяцев экспозиции проводили оценку данных критериев.

В контрольной сточной воде показатель рН составил 5,1, а в сточных водах с внесенными циано-бактериальными культурами - от 6,2 до 6,4. Из этого следует, что после внесения цианобактерий кислотность сточной воды повысилась на единицу и стала ближе к нейтральной.

Пенистость свидетельствует о наличии в сточной воде органических веществ. Пенистость определяли методом добавления метилового синего и встряхивания.

В сточной воде наблюдалось интенсивное пенообразование, которое было устойчиво в течение 1,5 часов, что говорит о содержании большого количества органических веществ. В сточной воде с сообществом №1 пена была устойчива в течение 12-13 минут, с сообществом №2 — 10-12 минут, с внесенной культурой *Phormidium ramosum* IPPAS В-2022 – 10-12 минут. Это говорит о среднем содержании органических веществ.

Сухой остаток определяли методом выпаривания и прокаливания. Сухой остаток характеризует содержание растворимых минеральных и частично органических примесей. Масса прокаленного остатка дает ориентировочное представление о количестве минеральных растворенных веществ в сточной воде.

Сухой остаток сточной воды составил 98,5 г/л. При внесении в сточную

воду циано-бактериального сообщества №1 сухой остаток уменьшился до 86г/л, циано-бактериального сообщества №2 – до 75,7 г/л, культуры – до 81,2 г/л (табл.7).

Таблица 61 - Сравнительная характеристика химических показателей качества воды

Вариант опыта	Активная реакция среды (рН)	Пенистость	Сухой остаток (гр/л)
Сточная вода	5,0 (кислая среда)	Больше 30 мин (большое кол-во орг. веществ)	98,5
Сточная вода с внесенным сообществом №1	6,2 (слабокислая среда)	12-13 мин (среднее кол-во орг. веществ)	86,0
Сточная вода с внесенным сообществом №2	6,4 (слабокислая среда)	10-12 мин (среднее кол-во орг. веществ)	75,7
Сточная вода с культурой <i>Phormidium ramosum</i> IPPAS B-2022	6,3 (слабокислая среда)	10-12 мин (среднее кол-во орг. веществ)	81,2

В результате исследования химических показателей тузлука, а также сточной воды с внесенными циано-бактериальными культурами, активная реакция среды (рН) изменилась на один порядок в щелочную сторону, говоря о том, что цианобактерии способны утилизировать кислоты, находящиеся в сточной воде. Устойчивость пенообразования также заметно уменьшилась в сточной воде с цианобактериями, в сравнении с контролем, что говорит о биодegradации органических веществ. Сухой остаток, характеризующий взвешенные вещества, максимально уменьшился с внесенным циано-бактериальным сообществом №2, составив 75,7 гр/л, в отличие от контрольной сточной воды (98,5 гр/л).

Минеральные компоненты могут утилизироваться путем аккумуляции в гликокаликсе цианобактерий, постепенно превращая внеклеточную слизь в плотные структуры. Максимальный эффект использования циано-бактериальных сообществ для биодegradации компонентов сточной воды после посола рыбы достигнут в варианте с сообществом №2.

В сточной воде с внесенными циано-бактериальными культурами наблюдалось улучшение качества воды: увеличение значений активной реакции среды (рН), прозрачности; уменьшение интенсивности запаха и количества сухого остатка. Кроме того, была обнаружена убыль содержащихся органических веществ, вызванная устойчивостью пенообразования, а также улучшение запаха и цвета сточной воды.

Очистке тузлуков в экстремальных условиях способствует не только деятельность спутников – гетеротрофов цианобактерий и их сообществ, аккумуляция минеральных веществ в гликокаликсе, но и выделение в окружающую среду метаболитов, обладающих высокой биологической активностью, в том числе и антиоксидантной, антибактериальной.

## **9.2. Физиологические группы микроорганизмов - спутников в составе циано-бактериальных сообществ**

### **9.2.1. Исследование гетеротрофных спутников**

В природных и техногенных условиях цианобактерии формируют циано-бактериальные сообщества, в слизистых чехлах которых развивается гетеротрофная микрофлора.

Исследование спутников проводили в водных циано-бактериальных сообществах №1 и №2, описанных выше.

На всех исследуемых средах наблюдался рост микроорганизмов, за исключением сред Гаузе и Чапека, что косвенно свидетельствует об отсутствии актиномицетов и микромицетов в составах исследуемых циано-бактериальных сообществ.

Максимальная численность выросших микроорганизмов по двум сообществам отмечена на среде РА на основе кильки и составила  $1,5 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС по первому и  $1,2 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС по второму сообществу, соответственно (табл. 62, табл. 63). Эти показатели на порядок превышают показатели численности на остальных средах, что объясняется сбалансированным составом

питательной среды, в наличии которой в больших количествах присутствуют как белки и углеводы, так и жиры и органофосфаты, в полной мере стимулирующие рост всех основных групп гетеротрофных ассоциантов циано-бактериальных сообществ.

Минимальная численность микроорганизмов зафиксирована на средах МПА и голодном агаре:  $0,3 \cdot 10^5$  и  $0,4 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС в первом сообществе и на средах МПА и МПА/10:  $0,4 \cdot 10^5$  и  $0,3 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС во втором сообществе соответственно. Вероятно, большое количество пептонного белка в отсутствие других питательных компонентов не дает проявиться оптимальному росту исследуемых микроорганизмов при данном составе среды.

Таблица 62 - Количественный состав микрофлоры сообщества №1

Показатели	Количество микроорганизмов, КОЕ/г ЦБС				
	МПА	МПА/10	МПА/100	Голодный агар	РА на основе кильки
Общая числен.	$0,3 \cdot 10^5$	$0,6 \cdot 10^5$	$0,8 \cdot 10^5$	$0,4 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^5$
Аэробы	13	49	57	51	100
По отношению к O <sub>2</sub> , %					
Факультативные анаэробы	87	51	43	49	—
По тинкториальным признакам, %					
Г +	100	58	43	100	63
Г -	0	42	57	0	37

Примечание: Г+ - грамположительные, Г- - грамотрицательные.

Таблица 63 - Количественный состав микрофлоры сообщества №2

Показатели	Количество микроорганизмов, КОЕ/г ЦБС				
	МПА	МПА/10	МПА/100	Голодный агар	РА с килькой
Общая числен.	$0,4 \cdot 10^5$	$0,3 \cdot 10^5$	$0,6 \cdot 10^5$	$0,6 \cdot 10^5$	$1,2 \cdot 10^5$
По отношению к O <sub>2</sub> , %					
Аэробы	11	6	14	65	100
Факультативные анаэробы	88	94	86	35	—
По тинкториальным признакам, %					
Г +	100	100	66	35	51
Г -	0	0	34	65	49

Примечание: Г+ - грамположительные, Г- - грамотрицательные.

Микробиологический пейзаж со среды РА на основе кильки, полученный при глубинном посеве с разведений сообщества №1, представлен крупными

грамположительными неспоровыми палочками и дрожжеподобными кокками. Отмечено полное отсутствие роста анаэробных микроорганизмов. В случае сообщества №2 обнаружены грамположительные кокки, грамотрицательные неспоровые палочки и крупные грамположительные палочки со спорами на конце, отнесенные к роду *Bacillus*, которые были выделены в чистую культуру.

ОМЧ на среде МПА в сообществе №1 составило  $0,3 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС и  $0,4 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС по сообществу №2 (рис. 77). Анализируя количество аэробных и анаэробных форм, выросших на среде МПА отмечается значительное преобладание анаэробных форм в сообществах №1 и №2. Микробиологический состав выросших сапротрофов по своей морфологии однообразен, представляя собой грамположительные неспоровые палочки и грамположительные кокки, но различен по культуральным признакам.

По морфологическим и культуральным признакам выросшие олиготрофы изучаемых сообществ схожи, представляя собой скопления мелких грамположительных кокков, однако, на среде МПА/100 из сообщества №1 с колоний красного и серого цвета выделены дрожжевые кокки, которые не обнаруживались при микроскопировании олиготрофов сообщества №2, а также и на других средах, что также свидетельствует об их олиготрофии и неспособности развиваться на более концентрированных средах. В целом микробиологический состав стабилен на протяжении высева образцов на последующие разведения агара. Среди олиготрофов, аналогично сапротрофам, преобладали анаэробные формы в сообществе №2 на средах МПА/10 и МПА/100. ОМЧ на средах МПА/10, МПА/100 и голодном агаре составили  $0,6 \cdot 10^5$ ,  $0,8 \cdot 10^5$  и  $0,4 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС в сообществе №1 и  $0,3 \cdot 10^5$ ,  $0,6 \cdot 10^5$  и  $0,6 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС в сообществе №2, соответственно (рис. 77).

При этом культуральные признаки и морфологический состав микроорганизмов, выделенных из образцов сообщества №2 остается стабильным в разведениях на среде МПА. Отличия наблюдаются на среде МПА/100, где не обнаружены формы, выросшие на средах МПА и МПА/10, но присутствуют

мелкие короткие неспоровые грамтрицательные палочки, по своей морфологии отличные от ранее обнаруженных на среде МПА. Исключается тот факт, что эти микроорганизмы образуют разные по культуральным признакам колонии в зависимости от содержания углерода в среде, так как на среде МПА/10 они не выявлены. Следовательно, это олиготрофы, присутствующие в циано-бактериальном сообществе, которые способны развиваться только при малых концентрациях питательных веществ.

На голодном агаре наблюдался слабый рост олиготрофов, продолжая тенденцию к общему снижению численности микроорганизмов, способных расти при минимальном содержании в среде питательных веществ. Слабо представлен морфологический состав исследуемых сообществ, включающий грамположительные кокки. При изучении посева, проведенного с разведения суспензии сообщества №2, были изучены выросшие круглые складчатые колонии кремового цвета диаметром 2 мм с выпуклым профилем. При микроскопировании были обнаружены крупные грамтрицательные палочки.

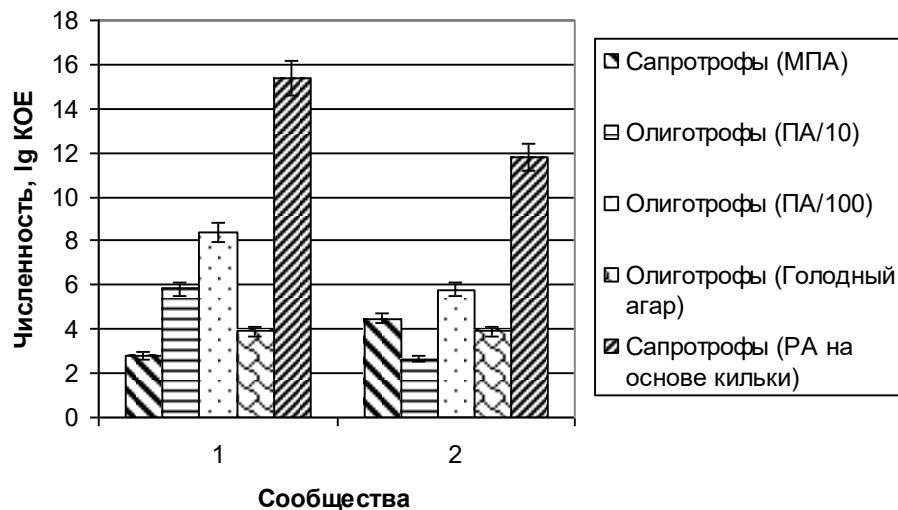


Рисунок 77 - Численность гетеротрофных микроорганизмов - спутников циано-бактериальных сообществ

При подсчете численности микроорганизмов циано-бактериальных сообществ на средах МПА/10, МПА/100 наблюдается тенденция к снижению



соотношения анаэробных микроорганизмов к аэробным, а на голодном агаре, содержащем минимальную концентрацию питательных веществ, уже преобладают аэробные формы (рис. 78).

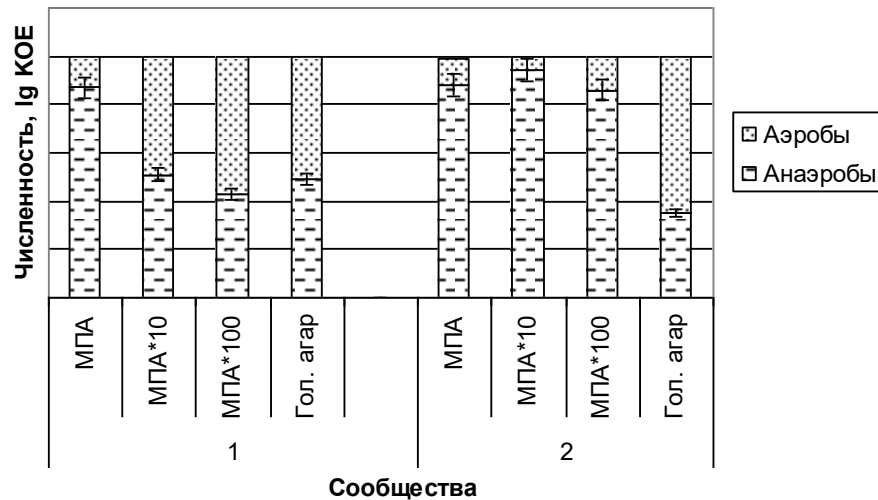


Рисунок 78 - Соотношение аэробов и анаэробов исследуемых сообществ

Исходя из полученных данных можно сделать вывод, что в сообществе №2 при развитии на среде МПА, а также разведенных средах МПА/10 и МПА/100 преобладают анаэробные формы сапротрофов и олиготрофов. В сообществе №1 наблюдается относительное равенство по численности анаэробов и аэробов. В целом среди олиготрофов в обоих исследуемых консорциумах преобладают анаэробные формы. Вероятно, это связано с тесными ассоциациями с цианобактериями, которые выделяют кислород, что создает благоприятные условия для развития факультативных анаэробов и микроаэрофилов.

Таким образом, среди выросших на твердых средах микроорганизмов в чистые культуры были выделены дрожжеподобные кокки со среды МПА/100 и грамположительные палочки со спорами на конце, предположительно отнесенными к роду *Bacillus* со среды РА на основе кильки.

В результате экспериментов, выделены гетеротрофные спутники цианобактериальных сообществ. Максимальная численность ( $1,2-1,5 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС) отмечена на среде РА с килькой, минимальная ( $0,3 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС) - на средах

МПА и МПА/10. Актиномицеты и грибы не обнаружены.

Максимальная численность микроорганизмов-спутников на обогащенной питательной среде РА с килькой объясняет факт деструкции органических веществ при внесении циано-бактериальных сообществ в тузлуки после посола рыбы, содержащие в основном белковые и липидные компоненты. Данные микроорганизмы представляют наибольший интерес для изучения, являясь гетеротрофами, активно используемыми для питания готовые органические вещества.

### 9.2.2. Исследование спутников, участвующих в круговороте азота

Для изучения микроорганизмов - спутников циано-бактериальных сообществ, участвующих в круговороте азота, были проведены посеы на твердые и жидкие питательные среды для азотфиксаторов, нитрификаторов, аммонификаторов, денитрификаторов. Полученные данные отражены в таблицах 64 и 65.

Таблица 64 - Количественный и качественный состав микроорганизмов круговорота азота в сообществе №1

Показатели	Группы микроорганизмов, КОЕ/г ЦБС			
	Азотфиксаторы	Нитрификаторы	Аммонификаторы	Денитрификаторы
	0,2*10 <sup>5</sup>	0,2*10 <sup>5</sup>	1,7*10 <sup>5</sup>	0,5*10 <sup>5</sup>
Морфологические признаки	Г+ мелкие неспоровые палочки	Г+ кокки и неспоровые палочки	Г+ кокки	Г+ споровые палочки, сцепленные вдвое

Примечание: Г+ - грамположительные, Г- - грамотрицательные

Таблица 65 - Количественный и качественный состав микроорганизмов круговорота азота в сообществе №2

Показатели	Группы микроорганизмов, КОЕ/г ЦБС			
	Азотфиксаторы	Нитрификаторы	Аммонификаторы	Денитрификаторы
	0,2*10 <sup>5</sup>	1,3*10 <sup>5</sup>	2,0*10 <sup>5</sup>	0,4*10 <sup>5</sup>
Морфологические признаки	Г+ мелкие неспоровые палочки	Г+ неспоровые и крупные споровые палочки	Г+ неспоровые и спорообразующие палочки, грамположительные кокки	Г+ спорообразующие палочки, одиночные или сцепленные вдвое

Примечание: Г+ - грамположительные, Г- - грамотрицательные

Максимальная численность микроорганизмов в исследуемых сообществах зафиксирована среди аммонификаторов и составила  $1,7-2,0 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС, минимальная численность приходится на группу азотофиксаторов –  $0,2 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС (рис. 79). Относительная погрешность при подсчете численности не превышает 5 %.

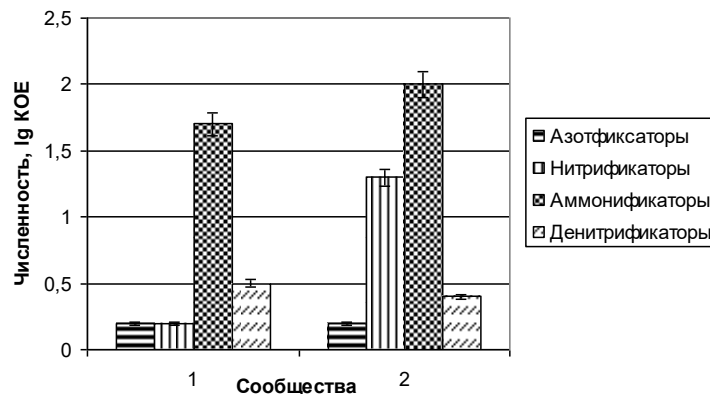


Рисунок 79 - Численность микроорганизмов круговорота азота в циано-бактериальных сообществах

Для получения накопительных культур нитрифицирующих бактерий с каждого разведения производили посев в колбы со средой Виноградского в трех модификациях: 3 %, 5 % и 8 % NaCl. Полученные данные представлены в таблице 66.

Таблица 66 - Качественная реакция на процесс нитрификации в исследуемых циано-бактериальных сообществах

Соленость, %	Разведение	Наличие $\text{HNO}_2$ (I фаза)	Наличие $\text{HNO}_3$ (II фаза)
3	$10^{-1}$	+	-
5		+	+
8		+	+
3	$10^{-2}$	-	-
5		+	+
8		-	-
3	$10^{-3}$	-	-
5		-	-
8		-	-
3	$10^{-4}$	-	-
5		-	+
8		-	-

Примечание - «+» - положительная реакция; «-» - отрицательная реакция

При подсчете ОМЧ в полученных накопительных культурах по

приведенным данным, основываясь на таблице Мак-Реди, установлено, что в сообществе №1 ОМЧ нитрифицирующих бактерий составляет  $0,2 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС, что значительно уступает ОМЧ сообщества №2, составляющего  $1,3 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС, что подтверждает полученные данные: наличие  $\text{HNO}_3$  во II-ой фазе проявляется и при максимальном четвертом разведении.

При культивировании накопительных культур отмечались происходившие визуальные изменения: наблюдалось помутнение среды, на стенках колб по краю среды отмечены точечные обрастания, в толще наблюдались взвешенные дерновинки и хлопьевидные белые образования, поверхность покрывала пленка. Данные изменения четко фиксировались в накопительных культурах, подтвердивших процесс нитрификации.

Микроскопирование образцов сообщества №1 показало полное доминирование грамположительных кокков и коротких неспоровых палочек. Грамотрицательных бактерий не обнаружено. В образцах сообщества №2 выявлены грамположительные неспоровые и крупные споровые палочки, не обнаруженные в сообществе №1. Возможно, их присутствие объясняет наличие нитрификационных процессов при дальнейших разведениях.

Для изучения процесса аммонификации белковых веществ проводили исследования в трех модификациях: с добавлением 3 %, 5 % и 8 %  $\text{NaCl}$ . ОМЧ по сообществу №1 составляет  $1,7 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС, что несколько ниже показателя сообщества №2 -  $2,0 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС.

При микроскопировании образцов с сообщества №2 обнаружены грамположительные неспоровые и спорообразующие палочки, схожие с выделенными нитрификаторами, а также грамположительные кокки. В образцах сообщества №1 выявлены грамположительные клетки овальной формы, находящиеся в капсулах. Присутствие в среде микроорганизмов группы аммонификаторов объясняет активный процесс аммонификации в сообществе №1, проявляющийся в изменении цвета индикаторных полосок, что подтверждает наличие в среде выделяемых  $\text{H}_2\text{S}$  и  $\text{NH}_3$ , а также в характерных

признаках протекающего процесса: помутнение среды, образование хлопьев, выпадение осадка.

Интенсивный процесс аммонификации можно объяснить за счет установившихся тесных ассоциаций между цианобактериями и микроорганизмами круговорота азота. Выделяя в процессе фотосинтеза кислород воздуха, цианобактерии создают благоприятную среду для развития гнилостных гетеротрофных бактерий, выявляющихся в процессе аммонификации. Чем и объясняется биodeградация белка в высокоминерализованных тузлуках после посола рыбы.

Процесс денитрификации изучали на среде Гильтая с концентрацией NaCl 3 %, 5 % и 8 %, соответственно, в четырех последовательных разведениях. Изменения, происходившие в накопительных культурах, представлены в таблице 67.

Таблица 67 - Признаки роста денитрифицирующих бактерий в исследуемых циано-бактериальных сообществах

Соленость, %	Разведение	Помутнение среды	Хлопья	Осадок	Наличие N <sub>2</sub>	Наличие CO <sub>2</sub>	Выделение газа
3	10 <sup>-1</sup>	+	-	-	-	+	+
5		+	-	-	-	+	-
8		+	-	-	-	+	+
3	10 <sup>-2</sup>	+	-	-	-	+	+
5		+	-	-	-	+	-
8		+	-	-	-	-	+
3	10 <sup>-3</sup>	+	-	-	-	+	-
5		+	-	-	-	-	-
8		+	+	-	-	+	-
3	10 <sup>-4</sup>	+	-	-	-	-	-
5		-	-	-	-	-	-
8		+	-	-	-	-	-

Примечание - «+» - наличие признака; «-» - отсутствие признака

ОМЧ денитрифицирующих бактерий в накопительной культуре сообщества №2 несколько выше аналогичного показателя по сообществу №1 и составило  $0,5 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС. ОМЧ сообщества №2 составило  $0,4 \cdot 10^5$  КОЕ/г ЦБС. Микроскопирование образцов с обеих накопительных культур денитрифицирующих бактерий показало идентичные результаты: обнаружены

грамположительные спорообразующие палочки, одиночные или сцепленные вдвое. В целом, процесс денитрификации в обоих сообществах проходил менее выражено в сравнении с остальными исследованными процессами. Возможно, это объясняется незначительным количеством микроорганизмов, способных осуществлять денитрификацию в данных условиях.

Таким образом, в исследуемых циано-бактериальных сообществах №1 и №2 обнаружены микроорганизмы всех четырех фаз круговорота азота: азотфиксирующие, аммонифицирующие, нитрифицирующие, денитрифицирующие. Численность всех групп микроорганизмов не превышала порядка  $10^5$  КОЕ/г ЦБС. Наибольшее количество представлено группой аммонифицирующих микроорганизмов, активно деградирующих белковые соединения. Поэтому при внесении циано-бактериальных сообществ в высокоминерализованную сточную воду тузлуков после посола рыбы, цианобактерии, находясь в ассоциациях с гетеротрофной микрофлорой, в экстремальных условиях высокой солености, активно участвуют в деструкции белковых и других органических соединений. Именно микрофлора спутников обеспечивает важнейшие звенья процесса очистки – регенерацию кислорода и деструкцию труднорастворимых токсических веществ (Держинская, 1993). Способность цианобактерий формировать сообщества с бактериями, повышает экологические возможности цианобактерий и их спутников, и делает сообщество устойчивым к экстремальным факторам среды.

### **9.2.3. Исследование гетеротрофных спутников и их активности на модифицированных средах**

Для выявления гетеротрофных спутников образцы циано-бактериальных сообществ из лабораторных культур отбирались для постановки накопительных культур, основанных на среде  $BG_N-11$  с добавлениями органического субстрата - кильки, питательного агара в качестве источника аминокислот и рыбьего жира и содержащих 3 %, 5 % и 8 % NaCl.

Отмечали изменения, происходившие в накопительных культурах цианобактерий на средах BG<sub>N</sub>-11 различной солености (табл. 68).

При посеве на твердые питательные среды аналогичного состава выросли схожие колонии кремового цвета, слизистой консистенции. Заращение среды микроорганизмами составило свыше 80 % от общей площади чашки Петри, что в пересчете превышает 10<sup>9</sup> КОЕ/г. В целом, микробиологический пейзаж, полученный с циано-бактериальных сообществ, достаточно однообразен.

Таблица 68 - Культуральные признаки накопительных культур циано-бактериальных сообществ на основе модифицированных сред

Соленость, %	Модификация среды BG <sub>N</sub> -11	Наблюдения
3	с добавлением ПА	тяги покрылись слабой пленкой, обильный хлопьевидный осадок, пленки на поверхности не наблюдается, сильное помутнение
5		меньшее помутнение и образование осадка, наблюдалось расслоение тяжей
8		на протяжении культивирования изменений в системе не наблюдалось
3	с добавлением рыбьего жира	слабое помутнение среды, хлопьевидные взвеси на дне
5		образовалась тонкая пленка по поверхности среды, помутнение и образование осадка не наблюдалось
8		тяги полностью выплели, по краям колбы наблюдается слизистая пленка
3	с добавлением органического субстрата - кильки	сильное помутнение, густой осадок
5		сильное расслоение тяжей, мат всплыл на поверхность, наблюдался темный осадок
8		сильное помутнение, густой осадок

При микроскопировании обнаружены мелкие грамположительные короткие палочки неправильной формы и одиночные грамположительные кокки, предположительно идентифицированные как род *Aeromicrobium*. Данный микроорганизм был выделен в чистую культуру с твердых модифицированных сред. Однообразие микробиологического пейзажа, возможно, объясняется сложившейся устойчивой экосистемой в закрытых модельных установках и способностью цианобактерий элиминировать естественные или

близкородственные к естественным микроорганизмы-спутники, включая их в состав своих слизистых чехлов и образуя стойкие и эффективные смешанные микробные консорциумы на основе тесных симбиотических ассоциаций.

Наибольший рост микроорганизмов зафиксирован на среде  $BG_N-11$  с добавлением РА на основе кильки. На среде с рыбьим жиром отмечены минимальные показатели. Вероятно, это связано с низкой способностью липолитических микроорганизмов использовать жиры в процессах метаболизма и более интенсивным развитием сапротрофов в присутствии продуктов распада белков в высокоминерализованных условиях. Наибольшая активность сообществ обнаружена в солености среды 5%.

Для выявления протеолитической способности использовали молочный агар - среду, состоящую из стерильного обезжиренного молока и стерильного водного агара. Липолитическую активность выявляли на среде Селибера.

Выделенные культуры дрожжевых клеток со среды МПА/100, р. *Bacillus* со среды РА с килькой и р. *Aeromicrobium* с модифицированной среды  $BG_N-11$  проявили низкие протеолитическую и липолитическую активности в сравнении с фрагментами исследуемых циано-бактериальных сообществ (табл. 69).

Таблица 69 - Протеолитическая и липолитическая активности выделенных микроорганизмов и циано-бактериальных сообществ

Объект	Протеолитическая активность, баллы	Липолитическая активность, баллы
<i>P. Aeromicrobium</i>	2	1
р. <i>Bacillus</i>	2	0
Дрожжевые клетки	0	0
Сообщество №1	3	2
Сообщество №2	3	2

Примечание – 0 – отсутствие активности; 1 – слабовыраженное просветление среды; 2 – просветление среды до 1 см; 3 – просветление среды свыше 1 см

Полученные результаты могут объясняться более эффективным разложением веществ микроорганизмами непосредственно в симбиотическом взаимодействии с цианобактериями и меньшей активностью микроорганизмов в отсутствие таких ассоциаций.



Протеолитическая и липолитическая активности выделенных дрожжевых микроорганизмов со среды МПА/100, р. *Bacillus* со среды РА с килькой и р. *Aeromicrobium* с модифицированной среды ВG<sub>N</sub>-11 с органическим субстратом оказались в несколько раз ниже активностей исследуемых циано-бактериальных сообществ.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ к ГЛАВЕ 9.

Очистке сточных вод в экстремальных условиях способствует не только деятельность спутников – гетеротрофов цианобактерий и их сообществ, аккумуляция минеральных веществ в гликокаликсе, но и выделение в окружающую среду метаболитов, обладающих высокой биологической активностью.

Максимальный эффект использования циано-бактериальных сообществ для биодegradации компонентов сточной воды после посола рыбы достигнут в варианте с сообществом №2 с эдификаторами *Oscillatoria deflexa* и *Phormidium sp.*, в присутствии *Oscillatoria animalis* и *Oscillatoria amphibian*.

Максимальная численность микроорганизмов-спутников на обогащенной питательной среде РА с килькой объясняет факт деструкции органических веществ при внесении циано-бактериальных сообществ в сточные воды после посола рыбы, содержащие в основном белковые и липидные компоненты. Данные микроорганизмы представляют наибольший интерес для изучения, являясь гетеротрофами, активно использующими для питания готовые органические вещества.

## ГЛАВА 10. ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ЦИАНОБАКТЕРИЙ И АКТИНОМИЦЕТОВ

### 10.1. Разработка технологии получения и применения экспериментальных образцов на основе *Anabaena constricta* IPPASB-2020

Комплексную схему изготовления экспериментальных образцов биопрепарата на основе *Anabaena constricta* IPPASB-2020 можно представить следующим образом. На первом этапе необходимо получить сырую и сухую биомассу цианобактерий. Клетки *Anabaena constricta* IPPASB-2020 культивируют в вихревом биореакторе БИОК-022 с контроллером (ЗАО «Саяны», Россия) при температуре 28°C в течение 5 суток при 60 об/мин с люминесцентной лампой (4000 кельвин) (рис. 80). Посевной материал вносят в количестве 20 % от ее общего объема. За это время происходит максимальное наращивание биомассы - 47 мг/м<sup>2</sup>/ч сухого вещества. Затем биомассу высушивают в термостате при температуре 37°C до постоянного веса и измельчают.

Разработанная технология применения заключается в том, что семена и растения перед высадкой в грунт обрабатывают суспензией цианобактерий *Anabaena constricta* IPPASB-2020 с концентрацией 5 гр. сухой биомассы цианобактерий на 1 л воды в течение 1 часа и обеспечивают пролив под корень в фазу 2-4 настоящего листа и в фазу цветения и бутонизации растений (приложение 10). Культура цианобактерий хранится на среде BG-11.

Результатом от использования цианобактерий является увеличение всхожести семян, повышение энергии роста, повышение урожайности растений, защита от фитопатогенов, оздоровление растений, обусловленное антиоксидантным эффектом цианобактерий *Anabaena constricta* IPPASB-2020 в условиях аридного климата.

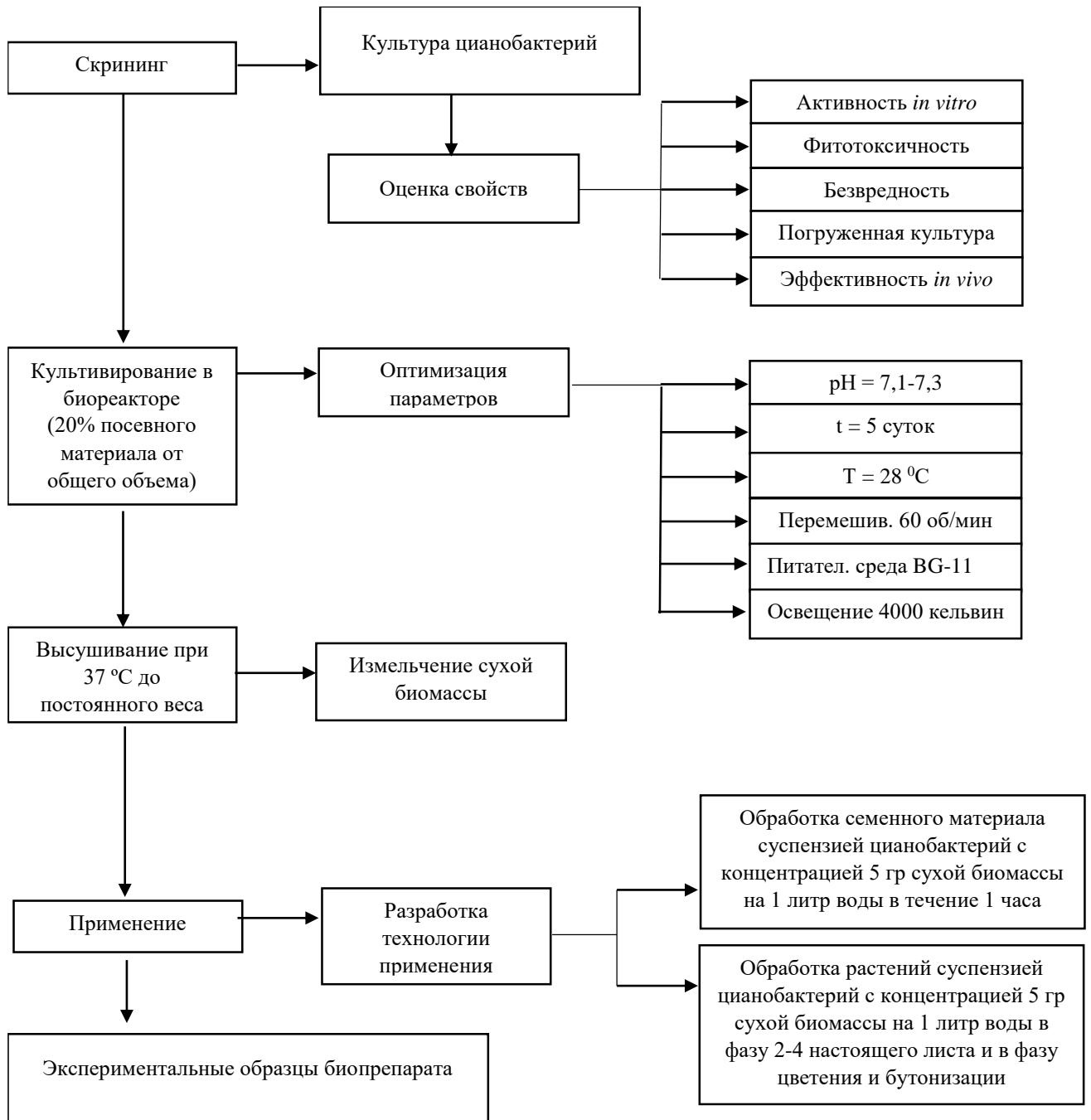


Рисунок 80 - Технологическая схема получения экспериментальных образцов биопрепарата на основе *Anabaena constricta* IPPASB-2020

**10.2. Получение экспериментальных образцов препаратов на основе штаммов *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883, *S. carpaticus* RCAM04697**

### 10.2.1. Оптимизация состава питательных сред и условий глубинного культивирования с целью получения биомассы и антимикробных метаболитов

Для оценки технологических возможностей штаммов RCAM04697, RCAM04882, RCAM04883 проводили анализ роста на картофельной среде, крахмально-казеиновой среде, среде Гаузе №2, оценивая концентрацию клеток в суспензии и оптическую плотность (Гаузе и др., 1983; Астафьева и др., 2015).

Полученные в результате спектрального анализа УФ – спектры штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 имеют максимум поглощения от 323 до 356 нм, что свидетельствует о возможном наличии полиенового антибиотика из группы пентаенов (Поляк и др., 2017). Полиеновые антибиотики отвечают за высокую фунгицидную и бактерицидную активности штаммов актиномицетов (Щетинин, 2000; Стецюк и др., 2011). В связи с этим, подбор оптимальной среды для культивирования штаммов проведен при длине волны 340 нм.

Анализ антагонистической активности штаммов RCAM04697, RCAM04882, RCAM04883 по отношению друг к другу методом штриха показал ее отсутствие.

Штаммы культивировали при температуре 28°C и непрерывном перемешивании (120 об/мин). В качестве контроля использовали соответствующие стерильные жидкие питательные среды. Титр клеток в суспензиях выявляли путем высева суспензий на аналогичные плотные питательные среды, на которых их культивировали и определением количества клеток в камере Горяева (Звягинцев, 1991; Нетрусов и др., 2005). Учет данных фиксировали через каждые 24 часа в течение 8 суток. Оказалось, что именно на третьей сутки культивирования установлено наибольшее значение оптической плотности во всех анализируемых средах.

Максимальная продуктивность штамма *S. carpaticus* RCAM04697 установлена на картофельной среде ( $8,6 \cdot 10^9$  КОЕ/мл) на третьей сутки

культивирования (рис. 81 в). Титр клеток данного штамма на среде Гаузе №2 оказался самым низким из исследуемых сред и составил  $0,094 \cdot 10^9$  КОЕ/мл (72 ч) (рис. 81 б). Количество клеток на крахмально-казеиновой среде не превышало  $0,85 \cdot 10^9$  КОЕ/мл (72 ч) (рис. 81 а).

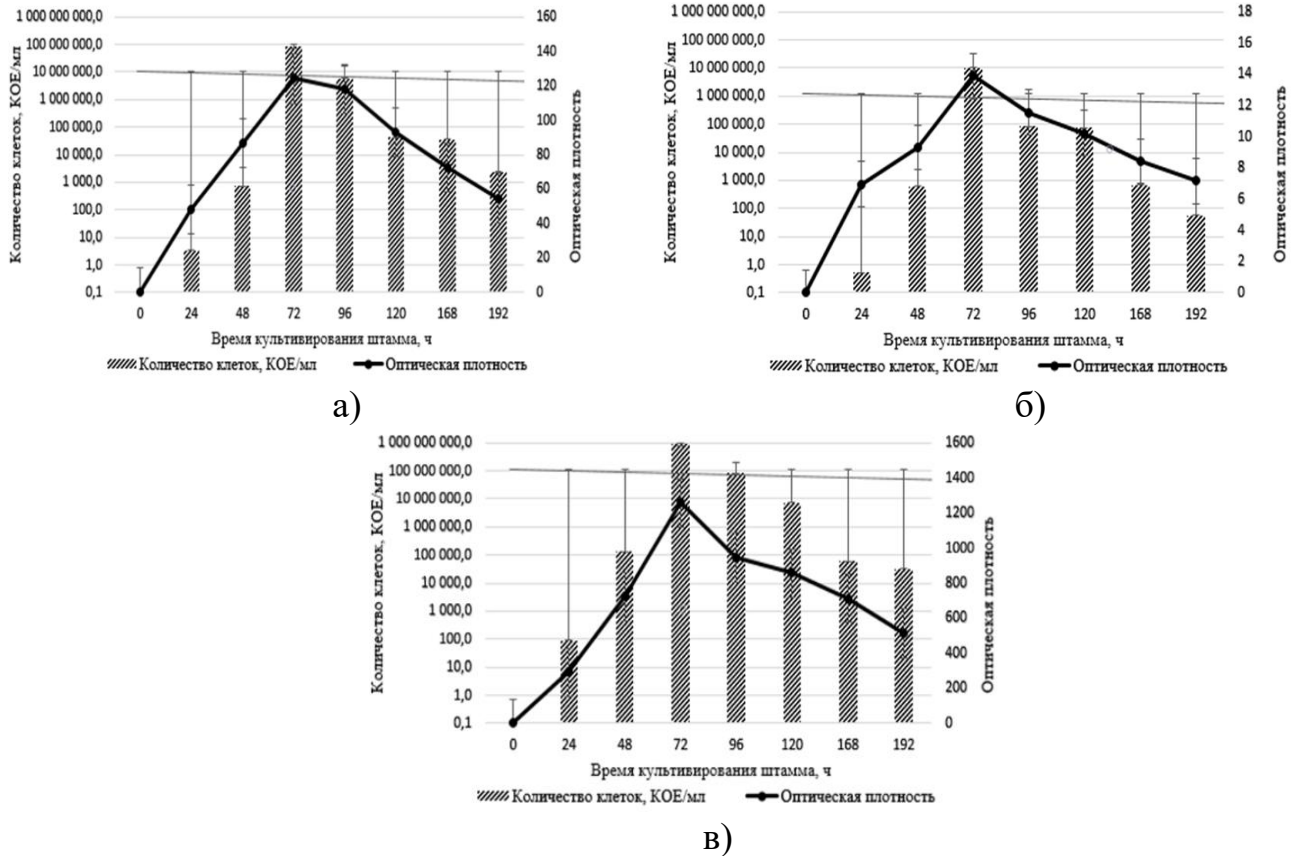


Рисунок 81 – Продуктивность штамма *S. carpaticus* RCAM04697 при культивировании на жидких питательных средах: а) - крахмально-казеиновая среда, б) - среда Гаузе №2, в) - картофельная среда

Наибольшая продуктивность штамма *N. umidischolae* RCAM04882 установлена на картофельной среде ( $4,2 \cdot 10^9$  КОЕ/мл) на третьи сутки культивирования (рис. 82 в). Концентрация клеток данного штамма на среде Гаузе №2 оказалась самой низкой из исследуемых сред и составила  $0,021 \cdot 10^9$  КОЕ/мл (72 ч) (рис. 82 б). Количество клеток на крахмально-казеиновой среде не превышало  $0,39 \cdot 10^9$  КОЕ/мл (72 ч) (рис. 82 а).

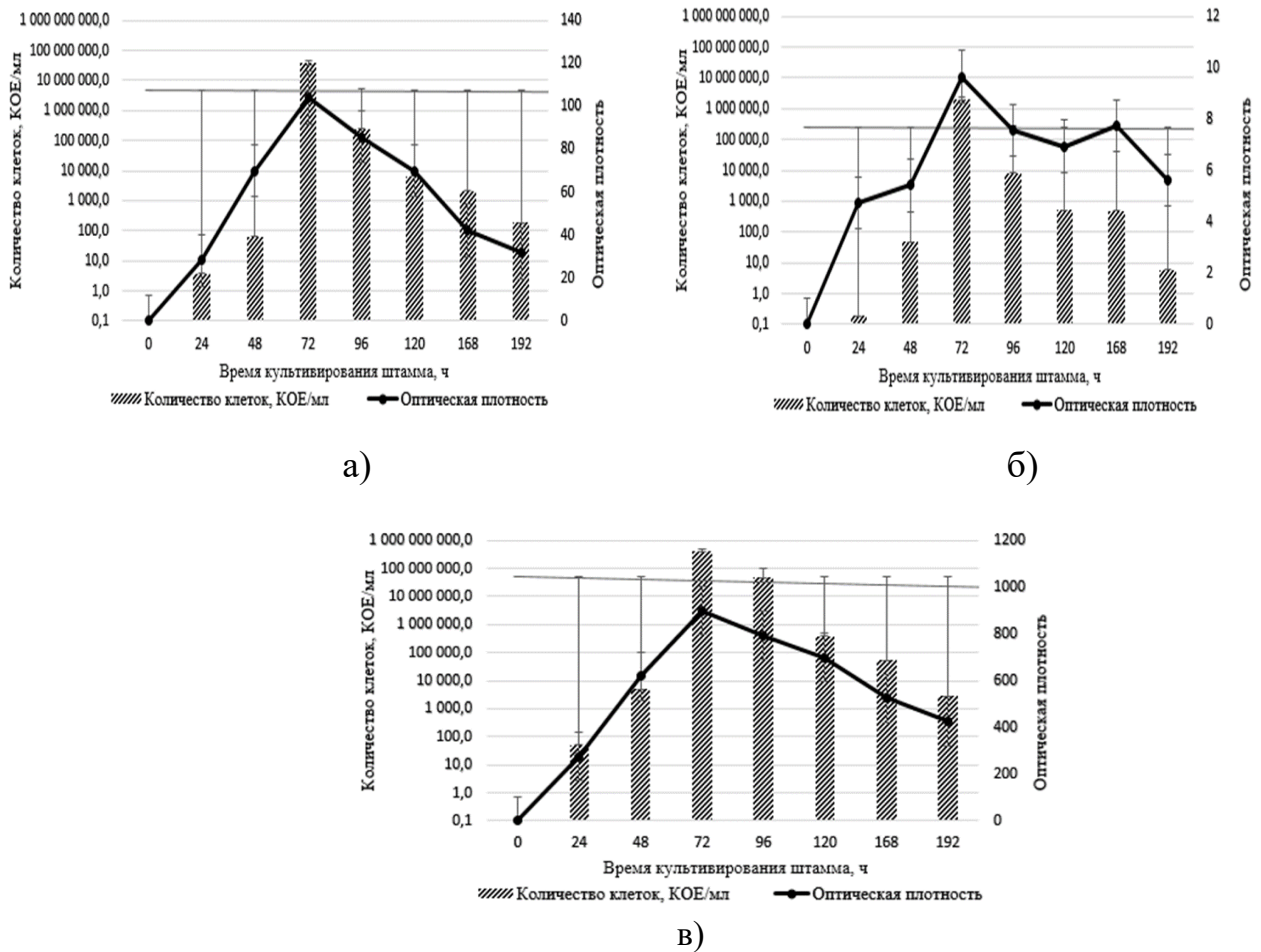


Рисунок 82 – Продуктивность штамма *N. umidischolae* RCAM04882 при культивировании на жидких питательных средах: а) - крахмально-казеиновая среда, б) - среда Гаузе №2, в) - картофельная среда

Высокая продуктивность штамма *N. umidischolae* RCAM04883 установлена на картофельной среде ( $5,8 \cdot 10^9$  КОЕ/мл) на трети сутки культивирования (рис. 83 в). Титр клеток данного штамма на среде Гаузе №2 имел наименьшее значение и составил  $0,027 \cdot 10^9$  КОЕ/мл (72 ч) (рис. 83 б). Концентрация клеток на крахмально-казеиновой среде не превышала  $0,54 \cdot 10^9$  КОЕ/мл (72 ч) (рис. 83 а).

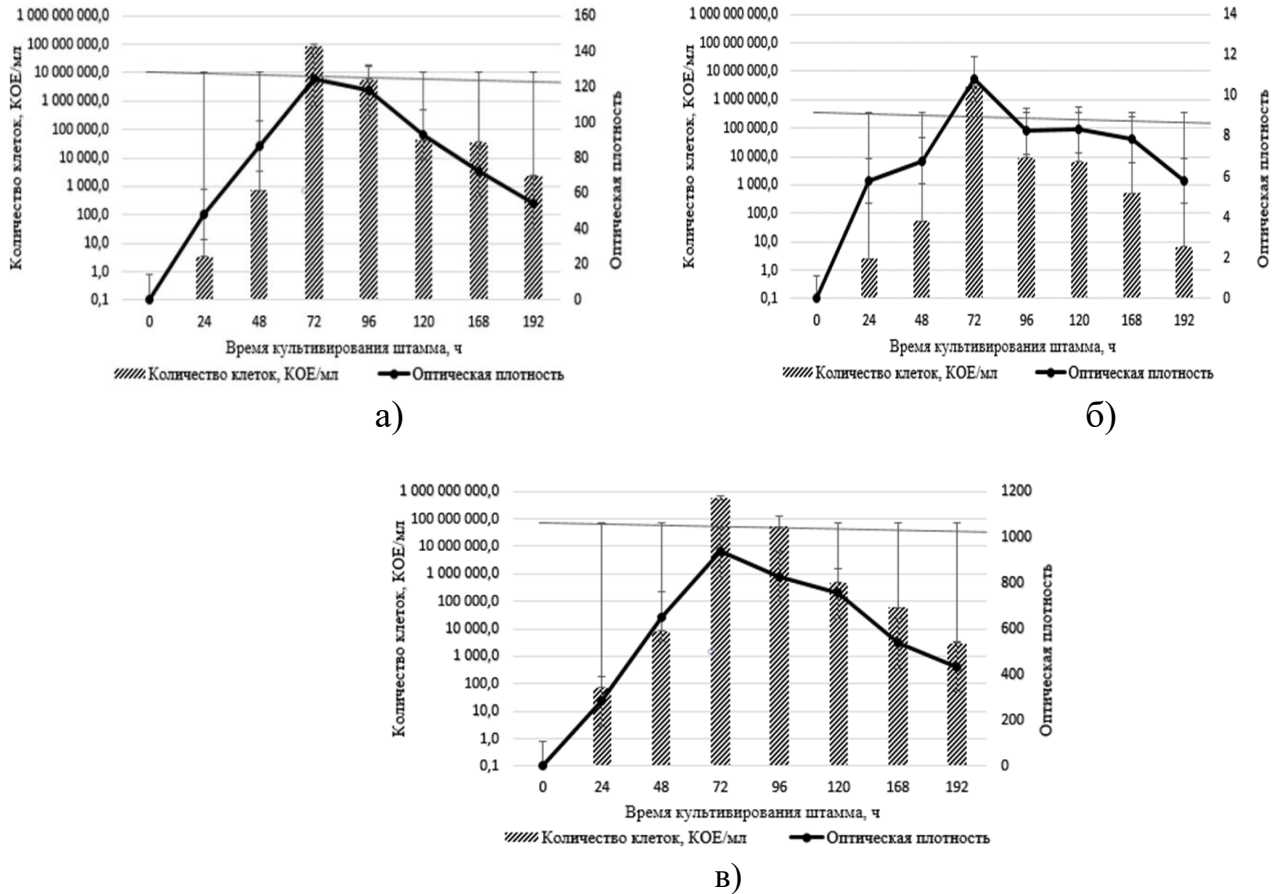


Рисунок 83 – Продуктивность штамма *N. umidischolae* RCAM04883 при культивировании на жидких питательных средах: а) - крахмально-казеиновая среда, б) - среда Гаузе №2, в) - картофельная среда

Оптимальную температуру для синтеза биомассы штаммов, равную плюс 28<sup>0</sup>С, определяли по максимальной удельной скорости роста. Процесс культивирования контролировали отбором промежуточных и заключительных проб, подсчетом концентрации клеток и определением оптической плотности. Анализ полученных данных свидетельствует о том, что картофельная среда является наиболее подходящей для культивирования штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883. На этой среде при плюс 28<sup>0</sup>С через 72 часа культивирования титр клеток составляет 10<sup>9</sup> КОЕ/мл, что соответствует концентрации клеток в коммерческих биопрепаратах.

По результатам проведенных исследований предложили 1 рецептуру питательной среды (картофельная среда) для глубинного культивирования

продуцентов в вихревом биореакторе (БИОК-022) для наработки биомассы и максимального получения метаболитов штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883. Для приготовления картофельной среды тщательно вымывали клубни картофеля, очищали от кожуры, глазков и снова вымывали. 200 г мелко нарезанного картофеля заливали 1 литром водопроводной воды и кипятили 30 минут. Отвар фильтровали через ватно-марлевые фильтры и разливали в сосуды для культивирования. Среду стерилизовали 30 минут при 1,5 атмосферах (рН = 7,0) (Нетрусов и др., 2005).

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что суспензии штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 с активными противовирусными, фунгицидными, фитостимулирующими и антиоксидантными свойствами можно получить через 72 часа культивирования на картофельной среде, при этом титр клеток составляет  $10^9$  КОЕ/мл.

#### **10.2.2. Изготовление экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883**

Комплексную схему изготовления экспериментальных образцов биопрепаратов на основе предлагаемых продуцентов можно представить следующим образом: штаммы *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 и (каждый по отдельности) выращиваются в вихревом биореакторе (БИОК-022) на картофельной среде (рН = 7,0) при температуре плюс 28°C в течение 72 часов при равномерном перемешивании и постоянной аэрации. Далее в полученные суспензии (живые клетки, споры и продукты метаболизма) с титром клеток  $10^9$  КОЕ/мл в качестве загустителя добавляется карбоксиметилцеллюлоза (Роговин, 1974) в количестве 1%. Данные растворы являются концентрированными экспериментальными образцами биопрепаратов (рис. 84).



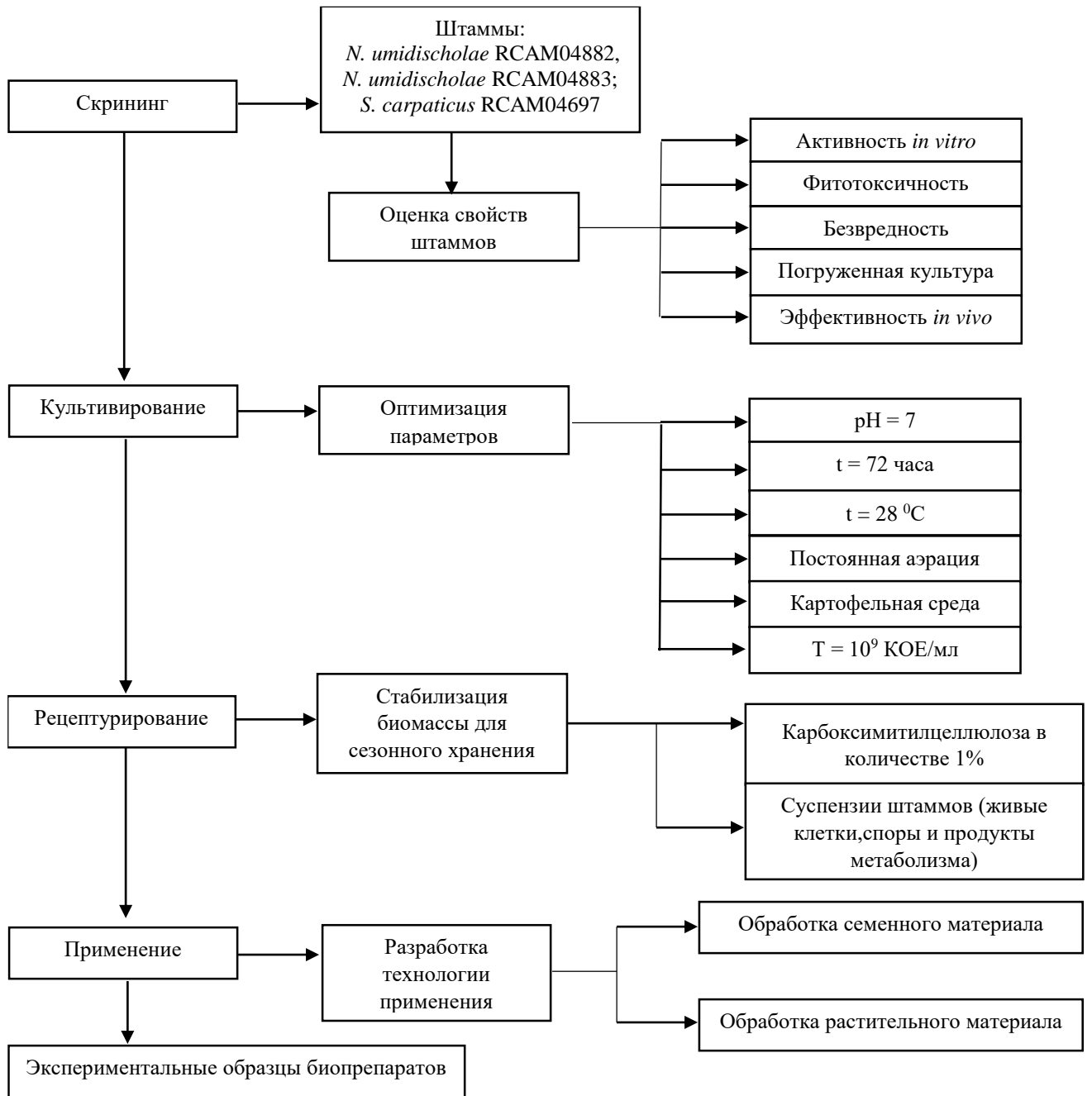


Рисунок 84 - Технологическая схема получения экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883

Схема получения экспериментальных образцов на основе штаммов позволяет получать бактериальные препараты в любой микробиологической лаборатории при минимальных производственных затратах. Среда для выращивания не содержит дефицитных субстратов, что способствует удешевлению и доступности производства.

Предложенную технологию использовали при разработке инструкции по применению экспериментальных образцов средств защиты растений на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883, обладающих фитостимулирующими, противовирусными, фунгицидными и антиоксидантными свойствами. По данной технологии изготовили экспериментальные образцы биопрепаратов для полевых испытаний (приложение 16). Получение и применение экспериментальных образцов на основе штаммов актиномицетов внедрено в производство (приложение 22, 23).

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ к ГЛАВЕ 10.**

Таким образом, разработаны технологическая схема получения и применения экспериментальных образцов биопрепарата на основе *Anabaena constricta* IPPASB-2020.

Предложены состав питательной среды и условия культивирования штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 с целью получения биомассы и синтеза антимикробных метаболитов. Разработана технологическая схема получения экспериментальных образцов биопрепаратов.

## ГЛАВА 11. ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ ШТАММОВ АКТИНОМИЦЕТОВ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ

### 11.1. Определение ингибирующего эффекта штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 и *Anabaena constricta* IPPASB-2020 в лабораторном опыте на дафниях

К микроорганизмам, применяемым в экологической биотехнологии, предъявляются определенные эколого-гигиенические требования, одним из которых является отсутствие токсичности для живых организмов (Вельков, 2001). Опыты по отсутствию фитотоксичности приведены ранее в работе. Следующим этапом явилось определение безопасности исследуемых штаммов в опыте с дафниями.

Исследование по выявлению безвредности штаммов актиномицетов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 и *Anabaena constricta* IPPASB-2020 не показало негативного влияния на выживаемость особей *D. magna* (табл. 70).

Таблица 70 - Выживаемость *D. magna* при воздействии суспензий и водных растворов штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883

Время учета, час	Выживаемость, %										
	Водные растворы суспензии								Суспензия, 10 <sup>9</sup> КОЕ/мл	Контроль №1, водопр. вода	Контроль №2, карт. среда
	0,25%	0,5%	1%	2%	3%	4%	5%	10%			
<i>S. carpaticus</i> RCAM04697											
24	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
48	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>N. umidischolae</i> RCAM04882											
24	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
48	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>N. umidischolae</i> RCAM04883											
24	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
48	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>Anabaena constricta</i> IPPASB-2020											
Время учета, час	Суспензия с водопр. водой 1:1			Суспензия с водопр. водой 1:2			Суспензия, 5 гр сух биомассы /л	Контроль №1, водопр. вода	Контроль №2, среда BG 11		
24	100			100			100	100	100		
48	100			100			100	100	100		

Следовательно, в суспензиях и водных растворах данных бактерий не содержится токсичных для дафний веществ. К завершению эксперимента в опытных вариантах и контроле (№1, №2) гибели дафний не наблюдали.

### **11.2. Изучение патогенности штамма *S. carpaticus* RCAM04697 для теплокровных животных**

Изучена патогенность (вирулентность, токсичность, токсигенность, диссеминация) для теплокровных животных штамма *S. carpaticus* К-11 (указано наименование микроорганизма по паспорту штамма; *S. carpaticus* К-11 депонирован 16 ноября 2017г. под регистрационным номером RCAM04697, и 08 июля 2022 г. - под регистрационным номером В-9993) (приложение 20).

При исследовании вирулентности и диссеминации суспензии штамма *S. carpaticus* RCAM04697 с титром  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$  клеток на животное, введенных внутрибрюшинно и  $10^7$ ,  $10^8$ ,  $10^9$  клеток на животное, введенных внутривентрально белым крысам и белым мышам, после проведенного заражения осуществляли ежедневный мониторинг за внешним видом животных и их поведением. В течение всего эксперимента поведение животных не менялось, изменений кожных покровов, слизистой не наблюдали. Активность, поведенческие и пищевые реакции оставались без изменения. В период наблюдения (15 суток) снижения веса не отмечалось и гибель отсутствовала. При изучении диссеминации через 30 суток после внутривентрального и внутрибрюшинного введения белым мышам бактериальной суспензии и проведенного посева методом отпечатков срезов внутренних органов животных (сердца, легких, печени, почек и селезенки), роста штамма *S. carpaticus* RCAM04697 не обнаружено.

Таким образом, ЛД<sub>50</sub> для крыс и мышей при внутривентральном введении превышает  $10^9$  клеток, при внутрибрюшинном введении превышает  $10^8$  клеток. Следовательно, испытанный штамм *S. carpaticus* RCAM04697 не вирулентен. Штамм *S. carpaticus* RCAM04697 не способен к диссеминации.

При изучении токсичности суспензии клеток *S. carpaticus* RCAM04697 с титром по  $10^7$ ,  $10^8$  и  $10^9$  клеток на животного, после проведенного заражения ежедневно следили за состоянием мышей. В течение всего периода наблюдения животные были активны, подвижны, кожные покровы чистые, шерсть без изменений, изменений пищевого поведения не выявлено. Реакции на действия экспериментаторов были адекватными. В течение срока наблюдения - 15 суток - гибели мышей не наблюдали. Таким образом, штамм *S. carpaticus* RCAM04697 не токсичен для лабораторных животных.

При исследовании токсигенности после введения фильтратов суспензий штамма, поведение и внешний вид животных отслеживали ежедневно на протяжении всего срока наблюдения (5 суток). Гибели животных не отмечено ни в одной из опытных групп. Поведение адекватное, потребление пищи и воды активное. Изменений кожных покровов и слизистых не выявлено. Шерстяной покров оставался гладким и блестящим. Данные, полученные в ходе исследования, свидетельствовали об отсутствии токсического влияния фильтратов, как 3-х, так и 7-и суточных изучаемого штамма *S. carpaticus* RCAM04697.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ к ГЛАВЕ 11.**

Таким образом, суспензии и водные растворы исследуемых штаммов не оказывают угнетающего влияния на выживаемость особей *D. magna*, что позволяет отнести их к классу нетоксичных веществ для водных организмов. По показателям вирулентности, диссеминации, токсичности и токсигенности штамм *S. carpaticus* RCAM04697 не является патогенным для теплокровных животных.

## **ГЛАВА 12. ПОЛЕВЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО ПРОВЕРКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ЦИАНОБАКТЕРИЙ И АКТИНОМИЦЕТОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ ОТ ВИРУСОВ, ГРИБОВ И ПОВЫШЕНИЯ УРОЖАЙНОСТИ РАСТЕНИЙ**

### **12.1. Исследование химического и микробиологического состава опытной почвы**

Почвы Астраханской области испытывают недостаток влаги, содержат высокие концентрации солей, что создает экстремальные условия для существования живых организмов. Это привело к формированию специфических микробных сообществ.

Полевые опыты проводили на территории опытного участка технопарка АГУ в селе Начало и участка ГНУ ВНИИОБ Камызякского района. В данных образцах почв, отобранных с глубины 0-10см, изучали химический и микробиологический состав.

Исследуемые почвы относятся к агроземам. Почвы относятся к кислым со значениями 5,0 и 5,5 (табл. 71). Возможно, это связано с активной обработкой почв минеральными удобрениями. Почвы незасоленные с величиной плотного остатка 0,05% в образце из опытного участка технопарка АГУ, и 0,20% в образце из ГНУ ВНИИОБ. Содержание анионов, таких как сульфатов и щёлочи одинаковы в обеих почвах и составило 0,04% и 0,026%, соответственно. Количество магния тоже идентично в обоих образцах 0,009%. Кальций в почвах опытного участка технопарка АГУ на 0,05% больше, чем в почве опытного участка ГНУ ВНИИОБ и равен 0,020%.

Содержание гумуса 1,9% и 2,88% достаточно низкое в обоих образцах. Количество азота и фосфора тоже пониженное. Но почва из участка ГНУ ВНИИОБ более плодородная, так как количество азота в ней больше, чем в почве участка технопарка на 41,0%, количество фосфора - на 3,0%, количество гумуса на 0,98%.

Таблица 71 - Химический состав исследуемых почвенных образцов

Наименование объекта	Плотный остаток, %	Анионы			Катионы		pH	Азот, %	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , %	Гумус, %
		Щёлочи, %	Хлориды, %	Сульфаты, %	Кальций, %	Магний, %				
Технопарк АГУ	0,05	0,026	0,05	0,04	0,020	0,009	5,0	82,2	120,0	1,90
ВНИИОБ	0,20	0,026	0,008	0,04	0,015	0,009	5,5	123,2	123,0	2,88

Таким образом, почва опытного участка ГНУ ВНИИОБ содержит большее количество минеральных и органических компонентов, гумуса и азота, которые являются важными показателями плодородия почв, а, следовательно, и биоразнообразия микроорганизмов.

Численность и морфотипы эколого-трофических групп микроорганизмов в образцах почв технопарка АГУ и ГНУ ВНИИОБ примерно одинакова в пределах порядков  $10^4$  и  $10^8$  (табл. 72).

Таблица 72 - Микробиологический состав исследуемых почвенных образцов

Почва \ Среда	Технопарк АГУ		ГНУ ВНИИОБ	
	ОМЧ, КОЕ/гр почвы	Морфотипы	ОМЧ, КОЕ/гр почвы	Морфотипы
ГРМ	$1,5 \cdot 10^8 \pm 0,25$	кокки Грам+ палочки Грам-	$1,1 \cdot 10^8 \pm 1,50$	палочки Грам-
ГРМ/10	$9,0 \cdot 10^5 \pm 0,20$	кокки Грам+	$1,4 \cdot 10^6 \pm 0,20$	кокки Грам+
Селибера	$1,5 \cdot 10^6 \pm 0,25$	кокки Грам+ и Грамм- палочки Грамм-	$1,4 \cdot 10^6 \pm 0,15$	кокки Грам+ и Грамм-
Гаузе	$1,6 \cdot 10^5 \pm 0,55$	палочки Грам+ кокки Грам+	$1,1 \cdot 10^7 \pm 0,35$	палочки и кокки Грамм+
Чапика	$3,5 \cdot 10^4 \pm 1,50$	гифы грибов	$3,5 \cdot 10^4 \pm 2,50$	кокки Грам+ и гифы грибов
Эшби	$3,7 \cdot 10^6 \pm 0,10$	палочки Грамм- кокки Грамм+	$2,2 \cdot 10^7 \pm 0,50$	кокки Грамм- палочки Грамм+
Голодный	$2,9 \cdot 10^6 \pm 0,25$	палочки Грамм+ кокки Грамм+	$2,8 \cdot 10^6 \pm 0,35$	кокки Грамм-

Примечание: Г+ - грамположительные, Г- - грамотрицательные

Анализ общей численности эколого-трофических групп показал, что в обеих почвах преобладают сапротрофные микроорганизмы на среде ГРМ (почва

ГНУ ВНИИОБ -  $1,1 \cdot 10^8$  КОЕ/гр и почва технопарка -  $1,5 \cdot 10^8$  КОЕ/гр), которые превышают на несколько порядков другие группы, участвующие в деструкции органических веществ в почве. Примерно в равном количестве в почвах технопарка и ГНУ ВНИИОБ находятся олиготрофы  $2,9 \cdot 10^6$  КОЕ/гр и  $2,8 \cdot 10^6$  КОЕ/гр, соответственно, выделенные на «Голодном» агаре, которые являются автохтонной микрофлорой и развиваются на этой среде исключительно за счёт веществ, содержащихся в почве. Также примерно в равном количестве в почвах находятся липолитические бактерии разлагающие жиры на среде Селибера (почва технопарка -  $1,5 \cdot 10^6$  КОЕ/гр, почва ГНУ ВНИИОБ -  $1,4 \cdot 10^6$  КОЕ/гр). Численность амилолитических микроорганизмов на среде Гаузе в почве опытного участка ГНУ ВНИИОБ выше на два порядка ( $1,1 \cdot 10^7$  КОЕ/гр), чем в почве опытного участка технопарка ( $1,6 \cdot 10^5$  КОЕ/гр). Количество гумуса в почве ГНУ ВНИИОБ было больше, чем в почве технопарка, следовательно количество актиномицетов и актиномицетоподобных форм тоже выше. Количество азотфиксирующих микроорганизмов на среде Эшби в почве опытного участка ГНУ ВНИИОБ ( $2,2 \cdot 10^7$  КОЕ/гр) также выше, чем в почве опытного участка технопарка ( $3,7 \cdot 10^6$  КОЕ/гр). Наименьшее количество сахаролитических микроорганизмов выделено на среде Чапека ( $3,5 \cdot 10^4$  КОЕ/гр почвы) в обоих образцах почв, но, возможно и четвертый порядок численности оказывает влияние на понижение рН.

На средах ГРМ и ГРМ/10 выявлены грамположительные кокки собранные в группы и тонкие одиночные грамотрицательные палочки. На «Голодном» агаре из почвы технопарка выделены одиночные грамположительные палочки и кокки, а из почвы ГНУ ВНИИОБ грамотрицательные кокки собранные в группы. На среде Селибера в обоих образцах почв выделены грамположительные и грамотрицательные кокки, в образце технопарка еще и грамотрицательные палочки. На среде Гаузе из образца почвы технопарка АГУ выделены грамположительные кокки и короткие одиночные палочки, а из образца почвы ГНУ ВНИИОБ скопления грамположительных кокков. На среде Чапека большое



количество гифов грибов, и только в образце почв ГНУ ВНИИОБ выделены грамположительные кокки.

Таким образом, при определении микробиологического состава почвы в каждом из образцов были выделены все исследуемые группы микроорганизмов. Практически везде обнаружены и палочки и кокки как грамположительные, так и грамотрицательные. Большое количество грамположительных кокковых форм.

Почва ГНУ ВНИИОБ более обогащена органическими (гумус) и минеральными веществами и микроорганизмами. Актиномицеты и актиномицеподобные формы активно развиваются в почвах, обогащенных крахмальными и углеводными органическими субстратами, а также в экстремальных аридных и агрогенных условиях Астраханской области.

## **12.2. Влияние циано-бактериальных сообществ на развитие хлопчатника (семейство Мальвовые)**

Для исследования влияния цианобактерий на развитие сельскохозяйственных культур семейства *Malvaceae*, на примере хлопчатника, был проведен полевой эксперимент на территории ГНУ ВНИИОБ с 13 мая по 22 сентября 2013 года.

Проводили сравнительный анализ влияния пяти различных фитостимулирующих объектов: почвенное циано-бактериальное сообщество №2, бактерии *Bacillus megaterium*, эпибрасинолид (Эпин), химическое удобрение - амофоска и контроль (дистиллированная вода) (приложение 19). Опыт разделили на два варианта по количеству обработок: бактериализация плюс пролив, бактериализация плюс два пролива. Опыт проводили в трех повторностях.

Семена, обработанные циано-бактериальным сообществом, показали 100% всхожесть, что на 15% выше контрольных показаний (рис. 80). При обработке семян бактериями *Bacillus megaterium* обнаружена всхожесть 95,5%. Самые низкие показатели всхожести выявлены при обработке минеральным удобрением 48%.

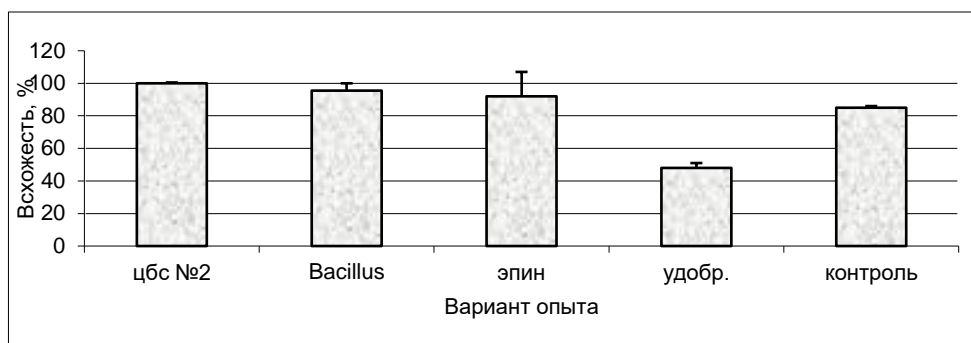


Рисунок 85 - Всхожесть семян хлопчатника

На стадии 4-6 настоящих листьев измеряли количество листьев и высоту растений (табл. 73, 74). Анализ изменения высоты растений под действием фитостимуляторов показал, что циано-бактериальное сообщество, на данном этапе развития, дает наивысшие показатели роста стебля *Gossypium hirsutum* - 13,81 см, по сравнению с контролем - 12,17 см.

Таблица 73 - Влияние стимуляторов роста на высоту растений (1 замер), (см)

Вариант опыта	Циано-бактериальное сообщество №2	Бактерии <i>Bacillus megaterium</i>	Контроль	Эпибрассинол ид	Удобрение
1 <sub>1</sub>	16,62±0,56	13,81±0,51	11,17±0,5	12,77±0,42	12,53±0,58
1 <sub>2</sub>	13,57±0,45	10,87±0,41	13,12±0,69	12,79±0,48	13,23±0,48
1 <sub>3</sub>	13,16±0,36	11,91±0,36	12,30±0,11	16,33±0,42	13,33±1,31
2 <sub>1</sub>	13,09±0,32	15,66±0,38	12,70±0,27	11,85±0,54	12,10±0,63
2 <sub>2</sub>	11,75±0,43	11,61±0,31	13,88±0,32	12,76±0,37	14,14±0,43
2 <sub>3</sub>	14,67±0,39	15,00±0,36	13,46±0,27	13,13±0,44	13,29±0,47
среднее	13,81±0,68	13,60±0,80	12,17±0,79	13,26±0,64	13,10±0,29

Примечание: 1<sub>1</sub>, 1<sub>2</sub>, 1<sub>3</sub>- повторности и варианты с одним проливом; 2<sub>1</sub>, 2<sub>2</sub>, 2<sub>3</sub> – повторности и варианты с двумя проливами.

Листья являются важным вегетативным органом растения, играют важнейшую роль в процессе фотосинтеза, что прямо влияет на урожайность сельскохозяйственных культур. Поэтому скорость образования и количество

листьев непосредственно влияют на урожайность и продуктивность хлопчатника.

Отмечено ускорение образования листьев на 2,71 см под воздействием циано-бактериального сообщества, на 1,52 под воздействием *Bacillus megaterium*, на 1,13 под воздействием эпибрасинолида, на 0,62 под воздействием минерального удобрения, относительно контроля.

Таблица 74 - Влияние стимуляторов роста на количество листьев (1 замер), шт

Вариант опыта	Циано-бактериальное сообщество №2	Бактерии <i>Bacillus megaterium</i>	Контроль	Эпибрасинолид	Удобрение
1 <sub>1</sub>	7,26±0,24	4,86±0,28	5,76±0,41	5,22±0,34	7,06±0,51
1 <sub>2</sub>	10,59±1,49	7,89±0,34	5,76±0,40	8,79±0,41	7,17±0,40
1 <sub>3</sub>	9,33±0,26	9,81±0,33	6,40±0,22	7,4±0,31	7,0±0,37
2 <sub>1</sub>	9,67±0,26	8,27±0,28	4,76±0,23	7,16±0,38	7,06±0,40
2 <sub>2</sub>	7,46±0,32	9,29±0,22	7,25±0,23	9,26±0,27	7,1±0,31
2 <sub>3</sub>	9,66±0,25	7,41±0,22	9,06±0,99	7,32±0,31	6,72±0,34
среднее	9,11±0,55	7,92±0,71	6,4±0,62	7,53±0,58	7,02±0,60

Примечание: 1<sub>1</sub>, 1<sub>2</sub>, 1<sub>3</sub>- повторности 1, 2 и 3 варианта с одним проливом, а 2<sub>1</sub>, 2<sub>2</sub>, 2<sub>3</sub> – повторности 1, 2 и 3 варианта с двумя проливами за весь период проведения эксперимента.

14 июня провели первый пролив. На стадии бутонизации 09 июля 2013 года провели второй пролив на 2 участке. Пролив осуществляли под корень каждого растения, из расчета по 10 мл раствора на одно растение. 16 июля 2013 года был проведен второй замер морфометрических показателей (табл. 75, рис. 86). Растения, обработанные циано-бактериальным сообществом (с первого участка, 1 пролив), отстают в росте относительно обработанных бактериями *Bacillus megaterium* и эпибрасинолидом, на 1,81 и 7,62 см соответственно, но превышают по ростовым показателям растения, которые были обработаны химическим удобрением и контрольные (дистиллированная вода).



Рисунок 86 - Полевой опыт по влиянию стимуляторов роста на рост и развитие хлопка

Таблица 75 - Влияние стимуляторов роста на высоту растений (2 замер), см

Вариант опыта	Циано-бактериальное сообщество №2	Бактерии <i>Bacillus megaterium</i>	Контроль	Эпибрассинолид	Удобрение
1 <sub>ср</sub>	62,39±2,86	64,2±4,14	60,28±5,53	70,01±1,01	62,01±0,27
2 <sub>ср</sub>	64,99±1,70	66,04±4,28	63,75±6,4	62,73±3,33	63,87±0,83

1<sub>ср</sub> – средние значения после 1 пролива, 2<sub>ср</sub> - средние значения после 2х проливов

При двойном проливе наибольшая высота обнаружена у растений, обработанных суспензией бактерий *Bacillus megaterium*, которая на 1,05 см превышает высоту растений, обработанных циано-бактериальным сообществом. В среднем после двойного пролива высота всех опытных растений была примерно на одном уровне от 62,73 см в варианте с эпибрассинолидом до 66,04 см в варианте с *Bacillus megaterium*.

На этой же стадии бутонизации помимо измерения высоты растения, осуществляли подсчет количества бутонов и цветков, длины корня, количества и массы листьев, средней площади листовой пластины растений. С каждого варианта брали по 3 растения. (табл. 76).

Таблица 76 – Анализ биометрических показателей хлопчатника

Вариант опыта	Вариант	Бутоны и цветки, шт.	Кол-во листьев, шт.	Масса листьев, г.	Площадь листа, см <sup>2</sup>	Длина корня, см
Циано-бактериальное сообщ. №2	1	15,00±1,85	23,10±1,64	35,70±1,40	53,50±1,87	20,80±1,50
	2	20,00±1,19	33,70±0,53	48,80±1,61	39,00±1,89	26,70±0,87
Бактерии <i>Bacillus megaterium</i>	1	19,10±1,64	32,60±1,24	37,95±1,57	45,25±1,52	24,60±1,54
	2	15,00±1,15	23,40±0,87	30,40±1,28	38,11±1,11	25,30±0,95
Эпибрассинолид	1	19,60±1,43	35,80±1,13	37,71±1,34	51,74±0,85	26,50±1,26
	2	18,10±1,33	25,45±1,46	29,42±1,87	45,45±1,03	25,70±1,56
Минеральное удобрение	1	16,00±1,52	25,20±1,32	54,50±1,92	34,00±1,15	22,20±1,15
	2	15,20±2,08	22,30±1,54	24,10±1,94	36,30±0,40	24,90±1,41
Контроль	1	14,00±1,41	22,20±1,88	25,40±1,74	20,90±1,35	14,80±1,17
	2	16,30±0,57	29,00±1,62	28,10±1,82	35,20±1,15	25,60±1,01

Примечание: 1 вариант - один пролив, 2 вариант- два пролива

Растения, обработанные циано-бактериальным сообществом в 1 и 2 вариантах, по всем показателям превышают контроль. Наибольшее количество бутонов и цветков (20) в опыте выявлено во 2 варианте с обработкой циано-бактериальным сообществом. Двойная обработка оказала существенное влияние на развитие хлопчатника: количество бутонов и цветков на 5 шт., листьев – на 10,6 шт., масса листьев на 13,1 г. и длина корня на 5,9 см были выше, чем при однократной бактеризации циано-бактериальным сообществом. Двойная обработка циано-бактериальным сообществом стимулировала увеличение цветков и бутонов на 18,5%, количество листьев на 13,9%, массу листьев на 42,4%, площадь листа на 9,7%, длину корня на 4,1%, в сравнении с контролем.

Двойная обработка суспензией бактерий *Bacillus megaterium* и эпибрассинолидом оказала ингибирующее действие на развитие хлопчатника, в отличие от однократной обработки.

Наименьшая длина корня 14,8 см обнаружена в контроле, наименьшая площадь листа выявлена в контроле 20,9 см<sup>2</sup>, наименьшая масса листьев – в контроле 25,4 г и двойной обработке удобрениями 24,1 г, минимальное количество листьев обнаружено при обработке удобрением 22,3 шт. и в контроле 22,2 шт.

Через два месяца, 13.09.2013 года, проводили подсчет количества коробочек. В расчет брали зеленые коробочки, а также распустившиеся красные коробочки, определяя продуктивность (табл. 77).

Таблица 77 - Продуктивность хлопчатника при обработке стимуляторами

Вариант опыта	Колич. коробочек, среднее на одно растение, шт	
	1 пролив	2 пролива
Циано-бактериальное сообщество №2	З 0,6 К 7,8	З 0,8 К 10,0
Бактерии <i>Bacillus megaterium</i>	З 1,2 К 8,6	З 0,8 К 9,0
Эпибрасинолид	З 0,5 К 9,5	З 0,7 К 8,5
Минеральное удобрение	З 0,8 К 6,7	З 0,4 К 6,1
Контроль	З 0,8 К 8,0	

Примечание: З – зеленые, К- красные коробочки

Наибольшая продуктивность хлопчатника (красные коробочки) отмечена при двукратном проливе и обработке циано-бактериальным сообществом, на 20% превышающая контроль. Наибольшее количество зеленых коробочек обнаружено при однократном проливе и обработке бактериями *Bacillus megaterium* 1,2 шт. Зеленых коробочек было одинаковое количество при обработке сообществом, бактериями и в контроле при двукратной обработке. Наименьшее количество коробочек обнаружено при двукратной обработке удобрениями.

В вариантах опыта с обработкой бактериями *Bacillus megaterium*, эпибрасинолидом и удобрениями эффективнее оказалась однократная обработка, так как продуктивность была выше, в сравнении с двукратной.

Сбор урожая проводили 20 сентября 2013 года. Отбирали по 5 коробочек с 10 растений каждого варианта и взвешивали (рис. 87). Урожайность хлопчатника – это масса хлопка-сырца.

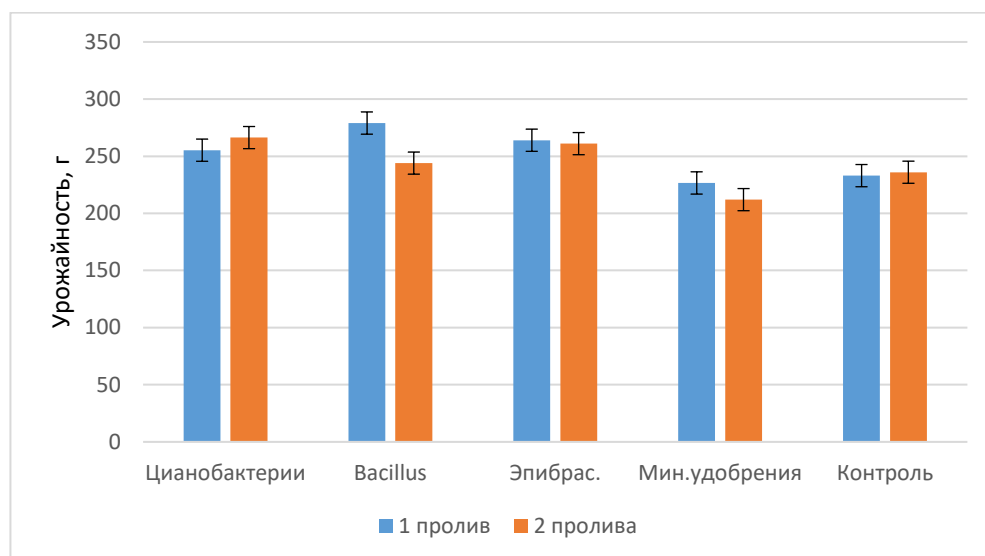


Рисунок 87 - Урожайность хлопчатника (1- вариант с однократным проливом, 2 – вариант с двукратным проливом).

Урожайность хлопка, двукратно обработанного циано-бактериальным сообществом (266,3 г), превышает урожайность контрольного показателя (236 г) на 12,8%, однократно обработанного – на 9,6%. Однократная обработка цианобактериями (255,3 г) превышает урожайность варианта с удобрениями (226,6 г) на 12,7%, двукратная – на 25,6%. Показатели при обработке удобрениями оказались ниже контрольных, что, видимо, связано с высадкой хлопчатника на участке, где удобрения сохранились в почве с прошлых лет. Но, несмотря на это, циано-бактериальное сообщество и бактерии *Bacillus megaterium* повышали урожайность.

Двукратный пролив оказался эффективным только при обработке циано-бактериальным сообществом, в отличие от других вариантов опыта. Он позволил получить прирост урожайности. Максимальная урожайность получена при обработке хлопчатника бактериями *Bacillus megaterium* при однократной бактериализации, минимальная - при двукратной обработке минеральными удобрениями.

Для оценки качества полученного сырья, проводили измерение длины волокна хлопка. Результаты измерений представлены на рисунке 88.

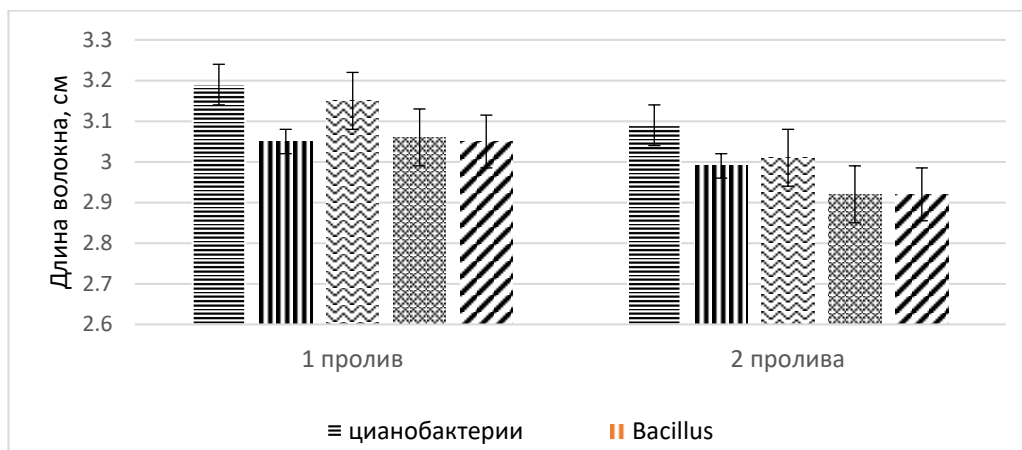


Рисунок 88 - Длина волокна хлопчатника, выращенного с использованием стимуляторов роста, см

Хлопчатник, обработанный циано-бактериальным сообществом, обеспечил лучшее качество - наибольшую длину волокна. Так, при однократном проливе длина волокна на 0,14 см больше, при двукратном – на 0,17 см больше, чем в контроле. Растения, обработанные эпибрасинолидом, уступают растениям, обработанным циано-бактериальным сообществом, в длине волокна на 0,04 см и 0,08 см при однократной и двукратной обработках, соответственно.

В полевом опыте с хлопчатником семена, обработанные циано-бактериальным сообществом, показали 100% всхожесть, что на 15% выше контроля. Двойная обработка циано-бактериальным сообществом стимулировала увеличение цветков и бутонов на 18,5%, количество листьев на 13,9%, массу листьев на 42,4%, площадь листа на 9,7%, длину корня на 4,1%, в сравнении с контролем. Циано-бактериальное сообщество №2 проявило активные фитостимулирующие свойства, повысив урожайность на 9,6% и 12,8% в сравнении с контролем и на 12,7% и 25,6% в сравнении с обработкой минеральным удобрением. Наибольшая продуктивность хлопчатника (красные коробочки) отмечена при двукратном проливе и обработке циано-бактериальным сообществом, на 20% превышающая контроль. Повысилось качество продукции, при однократном проливе циано-бактериальным



сообществом, длина волокна на 0,14 см больше, при двукратном – на 0,17 см больше, чем в контроле.

Влияние цианобактерий на растения может быть прямым, например, фиксация азота, выделение биологически активных веществ, необходимых растениям, и косвенным, участие в обогащении почвы органическими и минеральными компонентами, тем самым повышая ее плодородие и увеличивая развитие почвенных экосистем.

### 12.3. Влияние цианобактерий *Anabaena constricta* IPPAS B-2020 на развитие перца (семейство Пасленовые)

Опыты проводили в открытом грунте на территории технопарка Астраханского государственного университета п. Начало Астраханской области на семенах перца сорта «Калифорнийское чудо».

В течение опыта на стадии плодоношения измеряли длину корня, высоту растений, массу одного плода, количество плодов и урожайность. Результаты представлены в таблице 78 (приложение 10).

Таблица 78 - Длина корня и высота растений перца при внекорневой подкормке суспензией цианобактерий *Anabaena constricta* IPPAS B-2020

Вариант опыта	Длина корня, см	Высота растения, см
Контроль	10,5±0,24	28,6±0,17
Обработка суспензией цианобактерий	21,5±0,18	62,5±0,36

Растения, обработанные суспензией цианобактерий, значительно превышали контрольные по длине корня и высоте растений на 104,7% и 118,5%, соответственно.

Отмечено ускоренное созревание плодов у обработанных растений на 5-8 дней по сравнению с контролем. Масса одного плода перца и количество плодов при обработке суспензией цианобактерий превышает контрольную массу на 19,2% и 70,0%, соответственно (табл. 79).

Таблица 79 - Урожайность перца при внекорневой подкормке суспензией цианобактерий *Anabaena constricta* IPPAS B-2020

Вариант опыта	Масса плода, кг.	Количество плодов, шт./куст	Урожайность, кг/куст
Контроль	0,52±12,03	2,0±0,70	0,143±0,27
Обработка суспензией цианобактерий	0,62±14,60	3,4±0,47	0,272±0,12

Урожайность перца при обработке суспензией составила 0,272 кг/куст, что превышало контроль на 90,2%.

При подсчете растений с симптомами фузариоза, обнаружено, что количество обработанных суспензией цианобактерий растений составило 0% (без симптомов), а в контроле 9% (с симптомами), что подтверждает высокую фунгицидную активность культуры цианобактерий. Количество микромицетов рода *Fusarium* в почве составил: в контроле  $10^4$  КОЕ/г, в варианте с обработкой цианобактериями -  $10^2$  КОЕ/г.

#### 12.4. Влияние цианобактерий *Anabaena constricta* IPPAS B-2020 на развитие томатов (семейство Пасленовые)

Опыты проводили в открытом грунте на территории ФГБНУ ВНИИОБ г. Камызяк Астраханской области на семенах томатов сорта «Дар Заволжья».

В течение опыта на стадии плодоношения определяли урожайность растений и количество урожайных кустов. Отмечено ускорение плодообразования обработанных растений на 5-8 дней раньше, чем без обработки.

В результате, количество урожайных кустов с обработкой цианобактериями составило 38,82%, что на 7,1% больше контроля в (табл. 80).

Урожайность томатов с бактериризацией цианобактериями составила 1,14 кг/куст, что на 0,83 кг/куст больше, чем в контроле (0,31 кг/куст). При обработке суспензией цианобактерий растения с симптомами фузариоза отсутствовали, в

то время как в контроле составили 12%, что подтверждает высокую фунгицидную активность культуры цианобактерий.

Таблица 80 - Урожайность томатов при внекорневой подкормке суспензией цианобактерий *Anabaena constricta* IPPAS B-2020

Вариант опыта	Урожайность, кг/куст	Количество урожайных кустов (%)
Контроль	0,31±11,12	31,73±2,54
Обработка цианобактериями	1,14±0,29	38,82±3,85

Исследование в ризосфере микромицетов рода *Fusarium* показало их наличие в варианте опыта с обработкой растений цианобактериями в количестве  $10^2$  КОЕ/г, что меньше контроля на три порядка.

Полевые опыты по влиянию цианобактерий на растения, показали, что культура *Anabaena constricta* IPPAS B-2020 обладает активными фитостимулирующими и защитными свойствами, также, как и цианобактериальные сообщества. Принято считать, что с экологической точки зрения, микробные сообщества в силу обилия видов обладают более полезными свойствами в различных экосистемах, чем чистые культуры. Но, мы в опытах использовали не аксеничную культуру цианобактерий, освобожденную от бактериальных спутников, а альгологически чистую культуру. В гликокаликсе цианобактерий, содержится большое количество гетеротрофных микроорганизмов, способных к деградации органических соединений, которые могут стать доступными для питания растений.

### **12.5. Влияние штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 на рост и развитие томатов**

Полевой опыт на томатах сорта Ажур F1 проводили в 5 вариантах: контроль 1 – без обработок, контроль 2 - с обработкой коммерческим биопрепаратом Лепидоцид СК (эталон), 3 варианта с обработкой экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883

(приложение 17).

После первой обработки (замачивание семян) контрольные растения взошли на 8-10 день, семена, обработанные экспериментальными образцами биопрепаратов, на 5-7 день (16 марта). Полная всхожесть во всех вариантах опыта зафиксирована 28 марта (табл. 81).

Таблица 81 - Всхожесть семян томата Ажур F1

Вариант	Среднее количество проросших семян, %	
	через 7 суток	через 14 суток
Контроль 1 (без обработок)	11,7±1,7*	52,3±1,2
Контроль 2 (эталон)	15,7±3,4	60,3±0,9
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697	48,3±1,7*	86,7±0,9
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04882	40,0±5,0	71,7±6,0
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04883	31,7±3,3	70,0±5,0

Примечание: \* - различия с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$

На 14 сутки высокая всхожесть выявлена в варианте с обработкой экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 (86,7%), низкая - в контрольных вариантах (контроль 1, контроль 2) и составила, 52,3% и 60,3%, соответственно.

Перед пикированием рассады, когда большая часть растений достигла фазы 2-4 листьев, 5 апреля проведен подсчет количества листьев и длины стебля (табл. 82).

Таблица 82 - Биометрические показатели растений томата Ажур F1 в фазу 2-4 настоящих листьев

Вариант	Средняя длина стебля, см	% растений в фазе развития		
		2-го настоящего листа	3-го настоящего листа	4-го настоящего листа
Контроль 1 (без обработок)	8,3±0,3	100	0	0
Контроль 2 (эталон)	9,0±0,6	20	80	0
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697	19,3±0,3	0	0	100
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04882	16,0±0,6*	0	15	85
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04883	16,7±0,3	0	10	90

Примечание: \* - различия с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$

Анализ данных показал, что растения, обработанные экспериментальными образцами биопрепаратов, опережали контрольные растения по фазам развития. Таким образом, растения в контроле находились в стадии 2-х (контроль 1 – 100%, контроль 2 – 20%) и 3-х настоящих листьев (контроль 2 – 80%), в то время как опытные растения на 100% перешли в фазу 4-го настоящего листа. Исключение составили варианты с обработкой экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *N. umidischolae* RCAM04882 и *N. umidischolae* RCAM04883, в которых часть растений оставалась в стадии 3-х настоящих листьев (15% и 10%, соответственно).

Максимальная длина стебля обнаружена в варианте с обработкой экспериментальным образцом биопрепарата на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697 (19,3 см), наименьшая - в контрольных вариантах (контроль 1, контроль 2) и составила, 8,3 см и 9,0 см, соответственно. Длина стебля растений в остальных вариантах выше 16,0 см. Пикирование рассады проведено 12 апреля при наступлении фазы - первых настоящих листьев. Высадка рассады проводилась 11 мая вручную в подготовленные лунки во второй половине дня, когда температура почвы достигла плюс 18°C.

Вторая обработка, при которой корневую систему рассады погружали в экспериментальные образцы биопрепаратов, проведена перед высадкой в открытый грунт на стадии 4-6 настоящих листьев. В контроле 1 растения погружали в водопроводную воду, в контроле 2 – в раствор препарата Лепидоцида на 20 минут.

На испытательном участке применялось капельное орошение с режимом полива 1 раз в 7 дней с нормой - 20-30 л воды на 1 м<sup>2</sup> (рис. 89).



Рисунок 89 - Развитие томатов, обработанных экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 на испытательном участке (ориг., 2016)

Третья и четвертая обработки проведены в стадии активного роста растений в виде пролива под корень экспериментальными образцами на основе актиномицетов. В опытных вариантах и контроле 2 (эталон) пролив проведен 6 мая и 24 июня.

Обработку растений методом опрыскивания экспериментальными образцами в опытных вариантах и биопрепаратом Лепидоцид в варианте - контроль 2 (эталон) осуществляли 18 мая (пятая обработка), 29 июня (шестая обработка) и 6 июля (седьмая обработка).

Стадия бутонизации на томатах опытного участка отмечена в вариантах с обработкой экспериментальными образцами актиномицетов 29 мая. Массовая бутонизация и цветение наблюдались 4 июня. В это время определяли длину стебля, количество побегов, количество бутонов и цветков (рис. 90).

По полученным данным установлено, что в стадии бутонизации биометрические показатели растений, обработанных суспензией, резко отличаются от контрольных вариантов даже визуально. Такой же результат наблюдался в фазу 2-4 настоящих листьев. Максимальная длина стебля зафиксирована в вариантах с обработкой экспериментальным образцом биопрепарата на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697 (56,7 см), наименьшая - в контрольных вариантах (контроль 1, контроль 2) и составила,

26,0 см и 28,3 см, соответственно.

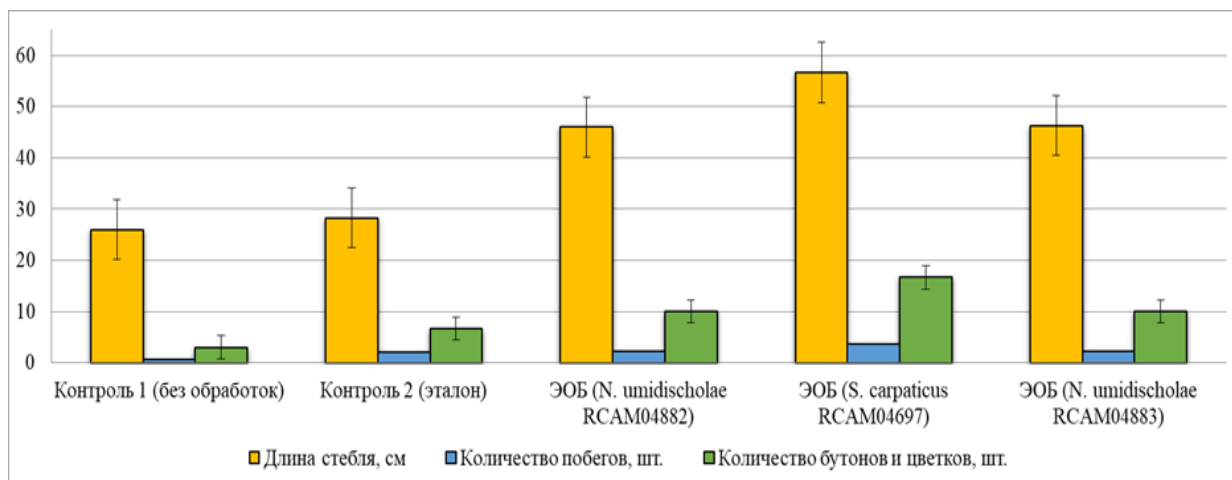


Рисунок 90 - Биометрические показатели растений томата Ажур F1 в стадии бутонизации и цветения. (ЭОБ - экспериментальный образец биопрепарата)

Длина стебля растений в остальных вариантах выше 46,0 см. Кроме того, количество побегов и бутонов (цветков) в 2-4 раза превосходило в образцах томата, обработанного экспериментальными образцами биопрепаратов, по сравнению с контрольными (контроль 1, контроль 2) вариантами.

В конце плодоношения во время уборки испытательного участка 19 сентября проводили измерения биомассы растений и длины корня (табл. 83).

Таблица 83 - Биометрические показатели растений томата Ажур F1 во время уборки урожая (конец плодоношения)

Вариант	Длина корня, см	Биомасса растения, кг
Контроль 1 (без обработок)	40,0±2,9	1,2±0
Контроль 2 (эталон)	41,7±3,3	1,7±0,1
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697	83,7±1,8	2,5±0,1
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04882	56,0±0,6	2,1±0,1
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04883	53,3±1,7*	2,1±0,1

Примечание: \* - различия с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$

В результате обработки полученных данных, максимальная длина корня на

стадии окончания плодоношения выявлена в вариантах с обработкой образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 (83,7 см), наименьшая - в контрольных вариантах (контроль 1, контроль 2) и составила, 40,0 см и 41,7 см, соответственно.

Длина корня растений в остальных вариантах выше 53,3 см. Самыми массивными и крупными оказались кусты томата в тех вариантах, где обнаружена наибольшая длина корня - обработка экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 (2,5 кг), а самые угнетенные и слабые кусты встречались среди контрольных образцов.

Следовательно, обработка экспериментальными образцами биопрепаратов на основе актиномицетов оказывает фитостимулирующие воздействие на томаты во всех вариантах опыта.

Определение фунгицидной активности экспериментальных образцов биопрепаратов проведено после второго пролива под корень – 29 июня (табл. 84).

Таблица 84 - Численность микромицетов р. *Fusarium* и р. *Alternaria* в ризосферной почве и распространенность болезней, вызываемых ими

Вариант опыта	% растений с симптомам и фузариоза	Титр микроорганизмов рода <i>Fusarium</i> в ризосферной почве, КОЕ/г	% растений с симптомами альтернариоза	Титр микроорганизмов рода <i>Alternaria</i> в ризосферной почве, КОЕ/г
Контроль 1 (без обработок)	15	10 <sup>5</sup>	10	10 <sup>6</sup>
Контроль 2 (эталон)	10	10 <sup>4</sup>	5	10 <sup>6</sup>
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697	0	10 <sup>2</sup>	0	10 <sup>2</sup>
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04882	0	10 <sup>2</sup>	2	10 <sup>2</sup>
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04883	0	10 <sup>2</sup>	3	10 <sup>2</sup>

В контроле количество растений с симптомами фузариоза и альтернариоза составляет 15% и 10%, соответственно. У растений, обработанных



экспериментальными образцами биопрепаратов, симптомы данных болезней отсутствуют, а титр микроорганизмов р. *Fusarium* и р. *Alternaria* в ризосферной почве на 2 порядка ниже, чем в контроле и эталоне, что свидетельствует о высокой фунгицидной активности исследуемых прототипов биопрепаратов.

В 2016 г. погодные условия являлись благоприятными для развития вирусных болезней сельскохозяйственных культур. Со второй декады июля установилась умеренно жаркая погода, что способствовало распространению вирусных болезней. Инсектицидные обработки снижали численность и вредоносность тли, что не позволило так же массово распространиться вирусной инфекции. По результатам обследований основные очаги вирусной инфекции томата фиксировались в контрольных вариантах (контроль 1, контроль 2). Единичные случаи проявления вирусных болезней встречались на томатах, обработанных экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *N. umidischolae* RCAM04882 и *N. umidischolae* RCAM04883. Для уточнения видового состава вирусной инфекции, возможных переносчиков и резерваторов, проводился отбор образцов с симптомами вирусносительства. Инфекционность заболевания доказана путем заражения растения - хозяина - томата сорта Новичок и *N. debney*, на котором наблюдалась системная мозаика разной суровости и деформация листьев.

Для определения видового состава вирусной инфекции заражен набор индикаторов: *N. glutinosa*, *N. sylvestris*, *N. tabacum* V. Samsun 959, *N. debney*, *D. stramonium*, *L. esculentum*, *C. sativus*, *C. digitata*. На 3-5 день на *N. glutinosa*, *D. stramonium*, образовались местные некрозы на инокулированных листьях. На 10-14 день на *N. tabacum* V. Samsun 959 наблюдалась системная мозаика.

Индикаторный метод показал наличие в данных образцах вируса мозаики табака. При заражении растения-индикатора *N. sylvestris* через 4-5 дней образовались местные некрозы, что говорит о присутствии томатного штамма ВТМ (ВМТо). На 18-21 день на *N. glutinosa* и *D. stramonium*, кроме местных некрозов, наблюдалась системная мозаика. На томате (сорт Новичок) и *N.*

*tabacum* V. *Samsun* 959, заражения которых провели инокулятом с растения – индикатора – *N. glutinosa*, на 35-36 день симптомы носили системный характер в виде мозаики и деформации листьев. В наших опытах на растениях-индикаторах наблюдались следующие симптомы: на *N. glutinosa* отмечена волнистая деформация листьев, а на *D. stramonium* – системная мозаика, поэтому мы отнесли исследуемый штамм ВОМ к группе «DS».

Таким образом, в результате проведенной идентификации отобранных образцов с опытного участка на томате Ажур F<sub>1</sub> обнаружены три возбудителя вирусной инфекции – ВОМ, ВБТ и ВМТо (рис. 91). Интенсивность проявления данных вирусов в контрольных вариантах, носила эпифитотийный характер. Однако в опытных вариантах также встречались очаги вирусной инфекции: обработка экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *N. umidischolae* RCAM04882 (8% ВОМ и 2% ВТМ), *N. umidischolae* RCAM04883 (10% ВОМ и 3% ВТМ).



Рисунок 91 - Симптомы вирусной инфекции на томате Ажур F<sub>1</sub> (контроль 1) (ориг., 2016)

По данным фитосанитарного мониторинга и расчетам фенологии вредителей в целом по области, проведенных на базе филиала ФГБУ «Россельхозцентр» по АО, погодные условия зимнего периода 2015-2016 гг. являлись удовлетворительными для развития и распространения насекомых-вредителей томата. На овощные культуры залёт тлей начался с 25 апреля. Вторая волна зафиксирована 20 мая с распространением 45-50%. В течение сезона лёт

тли являлся массовым. Заселение паутиным клещом на томатах отмечено с 1 июня в численности 1 балл с распространением до 5%.

На территории области повсеместное распространение имела хлопковая совка. Яйцекладка 1 поколения проходила на ранних томатах. Отрождение гусениц первого поколения началось 8 июня. Развивались они на ранних томатах с единичным повреждением цветов и завязи в численности 0,5 – 3 экз./м<sup>2</sup>. После массового отрождения гусениц 2 поколения - 9 июля вредоносность усилилась, а численность достигала от 1 до 5 экз./м<sup>2</sup>. Массовое отрождение гусениц хлопковой совки 3-го поколения началось с 3 августа.

В ходе очередного фитосанитарного мониторинга на испытательном участке (после третьей обработки – опрыскивание) проведен сбор насекомых-вредителей для дальнейшего определения видового состава.

Всего отобрано 55 образцов вредных членистоногих. Вредители, которые зафиксированы на ловушках (желтая клеевая, синяя клеевая, ловушка Мерике) также подвергались идентификации (табл. 85).

Таблица 85 - Видовой состав и численность вредных членистоногих на опытном участке

№	Вариант	Вид	Численность особей, шт.
1	Контроль 1 (без обработок)	бахчевая тля <i>A. gossypii</i> Glover.	185,0±4,9
		бобовая тля <i>A. fabae</i> Black	64,0±1,5
		паутиный клещ <i>T. urticae</i>	270,0±0,3
		люцерновая тля <i>A. crassivora</i> Koch.	97,0±2,2*
		табачный трипс <i>Thrips tabaci</i> Lind.	56,0±1,7*
		черноусый трипс <i>T. nigropilosus</i> Uz.	20,0±2,5
2	Контроль 2 (эталон)	бахчевая тля <i>A. gossypii</i> Glover.	22,7±1,4
		паутиный клещ <i>T. urticae</i>	10,0±0,2
		табачный трипс <i>T. tabaci</i> Lind.	30,0±2,5
		хлопковая совка <i>H. armigera</i> Hbn.	5,0±1,6
3	Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697	не обнаружено	-
4	Экспериментальный образец	бахчевая тля <i>A. gossypii</i> Glover.	6,7±0,3

	биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04882		
5	Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04883	бахчевая тля <i>A. gossypii</i> Glover.	6,8±0,9

Примечание: \* - различия с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$

Установлено, что основные виды фитофагов принадлежат к отрядам *Homoptera*, *Thysanoptera* и *Lepidoptera*. Все идентифицированные виды, обнаруженные на опытном участке - полифаги, повреждающие широкий спектр культурных и сорных растений, которые являются переносчиками болезней растений, в частности, вирусной природы (Григорян, 2013). Сопутствующий состав насекомых представлен паутиным клещом *T. urticae* и трипсом *T. tabaci*.

При подсчете численности вредителей выявлено, что в варианте без внесения удобрений и пестицидов (контроль 1) распространенность насекомых значительна. В контроле 2 (эталон) - количество насекомых существенно меньше, чем в контроле 1. Кроме того, отсутствуют такие вредители, как *T. nigropilosus*, *A. crassivora*, *A. fabae*. В вариантах с обработками экспериментальными образцами биопрепаратов наблюдалась значительная гибель насекомых. Однако в вариантах, обработанных экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *N. umidischolae* RCAM04882 и *N. umidischolae* RCAM04883 встречались единичные особи *A. gossypii*.

В связи с тем, что тли – являются основными переносчиками вирусной инфекции на посадках томата, после трех обработок проведен более детальный учет численности имаго тлей на опытном участке. В вариантах с обработкой экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882 и *N. umidischolae* RCAM04883 особи тлей и паутинового клеща после третьей обработки не зафиксированы, что свидетельствует о высокой инсектоакарицидной активности прототипов биопрепаратов. Инсектоакарицидная активность в контрольном варианте №2 (эталон), отличалась от активности в опытных вариантах и составила 72,5%, хотя

эффект действия препарата Лепидоцид на насекомых сходен и основан на контактно-кишечном действии. Установлено, что после третьей инсектоакарицидной обработки максимальная инсектоакарицидная активность (100%) наблюдалась в вариантах с обработками экспериментальными образцами актиномицетов на основе трех исследуемых штаммов. Наименьшая инсектоакарицидная активность наблюдалась при обработке биопрепаратом Лепидоцид в контроле 2 (эталон) и составила 72,5%. Инсектоакарицидная активность при обработке экспериментальными образцами биопрепаратов являлась достаточно высокой и варьировала от 89,5% до 95,5%.

Анализ литературных данных показал, что во всем мире учеными интенсивно исследуются антагонистические свойства актиномицетов по отношению к насекомым, которые зарекомендовали себя, как эффективные средства борьбы с вредными членистоногими (Анисимова, 2008). Для них характерна низкая токсичность, специфичность, а также способность к деградации в естественных круговоротах веществ, что позволяет не нарушать природное равновесие при их использовании (Сухорученко и др., 1990; Агансонова и др., 2000; Назарова и др., 2017; Жадамбаа, 2019). По мнению авторов, разнообразие химической природы бактерий обуславливает низкую степень адаптации к ним вредных насекомых (Дорофеева, 2002; Долженко, 2009).

В ходе проведения фитосанитарного мониторинга через 5 суток после третьей обработки методом опрыскивания (11 июля) использован экспресс-метод диагностики болезней томата на иммунострипах для выявления и подтверждения визуальной идентификации бактериальных, грибных и вирусных фитопатогенов (табл. 86).

Результаты ИХА на иммунострипах свидетельствуют о присутствии на опытном участке вирусных (ВОМ, ВМТо, ВБТ), бактериальных (черная бактериальная пятнистость), грибных (альтернариоз, фитофтороз), а также фитоплазменных (столбур) патогенов. Первые проявления альтернариоза на

листьях отмечены во второй половине июня. Болезнь отмечалась в виде единичных пятен на листьях нижнего и среднего ярусов; на стеблях и плодах - не выявлена. Альтернариоз на опытном участке установлен в контрольных вариантах - контроль 1 (19%), контроль 2 (15%) и при обработке экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *N. umidischolae* RCAM04882 (2%).

Таблица 86 - Изучение влияния обработок на возбудителей болезней томата Ажур F1 методом ИХА на иммунострипах

Вариант	Распространенность возбудителей болезней, % (11 июля)						
	альтернариоз	фитофтороз	черная бактериальная пятнистость	ВОМ	ВМТо	ВБТ	столбур
Контроль 1 (без обработок)	19	8	3	50	10	5	5
Контроль 2 (эталон)	15	5	2	40	28	6	4
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697	0	0	0	0	0	0	0
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04882	2	3	4	5	6	7	8
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04883	0	0	0	0	0	0	0

Проявление черной бактериальной пятнистости зафиксировано в середине июля, в дальнейшем в отсутствии достаточного количества влаги интенсивность распространения и развития проходила умеренно. Очаги черной бактериальной пятнистости выявлены в контроле 1 (3%), контроле 2 (2%) и при обработке экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *N. umidischolae* RCAM04882 (4%). Фитофтороз не имел хозяйственного значения на опытном участке. Вредоносность болезни отмечалась в контроле 1, контроле 2 с распространением 8% и 5%, соответственно, и при обработке экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *N. umidischolae* RCAM04882 (3%). Отсутствие осадков и высокие температуры июня и июля

сдерживали развитие патогена. Столбур проявился 5–8 июля в контроле 1 (5%) и контроле 2 (4%). Пораженные растения встречались небольшими очагами в опытном варианте при обработке экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *N. umidischolae* RCAM04882 (8%). Характерные признаки данной болезни – повышение кустистости растений, разрастание, позеленение и стерильность цветков, образование воздушных корней на главном стебле. Листовые пластинки имели хлоротичную окраску, реже антоциановую, закрученную внутрь.

Идентификация вирусных патогенов подтвердила результаты индикаторного анализа, представленные выше. Интенсивность проявления вирусов ВОМ, ВМТо, ВБТ в контрольных вариантах, носила эпифитотийный характер. В вариантах с обработкой экспериментальными образцами биопрепаратов на основе актиномицетов встречались единичные очаги вирусной инфекции, что подтверждает наличие противовирусного эффекта.

При обработке экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *N. umidischolae* RCAM04882 отмечена самая низкая активность относительно перечисленных болезней растений. В вариантах с обработкой экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697 и *N. umidischolae* RCAM04883 наблюдался полный ингибирующий эффект относительно всех болезней томатов, в том числе и вирусных.

В фазу созревания плодов отмечено, что плоды у растений, обработанных экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов актиномицетов, заметно больших размеров, чем у растений в контроле 1 и контроле 2. Таким образом, следует отметить, что обработка экспериментальными образцами биопрепаратов стимулирует процесс роста и развития растений. Сбор урожая на испытательном участке начался 11 июля. Дата последнего сбора урожая - 17 сентября. За весь период вегетации томата проведено 10 сборов: 11 июля, 23 июля, 29 июля, 5 августа, 13 августа, 20 августа, 27 августа, 3 сентября, 10 сентября, 17 сентября. Фитостимулирующее

влияние обработок экспериментальными образцами биопрепаратов на основе актиномицетов на растения оценивали по увеличению урожайности томатов (табл. 87).

Таблица 87 - Влияние экспериментальных образцов биопрепаратов на увеличение урожайности томата Ажур F1 на испытательном участке

Вариант	Урожайность, кг	
	с варианта	с куста
Контроль 1 (без обработок)	19,8±0,2	2,1±0,1
Контроль 2 (эталон)	32,2±0,4*	3,2±0,3
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697	51,6±0,6	7,1±0,3
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04882	54,6±0,6	7,3±0,4
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04883	49,1±0,7	6,5±0,2

Примечание: \* - различия с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$

Разница урожайности в опытных и контрольных вариантах существенна. Наибольшая урожайность томата с варианта зафиксирована при обработке экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *N. umidischolae* RCAM04882 (54,6 кг) и *S. carpaticus* RCAM04697 (51,6 кг). Урожайность томатов, обработанных экспериментальными образцами на основе актиномицетов, в остальных вариантах не превышала 49,1 кг. Наименьшая урожайность установлена в контрольном варианте без обработок (контроль 1) и составила 19,8 кг. Урожайность в опытных вариантах превышала контрольный №2 (эталон) на 3,2 - 22,4 кг.

Результаты, полученные при расчете урожайности томатов с куста, соответствуют данным, выявленным по урожайности с варианта: максимальная урожайность представлена при обработках экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *N. umidischolae* RCAM04882 (7,3 кг) и *S. carpaticus* RCAM04697 (7,1 кг), минимальная – в контроле 1 (без обработок) и составила 2,1 кг. Урожайность с куста в варианте с обработкой экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *N. umidischolae* RCAM04882 составила 6,5 кг.

По нашему мнению, влияние экспериментальных образцов биопрепаратов



на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 на фитопатогенные вирусы и грибы объясняется явлением антагонизма, который широко распространен в природных сообществах данных бактерий (Звягинцев и др., 2001). Чаще всего антагонисты действуют на конкурентов продуктами обмена веществ, включая антибиотики, либо вытесняют их вследствие более интенсивного размножения или преимущественного потребления питательных веществ (Гиляров, 1990). В структурном отношении вещества, угнетающие рост бактерий, находятся очень близко к веществам, стимулирующим их рост (Кожевин, 1989).

Кроме того, антагонизм оказывает большое влияние на плодородие почв. Обильно развиваясь в почве, полезные микробы-антагонисты задерживают развитие многих фитопатогенных бактерий и грибов и этим оздоравливают почву (Калакуцкий и др., 1984). Антагонисты участвуют в разложении крахмала, сахаров и других органических веществ, способствуют образованию гумуса (Мишустин, 1975).

Следует отметить, что экспериментальные образцы биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 оказывали положительное влияние на рост и развитие томата: повышали всхожесть, биомассу и урожайность растений. В связи с чем, считаем необходимым отнести данное взаимодействие к протокооперации (Нетрусов и др., 2004).

## **12.6. Влияние штамма *S. carpaticus* RCAM04697 на развитие и вирусные болезни картофеля**

Полевой опыт на картофеле сорта Ред Скарлетт представлен двумя вариантами: 1) обработка картофеля экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697; 2) контрольный участок без обработок. В полевом опыте оценивали влияние экспериментального образца биопрепарата на картофель сорта Ред Скарлетт (приложение 18).

Посадка картофеля на опытном участке произведена 10 июля 2017 г. Первые всходы появились 28 июля 2017 г. Результаты визуальных обследований посадок картофеля показали наличие достаточно ярко выраженных симптомов проявления вирусной инфекции. Среди симптомов, характеризующих присутствие вирусов на картофеле, выявлены: морщинистость и деформация листьев, недоразвитость растений, карликовость. После первой обработки – пролива под корень установлено, что в контрольном варианте распространенность вирусных болезней составила 65%, а в опытном – 30%. Эффективность экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 составила 53,9% (табл. 88).

Таблица 88 - Биологическая эффективность экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 в отношении вирусных фитопатогенов на картофеле через пять дней после первого полива под корень

Вариант полива под корень, норма расхода	Дата обработки: 24.08.2017 г.	
	Распространение, %	Биологическая эффективность, %
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S.</i> <i>carpaticus</i> RCAM04697	30,0±1,7	53,9±3,3*
Контроль	65,0±0,5	0

Примечание: \* - различия с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$

На посадках картофеля отобраны образцы с симптомами вирусносительства (морщинистость и деформация листьев, недоразвитость растений, карликовость).

В лабораторных условиях образцы картофеля с симптомами вирусной инфекции диагностированы методом растений-индикаторов (рис. 92).

После заражения на 12 день на *N. tabacum* v. *Samsun* 959 четко видны симптомы мозаичности листьев и некроза по жилкам. Проведен экспресс-метод ИХА на иммунострипах, а также ПЦР-анализ в режиме реального времени на микрочиповом амплификаторе AriaDNA.



Рисунок 92 - Растения-индикаторы на базе филиала (ориг., 2017)

Таким образом, в результате фитосанитарного мониторинга посадок картофеля сорта Ред Скарлетт установлена степень пораженности растений вирусной инфекцией. Проведенные анализы показали присутствие на опытном участке поражения картофеля УВК.

В ходе исследования на испытательном участке на начальных этапах встречались яркие симптомы проявления вирусоносительства на посадках картофеля. На данные растения ставились маркировки для проведения строгого мониторинга во время учетов. Материал с симптомами проверяли на наличие вирусной инфекции визуальным, индикаторным, ИХА (иммунострипы) и ПЦР методами в лаборатории на базе филиала «Россельхозцентр». Среди возбудителей вирусной инфекции на картофеле на начальных этапах распространен УВК (рис. 93, 94).

Первый результативный учет развития вирусных болезней проведен 29 августа 2017 г. При учетах после второй обработки 3 сентября 2017 г. на контрольном варианте распространение вирусных болезней увеличилось до 70,8%. Результаты второй обработки растений картофеля экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 методом опрыскивания свидетельствуют о повышении биологической эффективности до 71,8%.

При учете 18.09.2017 г. после третьей обработки (пролива под корень) в контрольном варианте распространение вирусных болезней увеличилось до

81,2% (табл. 89, рис. 95).



Рисунок 93 - Картофель Ред Скарлетт (УВК, 65-80%) на контрольном участке (ориг., 2017)



Рисунок 94 - Симптомы вирусносительства на опытном участке (ориг., 2017)

Таблица 89 - Биологическая эффективность образца на основе штамма *S. carpathicus* RCAM04697 в отношении вирусных фитопатогенов на картофеле через пять дней после третьей обработки – пролив под корень (учет 18.09.2017 г.)

Вариант полива под корень, норма расхода	Дата обработки: 03.09.2017 г.	
	Распространение, %	Биологическая эффективность, %
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S. carpathicus</i> RCAM04697	10,0±1,2*	78,2±2,5
Контроль	81,2±0,9	0

Примечание: \* - различия с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$

Выявлено, что биологическая эффективность при обработке экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpathicus* RCAM04697 составила 78,2%. Кроме того, следует отметить, что по урожайности растения опытного варианта превосходили контрольные образцы. На обработанных делянках прибавка по валовой урожайности в опытных вариантах при норме расхода препарата 4 л/га составила 6,9 т/га (35,4%) (Григорян и др., 2018).

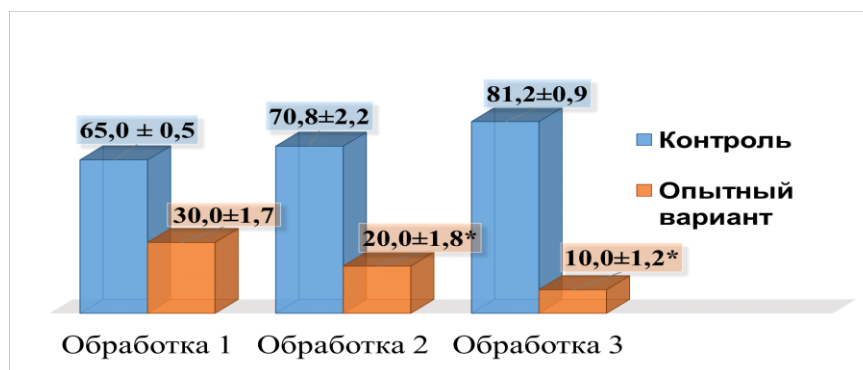


Рисунок 95 - Влияние экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 на распространение вирусных инфекций картофеля в полевом опыте, %

Прибавка урожайности товарного картофеля составила на вариантах с обработкой суспензией бактерий при норме расхода 4 л/га –7,6 т/га (47,2%). Биологическая эффективность экспериментального образца биопрепарата составила 77% (табл. 90).

Таблица 90 - Влияние экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 на урожайность картофеля

Вариант опыта	Урожайность, т/га	
	Валовая	Товарная
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697	26,4 ± 2,4	23,7 ± 1,7
Контроль	19,5 ± 1,1	16,1 ± 0,8

Образцы картофеля с подозрением на скрытую зараженность вирусной инфекцией подвергались ПЦР-диагностике. Всего диагностировано 40 растительных образцов картофеля и 40 клубней. Учитывая то, что в опыте 2 варианта с четырехкратной повторностью – с каждой делянки (повторности) отбирались растительные образцы в количестве 5 шт., а также клубни в количестве 5 шт. В результате исследования использовано 80 микрочипов на РНК-содержащие фитопатогены. ПЦР-диагностика проводилась три раза через 5 дней после обработок (29.08.2017г., 08.09.2017г., 18.09.2017г.).

Анализ результатов проводили с помощью программного обеспечения

микрочипового амплификатора нуклеиновых кислот в режиме реального времени «АриаДНА». В результате ПЦР – диагностики клубней картофеля во всех образцах установлено наличие вирусной инфекции (УВК) (табл. 91).

Таблица 91 - Результаты экспертизы картофеля методом ПЦР-диагностики через пять дней после каждой обработки

№ п/п	Варианты опыта	Пораженность картофеля, вирусными фитопатогенами, %							
		У-вирус	Х-вирус	М-вирус	А-вирус	S-вирус	Вирус скручивания	Вирус метельчатости	Вириод веретеновидности
после первой обработки – пролив под корень (учет 29.08.2017г.)									
1	Контроль	1,5	0	0	0	0	0	0	0
2	Экспериментальный образец биопрепарата	0,7	0	0	0	0	0	0	0
после второй обработки - опрыскивание (учет 08.09.2017 г.)									
3	Контроль	25,5	3,7	0	0	0	2,3	0	0
4	Экспериментальный образец биопрепарата	0,9	0	0	0	0	0	0	0
после третьей обработки пролив под корень (учет 18.09.2017 г.)									
5	Контроль	53,4	13,5	0	0	0	7,3	0	0
6	Экспериментальный образец биопрепарата	2,7	0	0	0	0	0	0	0

После первой обработки ПЦР-диагностика выявила лишь У-вирус картофеля, пораженность которым, в контроле превышает опытный вариант на 0,8%. Пораженность картофеля У-вирусом в контроле увеличилась в 17 раз. После опрыскивания помимо УВК обнаружен Х-вирус картофеля с пораженностью 3,7% и вирус скручивания с пораженностью 2,3%. Пораженность картофеля после второй обработки экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 оставалась на прежнем уровне и увеличилась лишь на 0,2%.

По результатам, полученным после третьей обработки, установлено, что в контрольном варианте увеличилась пораженность картофеля 3 вирусными фитопатогенами: У-вирус картофеля (53,4%), Х-вирус картофеля (13,5%)

вирус скручивания (7,3%).

В варианте с обработкой экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 не обнаружена зараженность другими видами фитопатогенов, а пораженность У-вирусом картофеля составила 2,7%, что на 95% ниже, чем в контроле, что свидетельствует о сдерживании развития и распространения вирусных возбудителей, оказываемом экспериментальным образцом биопрепарата.

Таким образом, установлено, что применение экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697, особенно на ранних стадиях развития картофеля, может быть одним из эффективных, экологически безопасных приемов снижения вредоносности фитовирусов.

По нашему мнению, экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 способствует улучшению функциональных показателей зараженных вирусами растений за счет активного роста растений и увеличения площади ассимиляционной поверхности, как корней, так и надземной массы, что влияет на усвоение питательных веществ и интенсификацию процессов фотосинтеза. Кроме того, экспериментальный образец биопрепарата может содержать фитогормональные и антибиотические вещества, антивирусная активность которых обусловлена усилением экспрессии защитных генов, синтезом стрессовых белков, фитоалексинов и индуцированием системной резистентности растений к фитопатогенам или неблагоприятным факторам.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ к ГЛАВЕ 12.**

Таким образом, штаммы актиномицетов и культуры цианобактерий оказали положительное влияние на рост и развитие томатов, перца, хлопчатника, картофеля: защищали от болезней, повышали всхожесть, биомассу и урожайность растений.

Проведенные испытания полученных экспериментальных образцов

биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 показали значительное снижение концентрации вируса, замедление развития вирус-индуцированных симптомов, уменьшение негативного влияния вирусной инфекции и, как следствие, улучшение физиологических показателей растений. Результаты антивирусной активности экспериментальных образцов биопрепаратов свидетельствуют об отрицательном действии на течение вирусной инфекции, и положительном влиянии на урожайность томатов и картофеля.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время накоплен большой объем знаний по цианобактериям и актиномицетам, как микроорганизмам с высокими адаптационными свойствами. Экосистемы аридных территорий переносят большой стресс, вследствие влияния экстремальных почвенно-климатических факторов, агро- и техногенеза. Актуальной является проблема поиска новых штаммов микроорганизмов, продуцирующих биологически активные вещества с широким спектром экологического влияния, обладающих полифункциональными свойствами, которые могут быть основой новых биопрепаратов, применяемых на таких территориях.

В работе изучили видовой и групповой состав циано-бактериальных сообществ природных и техногенно преобразованных экосистем на территории Астраханского региона. Показали, что цианобактерии выполняют роль структурообразователей в микробных комплексах почв за счет устойчивых к экстремальным факторам нитчатых и гетероцистных форм. Схожая роль структурообразователей описана для представителей семейства *Nostocaceae* в техногенных и экстремальных условиях другими исследователями (Домрачева, 1998, 2005; Pengand Bruns, 2019). В слизистых чехлах цианобактерий развиваются микроорганизмы - спутники, разлагающие мортмассу, используемую как субстрат. В наших исследованиях в качестве спутников цианобактерий обнаружили гетеротрофов, включающих микроорганизмы, способные усваивать высокие (сапротрофы) и низкие (олиготрофы) концентрации органических веществ; хемотрофов, разрушающие минеральные компоненты; амило- (актиномицеты) и сахаролитические (грибы), липолитические, микроорганизмы круговоротов азота и серы и др. Актиномицеты известны как постоянные спутники цианобактерий. И даже при искусственном получении двухкомпонентных циано-актиномицетных ассоциаций, установлено специфическое взаимодействие партнеров, проявляющееся в стимуляции роста компонентов в ассоциациях по сравнению с

монокультурами (Зенова, Омарова, 2007; Зенова и др., 2009).

В настоящем исследовании провели идентификацию цианобактерий и актиномицетов, выделенных из водных и почвенных экосистем Астраханской области. Выполнили полногеномное секвенирование штамма *S. carpaticus* RCAM04697, последовательность которого задепонировали в базе данных NCBI GenBank. Изучили взаимосвязь физико-химических факторов среды и видового состава цианобактерий в накопительных культурах, выявили особенности организации сообществ в различных экосистемах, исследовали трансформацию и состав метаболитов водных фототрофных комплексов в накопительных культурах. Учитывая, что аллелопатическая активность водорослей, цианобактерий и других микроорганизмов обусловлена, как правило, не одним специфическим для конкретных видов соединением, а совокупностью веществ разной природы, обнаруженные в экзометаболических комплексах разнообразные физиологически активные соединения, обладающие аллелохимическим потенциалом и оказывающие влияние на различные стороны метаболизма клеток цианобактерий и водорослей, очевидно, являются значимым фактором формирования и функционирования альгофлоры.

Изучили свойства цианобактерий и актиномицетов, значимые для сельскохозяйственной и экологической биотехнологии, провели лабораторные и полевые эксперименты, доказывающие эффективность применения этих микроорганизмов в качестве биоудобрений, средств защиты растений от грибных и вирусных болезней, для очистки окружающей среды от органических загрязнений в условиях аридного климата. Выявили состав вторичных метаболитов цианобактерий и актиномицетов, представляющие собой ценные соединения для различных областей биотехнологии. Итогом работы стала разработка экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов актиномицетов и цианобактерий с целью стимуляции роста и развития растений, повышения урожайности и защиты от фитопатогенных вирусов и грибов. В ходе работы выполнили комплекс научно-практических задач: помимо создания

экспериментальных образцов, разработали и утвердили технологическую схему получения и инструкцию по применению экспериментальных образцов; оформили акты производственных испытаний и акты внедрений, получили три патента на изобретение.

Проведенные исследования дают научную и практическую платформу увеличения устойчивости почвенных экосистем, повышения биоразнообразия в экстремальных аридных условиях окружающей среды. На основании результатов проведенных испытаний штаммы актиномицетов и культуры цианобактерий с фитостимулирующими, противовирусными, фунгицидными, антиоксидантными, колонизирующими, деструкционными свойствами, являющиеся продуцентами ценных вторичных метаболитов, могут быть рекомендованы в качестве основы биопрепаратов для агро и техногенных экосистем.

Полученные в ходе выполнения работы результаты направлены на решение таких важных экологических и сельскохозяйственных направлений, как экологизация сельского хозяйства, и применение экологически безопасных и эффективных микробиологических удобрений, и средств защиты растений; разработка биодеструкторов органических соединений для очистки сточных вод; разработка методов биоремедиации на техногенных территориях с помощью устойчивых к экстремальным факторам микроорганизмов.

## ВЫВОДЫ

1. Нитчатые цианобактерии родов *Phormidium* и *Oscillatoria* (семейство *Oscillatoriaceae*) отличаются значительным видовым разнообразием и являются основой циано-бактериальных комплексов в почвенных (*Phormidium*) и водных (*Oscillatoria*) природных и техногенных экосистемах аридной зоны. Сообщества являются многокомпонентными со спутниками: водорослями, микромицетами, бактериями, в том числе актиномицетами. Анализ видового состава цианобактерий техногенных водоёмов показал, что род *Oscillatoria* развивается в самом широком диапазоне гидрохимических факторов при концентрации сероводорода от 0,0003 г/л до 0,04 г/л, минерализации от 2,0 г/л до 383,7 г/л, pH от 5,5 до 9,0. По сравнению с природными экстремальными обитаниями, в техногенных водоемах не выявлено четко стратифицированных матов, цианобактерии в них образуют хлопья, пленки и обрастания.

2. Представители отдела Cyanobacteria составляют 71,3 % от общего числа изученных почвенных водорослей. Выявлено 64 вида цианобактерий. К числу наиболее распространенных относились виды рода *Phormidium*. Наибольшее число видов водорослей обнаружено в аллювиальных луговых и бурых полупустынных почвах. В солончаках и в бурых почвах присутствует максимальное количество цианобактерий 80,0%, по сравнению с другими водорослями. Анализ экологических особенностей показал доминирование Р – жизненной формы.

3. Из техногенных водоемов выделены цианобактерии и их сообщества, проявляющие деструкционные свойства по отношению к загрязняющим веществам засоленных пищевых сточных вод и обладающие антибактериальной (по отношению к *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*), протеолитической, липолитической, антиоксидантной активностью. Из почвенных экосистем выделены циано-бактериальные сообщества на основе родов *Anabaena*, *Nostoc*, *Oscillatoria*, *Phormidium* и культура цианобактерий *Anabaena constricta* IPPASB-2020 с фитостимулирующими, фунгицидными, колонизирующими,

антиоксидантными свойствами и устойчивостью к пестицидам. Водно-спиртовой экстракт цианобактерий *Anabaena constricta* IPPASB-2020 ингибировал рост всех исследуемых фитопатогенных микромицетов рода *Fusarium*.

4. Циано-бактериальные сообщества проявляют резистентные свойства по отношению к содержанию фосфатов от 0,04 г/л до 10 г/л и общему содержанию солей от 10 г/л до 400 г/л. При этом, под влиянием экстремальных значений реакции среды, температуры и общего содержания солей структура техногенных сообществ не изменяется, в то же время, под влиянием концентраций фосфора, происходит изменение морфологии сообществ. Наиболее устойчивыми к исследуемым факторам являются представители рода *Phormidium*. Выделенные сообщества образуют в накопительных культурах на разбавленной питательной средой воде водоема стратифицированные маты в течение 3-4 месяцев культивирования. Сообщества, выделенные из техногенного водоема с общим содержанием солей 383,7 г/л в накопительных культурах маты не образуют.

5. В результате трансформации накопительной культуры во время экспозиции обнаружен широкий спектр метаболитов водорослей, цианобактерий и их бактериальных спутников, которые отражали интенсивно протекающие между ними эколого-биохимические взаимодействия, в том числе и аллелопатические. Происходящие в накопительной культуре процессы привели к увеличению числа обнаруживаемых в культуральной жидкости НОС. Через месяц экспозиции в пробе обнаружено 53 соединения в сравнении с первой пробой речной воды (22 соединения), отличающейся разнообразием компонентного состава, увеличением доли терпенов, насыщенных углеводов, спиртов, альдегидов, кетонов.

6. В экосистемах аридной зоны почвенные циано-бактериальные сообщества синтезируют комплекс соединений и метаболитов: терпеноиды, флавоноиды (пеонидин 3,5-диглюкозид; кверцетин), алкалоиды (резерпин, бупренорфин, йохимбин), аспарагиновую, муравьиную, пропионовую, фумаровую,

изолимонную, молочную, уксусную, пировиноградную кислоты, кверцетин, пептид (цикло (L-глутаминил-L-триптофил-L-фенилаланилглицил-L-лейцил-L-метионил) и другие вещества, обладающие полезными антибактериальными, фитонцидными, фунгицидными свойствами.

7. Из засоленных почв выделен 21 штамм актиномицетов, из которых отобраны три штамма с фитостимулирующими свойствами, идентифицированные как *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883. Суспензии штаммов RCAM04697, RCAM04882, RCAM04883 безопасны и обладают антагонистической активностью по отношению к вирусным и грибным патогенам растений, что выражается в сдерживании развития вируса огуречной мозаики, вируса мозаики томата, вируса бронзовости томата, Y-вируса картофеля, X-вируса картофеля, вируса скручивания листьев картофеля и подавлении роста фитопатогенных микромицетов родов *Fusarium*, *Alternaria*, *Pythium*. Наибольшую антиоксидантную активность проявили суспензия (88,8%) и водно-спиртовой экстракт (76,0%) штамма RCAM04697.

8. Штаммы *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 синтезируют флавоноиды, алкалоиды и гликозиды, органические кислоты (изолимонная, уксусная, фумаровая, молочная, яблочная, лимонная, пировиноградная), антибиотики (нарбомицин, тилозин, форомацидин С, эритромицин), фенол – протокатеховый альдегид. В составе вторичных метаболитов штамма *S. carpaticus* RCAM04697 обнаружены низкомолекулярные органические соединения следующих групп: спиртов, альдегидов, углеводов, эфиров, сульфатов и других функциональных групп. Обнаруженные в составе метаболитов соединения 1,2-гександиол, 1-додеканол, этил 5-(пиридин-4-ил) - 1Н-пиразол-3-карбоксилат характеризуются противовирусными, противомикробными и противоопухолевыми свойствами.

9. Разработаны технологическая схема получения и инструкция по применению экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 на

томате и картофеле. Разработаны технологии получения и применения экспериментальных образцов на основе *Anabaena constricta* IPPASB-2020. По показателям вирулентности, диссеминации, токсичности и токсигенности штамм *S. carpaticus* RCAM04697 не является патогенным для теплокровных животных. На основании результатов проведенных испытаний штаммы могут быть рекомендованы, как продуценты ценных вторичных метаболитов, обладающих фитостимулирующими, противовирусными, антиоксидантными, колонизирующими, фунгицидными свойствами, и могут быть использованы в качестве основы биопрепаратов для агроэкосистем.

10. Экспериментальные образцы на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 могут быть использованы в стимуляции роста и развития томата, защиты от болезней, так как обеспечивали достоверную прибавку урожайности относительно контроля (без обработок) до 175,8% и проявляли противовирусные свойства в отношении возбудителей вирусов огуречной мозаики, мозаики томата и бронзовости томата. Обработка экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 оказывает стимулирующее действие на рост и развитие картофеля, позволяя получить достоверную прибавку урожайности относительно контроля (без обработок) на 35,4%, при этом зараженность типичными для картофеля видами фитовирусов не обнаружена, а пораженность Y-вирусом картофеля составляет 2,7%.

11. Циано-бактериальные сообщества и культура *Anabaena constricta* IPPASB-2020 могут быть использованы для повышения урожайности, качества и защиты растений от грибных болезней. Урожайность томатов с бактеризацией цианобактериями *Anabaena constricta* IPPASB-2020 составила 1,14 кг/куст, что на 0,83 кг/куст больше, чем в контроле. При обработке суспензией цианобактерий растения с симптомами фузариоза отсутствовали, в то время как в контроле составили 12%, что подтверждает высокую фунгицидную активность культуры цианобактерий.

## РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ РАБОТЫ

Полученная в ходе секвенирования полногеномная последовательность штамма *S. carpathicus* RCAM04697 может быть использована для аннотации геномов бактерий рода *Streptomyces*.

Изученные в настоящей работе штаммы микроорганизмов депонированы в международные коллекции микроорганизмов (IPPAS, ГКПМ-Оболensk, ВКСМ, GenBank NCBI) и доступны специалистам в различных областях биологии для фундаментальных и прикладных исследований.

Материалы диссертации могут быть использованы в учебном процессе в высших учебных заведениях по направлению «Биология, «Биотехнология», «Экология» и «Микробиология».

Полученные результаты могут служить основой для дальнейших исследований в направлении расширения полифункциональности биопрепаратов для сельскохозяйственной и экологической биотехнологии.

Разработанные экспериментальные образцы препаратов на основе штаммов актиномицетов и культуры цианобактерий с фитостимулирующими, противовирусными, фунгицидными, антиоксидантными, колонизирующими, деструкционными свойствами, являющиеся продуцентами ценных вторичных метаболитов, рекомендуются в качестве основы биопрепаратов для агро и техногенных экосистем.



**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Абдулин, И.Ф. Органические антиоксиданты как объекты анализа / И.Ф. Абдулин, Е.Н. Турова, Г.К. Будников // Завод. Лаборат. Диагност. Матер. – 2001. – Т. 167. - № 6. – С. 3-13.
2. Абрамова, Т.А. Изменение растительного покрова Прикаспия как отражение колебаний увлажненности и теплообеспеченности в голоцене / Т.А. Абрамова // Вод. Ресурсы. - 1983. - № 5. - С. 86-91.
3. Абушова, А.Р. Экологические особенности редких родов актиномицетов в почвах Азербайджана / А.Р. Абушова, С.А. Гасанова, М.А. Касимзаде // Вестник Днепропетр. Универс. Биология. - 2010. - Т. 2. - № 1. - С. 3-7.
4. Авраменко, С.В. Особенности биосинтеза хитинолитических ферментов культурой *Streptomyces griseus* VAR. *Streptomycini* / С.В. Авраменко, В.А. Галынкин // Прикл. Биох. и Микробиол. - 2010. - Т. 46. - № 4. - С. 443–447.
5. Агансонова, Н.Е. Биологическое обоснование использования метаболитов актиномицетов против оранжерейной белокрылки / Н.Е. Агансонова, В.А. Павлюшин // Вестник Защ. Раст. Пушкин: ВИЗР. - 2000. - № 3. - С. 20–28.
6. Агротехнологии и научное обеспечение интенсивного земледелия Нижней Волги на современном этапе / Составление и редакция: А.А. Жилкин, В.П. Зволинский, А.Ф. Туманян, В.И. Мухортов и др. – М.: Изд-во «Современные тетради», 2005. – 506 с.
7. Актуальные вопросы современной палеоальгологии: сб. науч. трудов. – Киев: Изд-во Наук. думка, 1986. - 160 с.
8. Актуганов, Г.Э. Биология развития актиномицетов / Г.Э. Актуганов, А.Р. Бикбаева. - М.: E-SCIO, 2019. - № 6 (33). – С. 577-580.
9. Алиева, А.А. Выделения актиномицетов из почв с использованием ультразвука / А.А. Алиева, Л.А. Гусейнова // Вестник Моск. гос. областного Универ. Серия: Естественные науки. - 2009. - № 1. - С. 106–108.

10. Андреева, В.М. Род *Chlorella*. Морфология, систематика, принципы классификации: вестник Ботанич. ин-та им. В. Л. Комарова АН СССР / В.М. Андреева; под ред. М. М. Голлербаха. – СПб: Наука, 1975. – 112 с.
11. Андреюк, Е.И. Цианобактерии / Е.И. Андреюк, Ж.Л. Коптева, В.В. Занина. - Киев: Наук. думка, 1990. - 159 с.
12. Андрианов, В.А. Геоэкологические аспекты деятельности Астраханского газового комплекса / В.А. Андрианов. – Астрахань: АГМА, 2002. - 245 с.
13. Андрианов, В.А. Оценка воздействия деятельности Астраханского газового комплекса на окружающую среду низовья Волги по качеству снежного покрова / В.А. Андрианов, Г.И. Сокирко // Экол. Сист. и Приб. - № 4. - 2000. - С. 17-23.
14. Андрианов, В.А. Сточные воды Астраханского газоконденсатного комплекса (АГК) и возможности их повторного использования / В.А. Андрианов, Г.А. Цих, В.П. Спириин // Вода: экология и технология. ЭКВАТЭК-96. Тез. докл. втор. междунаро. конгресс. – М., 1996. - С. 52.
15. Анисимова, О.С. *Streptomyces loidensis* и *Streptomyces herbaricolor* биологическое обоснование использования вторичных метаболитов для создания новых инсектоакарицидных биопрепаратов: автореф. дис. ... канд. биол. наук 03.00.02 / Анисимова Оксана Сергеевна. - Санкт-Петербург, 2008. - 19 с.
16. Антипчук, А. Ф. Микробиологический контроль в прудовых хозяйствах / А.Ф. Антипчук. - М.: Пищевая пром-ть, 1979. – 145 с.
17. Астафьева, О.В. Практические занятия блока «Технология получения биологических активных веществ» дисциплины «Технология белка и БАВ» / О.В. Астафьева, А.С. Баймухамбетова. - А.: Астраханский государственный университет, 2015. - 51 с.
18. Ашихмина, Т.Я. Реакция актиномицетов на ключевые факторы урбаногенного загрязнения почвы в модельном опыте / Т.Я. Ашихмина, Е.С. Соловьёва, И.Г. Широких // Теор. и Прикл. Экол. - 2012. № 2. - С. 98–104.

19. Бакеева, А.В. Биоремедиационные свойства фототрофных микроорганизмов из водоемов, загрязненных радиоактивными отходами: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.03 / Бакеева Альбина Владимировна. - Санкт-Петербург, 2011. - 18 с.
20. Бакиева, Г.Р. Эколого-флористический анализ почвенных водорослей и цианобактерий гор Тра-тау и Юрак-тау (Башкирия) / Г.Р. Бакиева, Л.С. Хайбуллина, Л.А. Гайсина, Р.Р. Кабиров // Почвоведение. - 2012. - № 9. - С. 974-982.
21. Бактериальная палеонтология. Под ред. А.Ю. Розанова. – М.: ПИН РАН, 2002. - 188 с.
22. Бакулин, В.М. Влияние перфтордекалина на рост актиномицетов и интенсификацию продукции стрептомицина и даунорубицина бактериями рода *Streptomyces* в технологии их глубинного культивирования / В.М. Бакулин, А.С. Туманов, Е.А. Мартинсон, С.Г. Литвинец, М.К. Бакулин, В.Б. Калининский // Антибиот. и Химиотер. - 2014. - Т. 59. - № 7, 8. - С. 3–7.
23. Бакулин, М.К. Характеристика антибиотической продуктивности бактерий рода *Streptomyces* при культивировании в среде с добавлением карбогала и перфторметилдекалина / М.К. Бакулин, А.С. Грудцына, А.Ю. Плетнева, А.С. Кучеренко, Л.В. Бакулина, В.В. Шведов // Биотехнология. - 2006. - № 5. - С. 39–44.
24. Барский, Е.Л. Фотосинтетическое выделение кислорода и фотоассимиляция CO<sub>2</sub> цианобактериями, образующими пятна «цветения» в серном источнике с высоким содержанием сульфида / Е.Л. Барский, К.А. Никитина, Г.Г. Белогурова, Н.В. Горская, М.А. Гусев // Микробиология. - 1980. - № 2. - С. 210-214.
25. Батаева, Ю.В. Ассоцианты цианобактерий рода *Phormidium* высокоминерализованных водоемов Нижнего Поволжья / Ю.В. Батаева, И.С. Держинская // Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии

- микроорганизмов: Всероссийский симпозиум с международным участием, Москва, МГУ имени М.В. Ломоносова, биол. фак. - М.: МАКС Пресс, 2009. с. 23.
26. Батаева, Ю.В. Биоразнообразие цианобактерий в почвах Астраханской области // Ю.В. Батаева, И.С. Держинская, Мвале Камукамба // Юг России: Экол., Разв. - 2010. - № 4. - С. 76-78.
27. Батаева, Ю.В. Влияние экстремальных гидрохимических условий на видовой состав цианобактерий в водоемах Нижней Волги: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.07 / Батаева Юлия Викторовна. – М., 2005. - 23 с.
28. Батаева, Ю.В. Скрининг циано-бактериальных сообществ из экосистем Нижнего Поволжья, обладающих ростстимулирующими свойствами / Ю.В. Батаева, И.С. Держинская, Чан Минь Куан, Мвале Камукамба // Вестник Алт. Гос. Аграр. Универс. – 2012. - № 2 (88). - С. 46-49.
29. Батаева, Ю.В. Хромато-масс-спектрометрическое исследование экзогенных метаболитов альго-бактериальных сообществ в накопительной культуре / Ю.В. Батаева, Е.А. Курашов, Ю.В. Крылова // Вода: Хим. и Экол. - 2014. - № 9 (75). - С. 59-68.
30. Безуглова, О.С. Биогеохимия: учебник для студентов высших учебных заведений. Серия «Учебники, учебные пособия» / О.С. Безуглова, Д.С. Орлов. – Ростов н/Д: «Феникс», 2000. – 320 с.
31. Белых, О.И. Выявление токсичных *Microcystis* в озере Котокельское (Бурятия) / О.И. Белых, И.В. Тихонова, Е.Г. Сороковикова // Вестник Томс. Гос. Универс. Биология. – 2009. - № 330. – С. 172–175.
32. Белюченко, И.С. Значение актиномицетов в трансформации органического вещества в аграрных ландшафтах / И.С. Белюченко // Экол. вестник Сев. Кавказа. - 2018. - № 14 (1). - С. 38–44.
33. Белякова, Р.Н. Водоросли, вызывающие «цветение» водоемов Северо-Запада России: учеб. пособие для биологич. специальностей вузов / Р.Н. Белякова, Л.И. Волошко, О.В. Гаврилова. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2006. – 367 с.

34. Березовский, В.М. Химия витаминов / В.М. Березовский. – М.: Пищевая промышленность, 1973. – 632 с.
35. Бессолицына, Е.А Биология цианобактерий конспект лекций: учебно-методическое пособие / Е. А. Бессолицына – Киров: ФГБОУ ВПО «ВятГУ», 2012. – 51с.
36. Бибикова, М.В. Штамм *Streptomyces sp.* 17 - продуцент олигомицина SC-II (характеристика продуцента, биологические свойства антибиотика) / М.В. Бибикова, Н.Э. Грамматикова, И.А. Спиридонова, А.Н. Даниленко, А.В. Катлинский // Антибиот. и Химиотер. - 2012. - Т. 57. - № 78. - С. 3–6.
37. Бильдушкинов, Б.Б. Термофильные цианобактерии из цианобактериального сообщества / Б.Б. Бильдушкинов, Л.М. Герасименко // Микробиология. - 1985. - Т. 54. - № 3. - С. 490-493.
38. Богданова, А.В. Флора почвенных водорослей и цианобактерий техногенно-засоленных территорий башкирского Предуралья / А.В. Богданова, Л.А. Гайсина, А.И. Фазлутдинова, Н.В. Суханова // Известия Самарс. Науч. центра РАН. - 2010. - Т.12. - № 1 (4). - С. 989-992.
39. Богданова, А.В. Флора почвенных водорослей и цианобактерий техногенно-засоленных территорий Башкирского Предуралья / А.В. Богданова Л.А. Гайсина, А.И. Фазлутдинова, Н.В. Суханова // Известия Самарс. Науч. центра РАН. - 2010. - Т. 12. - №1 (4). - С. 989-992.
40. Бойкова, И.В. Актиномицеты - основа новых биопрепаратов для защиты растений от вредных членистоногих / И.В. Бойкова, В.А. Павлюшин // Информ. бюллетень ВПРС МОББ. - 2002. - № 33. - С. 102–113.
41. Бойкова, И.В. Антибиотик немедицинского назначения имбрицин: биологическая активность, экологическая безопасность и перспективы использования для защиты растений / И.В. Бойкова, В.А. Колодязная, В.В. Белахов // Фитосанитарные технологии в обеспечении независимости и конкурентоспособности АПК России. Сборник тезисов докладов. – Санкт-Петербург, 2019. – 105 с.

42. Бойкова, И.В. Индоцид и гербен - перспективные биопрепараты для закрытого грунта / И.В. Бойкова, Е.Г. Козлова, О.С. Анисимова, А.В. Кононенко // Защ. и Карант. Раст. - 2007. - № 9. - С. 40-41.
43. Бойкова, И.В. Эффективность нового препарата на основе *Streptomyces sp.* ВИЗР-003 для борьбы с галловой нематодой / И.В. Бойкова, Л.А. Гуськова, А.Ю. Петров // Фитосанитарное оздоровление экосистем. Материалы Второго Всероссийского съезда по защите растений: в 2-х томах. - Санкт-Петербург, 2005. - С. 14–18.
44. Болатхан, К. Выделение и характеристика токсичных цианобактерий из различных природных источников / К. Болатхан, Н.Р. Акмуханова, Б.К. Заядан, А.К. Садвакасова, М.А. Синетова, Д.А. Лось // Биотехнология. – 2016. - Т. 32. - № 3. - С. 57–66.
45. Большев, Н.Н. Водоросли и их роль в образовании почв / Н.Н. Большев. - М.: Изд-во Московского университета, 1968. – 105 с.
46. Бонч-Осмоловская, Е.А. Гиперсоленые лагуны оз. Сиваш и анаэробная деструкция органического вещества в галофильных циано-бактериальных матах / Е.А. Бонч-Осмоловская, И.Я. Веденина, Г.А. Заварзин // Микробиология. - 1988. - Т. 57. - С. 442-447.
47. Бонч-Осмоловская, Е.А. Экстремофильные микроорганизмы. В кн.: «Экология микроорганизмов: учеб. для студ. вузов / под ред. А.И. Нетрусова. – М.: Издательский центр «Академия», 2004. – 272 с.
48. Бубнова, Н.П. Методические указания гидрометеорологическим станциям и постам по отбору, подготовке проб воды и грунта на химический и гидробиологический анализ / Н.П. Бубнова. - М.: Гидрометеоиздат, 1980. - 14 с.
49. Булгакова, В.Г. Устойчивость актиномицетов-продуцентов к собственным антибиотикам / В.Г. Булгакова, Т.И. Орлова, А.Н. Полин // Антибиот. и Химиотер. - 2010. - Т. 55. - № 1, 2. - С. 42–49.
50. Бунас, А.А. Антагонізм ізолятів роду *Streptomyces* до фітопатогенних грибів / А.А. Бунас // Агроекол. журнал. - 2011. - № 4. - С. 95–96.

51. Бурзин, М.Б. Докембрийские предтечи «пионеров суши» / М.Б. Бурзин // Природа. - 1998. - № 3. - С. 83-95.
52. Бурзин, М.Б. Тенденции в эволюции бентосной растительности в позднем докембрии / М.Б. Бурзин // Альгология. - 1996. - Т.6. - № 4. - С. 407-425.
53. Бурзин, М.В. Способы фоссилизации Oscillatoriales (Cyanophyta): влияние типа сохранности на разнообразие микрофоссилий / М.В. Бурзин, В.К. Орлеанский // Альгология. – 1995. - № 1. – С. 78-84.
54. Бурцева, С.А. Антагонизм бактерий р. *Bacillus* и р. *Streptomyces* почв Молдовы к возбудителям болезней сельскохозяйственных растений / С.А. Бурцева, В.Э. Шубина, М.Н. Бырса, Ю.Н. Березюк // Вестник защ. Раст. - 2016. - № 3. - С. 36–37.
55. Бурцева, С.А. Антагонизм по отношению к фитопатогенным бактериям и грибам и фиторегулирующая активность стрептомицетов черноземов Молдовы / С.А. Бурцева, М.Н. Бырса, С.Н. Маслоброд // Аграр. наука. - 2019. - № 1. - С. 131-136.
56. Бурцева, С.А. Положение стрептомицетов в наземных экосистемах / С.А. Бурцева, М.Н. Бырса, В.Э. Шубина, Ю.Н. Березюк, А.В. Васильчук // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем Материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. - Киров, 2016. - С. 346–350.
57. Бурцева, С.А. Эффект предпосевной обработки семян томатов метаболитами стрептомицетов почв Молдовы / С.А. Бурцева, Н.А. Пойрас, М.Н. Бырса, Л.Н. Пойрас // Биоразнообразие и рациональное использование природных ресурсов. Материалы II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. - Махачкала, 2014. - С. 213–216.
58. Вассер, С.П. Водоросли. Справочник / С.П. Вассер, Н.В. Кондратьева, Н.П. Масюк. - Киев: Наукова думка, 1989. - 608 с.
59. Вассер, С.П. Водоросли. Справочник / С.П. Вассер, Н.В. Кондратьева, Н.П. Масюк. - Киев: Наукова думка, 1989. - 608 с.

60. Вельков, В.В. Стандартизация формата описаний промышленных технологий биоремедиации / В.В. Вельков // Биотехнология. – 2001. – № 2. – С. 70-76.
61. Вернадский, В.И. Биогеохимические очерки / В.И. Вернадский. - Изд. академии наук СССР, 1940. – 250 с.
62. Виноградова, К.А. Биоплёнки стрептомицетов. Применение в биотехнологии / К.А. Виноградова, В.Г. Булгакова, А.Н. Полин, П.А. Кожевин // Антибиот. и Химиотер. - 2016. - Т. 60. - № 8. - С. 23-25.
63. Власов, Ю.И. Растения – индикаторы для диагностики вирусов / Ю.И. Власов // Защ. Раст. - Санкт-Петербург. - 1960. - № 3. - С. 49-50.
64. Вознесенская, Л.М. Климатические особенности и опасные явления погоды Астраханской области в 20 в. / Л.М. Вознесенская, Э.И. Бесчетнова. – Астрахань: Изд-во «Нова», 2002. - 112 с.
65. Воронин, Н.И. История развития земной коры на примере юго-востока Восточно-Европейской и севера Скифско-Туранской платформ / Н.И. Воронин. - Астрахань: Изд-во АГПИ, 1994. - 68 с.
66. Гаель, А.Г. Водоросли на песках аридных областей и их роль в формировании почв / Гаель А.Г., Штина Э.А. // Почвоведение. - 1974. - № 6. - С.67-75.
67. Гайсина, Л.А. Современные методы выделения и культивирования водорослей: учебное пособие / Л.А. Гайсина, А.И. Фазлутдинова, Р.Р. Кабиров. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2008. – 152с.
68. Гапочка, Л.Д. Об адаптации водорослей / Л.Д. Гапочка. – М.: Изд-во МГУ, 1981. – 80 с.
69. Гаузе, Г.Ф. Определитель актиномицетов. Роды *Streptomyces*, *Streptoverticilium*, *Chainia* / Г.Ф. Гаузе, Т.П. Преображенская, М.А. Свешникова, Л.П. Терехова, Т.С. Максимова. - М.: Наука, 1983. - 248 с.
70. Гаузе, Г.Ф. Пути изыскания новых антибиотиков / Г.Ф. Гаузе. - М.: АН СССР, 1958. - 172 с.



71. Гейн, В.Л. Пермская государственная фармацевтическая академия. Новый синтез этил 6-амино-4-арил-5-циано-1,4-дигидропирано [2,3-с] пиразол-3-карбоксилатов / В.Л. Гейн, Т.М. Замараева, И.В. Козулина // Журнал органической химии. - 2014. - Т. 50. - № 5. - С. 703-705.
72. Герасименко, Л.М. Маты *Microcoleus* из алкалофильных и галофильных сообществ / Л.М. Герасименко, Л.Л. Митюшина, Б.Б. Намсараев // Микробиология. – 2003. – Т. 72. № 1. – С. 84-92.
73. Герасименко, Л.М. Актуалистическая палеонтология циано-бактериальных сообществ: автореф. дис. ... докт. биол. наук: 03.00.07 / Герасименко Людмила Михайловна. – М., 2002. - 72 с.
74. Герасименко, Л.М. Алкалофильные цианобактерии содовых озёр Тувы и их экофизиология / Л.М. Герасименко, А.В. Дубинин, Г.А. Заварзин // Микробиология. - 1996. - Т. 65. - № 6. - С. 736-740.
75. Герасименко, Л.М. Алкалофильные цианобактерии содовых озёр Тувы и их экофизиология / Л.М. Герасименко, А.В. Дубинин, Г.А. Заварзин // Микробиология. – 1996. – Т. 65. № 6. – С.736-740.
76. Герасименко, Л.М. Альгобактериальные сообщества гиперсолёных лагун Сиваша (Крым) / Л.М. Герасименко, С.Л. Венецкая, А.В. Дубинин, В.К. Орлеанский, Г.А. Заварзин // Альгология. - 1992. – 2. - № 2. - С. 88-94.
77. Герасименко, Л.М. Влияние содержания фосфора в среде на рост и минерализацию цианобактерий / Л.М. Герасименко, И.В. Гончарова, Л.В. Зайцева // Микробиология. – 1998. – 67. - Вып. 2. – С. 249-254.
78. Герасименко, Л.М. Процесс минерализации (фосфатизации) нитчатых цианобактерий / Л.М. Герасименко, И.В. Гончарова, Е.А. Жегалло, Г.А. Заварзин, Л.В. Зайцева, В.К. Орлеанский, А.Ю. Розанов, Н.С. Тихомирова, Г.Т. Ушатинская // Литол. и Полезн. Ископ. - 1996. - № 2. - С. 208-214.
79. Герасименко, Л.М. Термофильные альго-бактериальные сообщества гидротерм кальдеры Узон (Камчатка) и их газовый обмен / Под ред. А.А.

Имшенецкого // Биология термофильных микроорганизмов. - М.: Наука, 1985. - С. 44-47.

80. Герасименко, Л.М. Термофильные альго-бактериальные сообщества гидротерм кальдеры Узон (Камчатка) и их газовый обмен / Л.М. Герасименко. - М.: Наука, 1985. – С. 44-47.

81. Герасименко, Л.М. Фосфатизация. В кн.: «Бактериальная палеонтология» / Л.М. Герасименко, Г.Т. Ушатинская; под ред. А.Ю. Розанова. – М.: ПИН РАН, 2002. – 188 с.

82. Герман, Т.Н. Органический мир миллиард лет назад / Т.Н. Герман. - Л.: Наука, 1990. – 51 с.

83. Гецен, М.В. Водоросли в экосистемах Крайнего Севера / М.В. Гецен. - Л.: Наука, 1985. - 163 с.

84. Гиббс, А. Основы вирусологии растений / А. Гиббс, Б. Харрисон. - М.: Мир, 1978. - 430 с.

85. Гиляров, А.М. Популяционная экология / А.М. Гиляров. - М.: МГУ, 1990. - 191 с.

86. Глаголева, О.Б. Экологическая характеристика бактериального звена альгобактериальных ассоциаций / О.Б. Глаголева, Г.М. Зенова // Почвоведение. - 1992. - № 3. - С. 19-25.

87. Глазер, Г. Исследования влияния ирригации на экологические условия / Г. Глазер // Пробл. Осв. пустынь. – 1986. - № 6. - С. 18-24.

88. ГН 2.1.5.1315-03 Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования.

89. Голлербах, М.М. Водоросли, их строение, жизнь и значение / М.М. Голлербах. - М.: Изд-во Моск. об-ва исп. прир., 1951. – 176 с.

90. Голлербах, М.М. Определитель пресноводных водорослей СССР / М.М. Голлербах, Е.К. Косинская, В.И. Полянский. М.: «Сов. наука», 1953. Вып. 2. - 665 с.

91. Голлербах, М.М. Положение сине-зеленых водорослей в системе растительного мира и их филогенетические связи. В кн.: Биология синезелёных водорослей / М.М. Голлербах, Э.Г. Кукк. - М.: Изд-во МГУ, 1964. - С. 11-24.
92. Голлербах, М.М. Почвенные водоросли / М.М. Голлербах, Э.А. Штина. – Л.: Наука, 1969. - 228 с.
93. Голованов, В.А. Применение фитопрепаратов для придания антимикробных свойств текстильным материалам / В.А. Голованов, А.С. Абрамова, О.П. Сумская // Вост.-Европ. журнал передовых Технол. - 2011. - Т.4. - № 6 (52). - С. 6-9.
94. Гольдин, Е.Б. Антибактериальная активность альгологически чистых культур цианобактерий и микроводорослей / Е.Б. Гольдин // Мікробіол. журн. – 2003. – Т. 65. - № 4. – С. 68–76.
95. Гольдин, Е.Б. Биологическая активность микроводорослей и ее значение в межвидовых взаимоотношениях / Е.Б. Гольдин // Экосист., их Оптимиз. и Охр. - 2013. - Вып. 9. - С. 49-76.
96. Гольдин, Е.Б. Цианобактерии в смешанных культурах и их биоцидная активность / Е.Б. Гольдин // Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах. – Киров. - 2010. – С. 84–88.
97. Гольдин, Е.Б. Эколого-биологическое значение терпенов и их практическое использование: методологические аспекты / Е.Б. Гольдин, В.Г. Гольдина // Экосист., их Оптимиз. и Охр. - 2011. - Вып. 4. - С. 104-111.
98. Горбунова, Е.В. Технологические особенности комплексной переработки целых растений фенхеля обыкновенного / Е.В. Горбунова // Техника и Технол. Пищ. производств. - 2013. - № 3. - С. 9-15.
99. Горленко, В.М. Продукционные процессы в микробных сообществах горячего источника Термофильного / В.М. Горленко, Д.А. Старынин, Е.А. Бонч-Осмоловская, В.И. Качалкин // Микробиология. - № 5. - 1987. - С. 872-878.

100. Горленко, В.М. Фототрофные бактерии в термальных источниках. В кн.: Биология термофильных микроорганизмов / В.М. Горленко, Е.И. Компанцева, Н.Н. Пучкова. – М.: Наука, 1986. – С. 96-101.
101. Горностаева, Е.А. Потенциал природных биопленок *Nostoc commune* как сорбентов тяжелых металлов в водной среде / Е.А. Горностаева, А.И. Фокина, Л.В. Кондакова, С.Ю. Огородникова, Л.И. Домрачева, Д.С. Лаптев, Э.М. Слостникова // Вода: Хим. и Экол. - 2013. - № 1. - С. 93–101.
102. Горюнова, С.В. Прижизненные выделения азотсодержащих веществ *Lyngbya aestuarii* и их физиологическая роль. В сб.: Биология сине-зеленых водорослей / С.В. Горюнова, Г.Н. Ржанова. М.: Изд-во Моск. универ., 1964. – С. 111-118.
103. Горюнова, С.В. Прижизненные выделения водорослей, их физиологическая роль и влияние на общий режим водоёмов / С.В. Горюнова // Гидробиол. ж. – 1966. - С. 80.
104. Горюнова, С.В. Сине-зелёные водоросли (Биохимия, физиология, роль в практике) / С.В. Горюнова, Г.Н. Ржанова, В.К. Орлеанский. – М.: «Наука», 1969. - 230 с.
105. ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. Сборник ГОСТов. - М.: Стандартинформ. 1984. – 36 с.
106. ГОСТ 17.1.3.07-82. Охрана природы. Гидросфера. Правила контроля качества воды водоёмов и водотоков. – М. 1982. – 12 с.
107. ГОСТ 17.1.5.05-85. Общие требования к отбору проб поверхностных и морских вод, льда и атмосферных осадков. – М. 1985. – 13 с.
108. ГОСТ 17.4.4.02-2017. Охрана природы (ССОП). Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа. Сборник ГОСТов. - М.: Стандартинформ. 2019. – 11 с.
109. ГОСТ 21820,1-76. Семена хлопчатника. Метод определения всхожести. – М.: Стандартинформ. 2010. - 6 с.

110. ГОСТ 26657-85. Фотометрический ванадиевомолибдатный метод определения содержания фосфора. - М.: Стандартинформ. 1997. – 18 с.
111. ГОСТ 30425-97. Консервы. Метод определения промышленной стерильности. Сборник ГОСТов. - М.: Стандартинформ. 2010. – 16 с.
112. ГОСТ 30726-2001. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий вида *Escherichia coli*. Сборник ГОСТов. - М.: Стандартинформ. 2001. – 8 с.
113. ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002). Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*. Сборник ГОСТов. - М.: Стандартинформ. 2010. – 30 с.
114. ГОСТ 32064-2013. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий семейства *Enterobacteriaceae*. Сборник ГОСТов. - М.: Стандартинформ. 2013. – 28 с.
115. ГОСТ 33044-2014. Принципы надлежащей лабораторной практики – М.: Стандартинформ. 2019. – 11с.
116. Грачёва, Т.А. Поиск продуцентов антибиотиков у стрептомицетов из ассоциаций с почвенными беспозвоночными животными / Т.А. Грачёва // Человек и природа. Материалы XXVII Международной междисциплинарной конференции и Международной междисциплинарной молодежной школы. - Крым, 2017. - С. 33–34.
117. Григорян, Л.Н. Влияние бактерий р. *Streptomyces sp.* на вирусные болезни картофеля / Л.Н. Григорян, Ю.В. Батаева, В.А. Шляхов // Достижения молодых ученых в развитии сельскохозяйственной науки и АПК: сборник материалов всероссийской научной конференции с международным участием. - с. Солёное Займище: ФГБНУ «ПАФНЦ РАН», 2019. - С. 80-82.
118. Григорян, Л.Н. Микробиологический состав засоленных почв аридных территорий / Л.Н. Григорян, Ю.В. Батаева, Л.В. Яковлева, В.А. Шляхов // Совр. наука: Акт. Пробл. Теор. и Практ. Серия «Ест. и Техн. науки». - 2018. - № 12. - С. 6-14.

119. Григорян, Л.Н. Оценка биологической эффективности бактерий *Streptomyces sp.*, выделенных из засоленных почв аридной зоны, в отношении возбудителей вирусных болезней картофеля / Л.Н. Григорян, Ю.В. Батаева, В.А. Шляхов, Е.Д. Андреева, М.А. Егоров // Совр. наука: Акт. Пробл. Теор. и Практ. Серия «Ест. и Техн. науки». - 2018. - № 12. - С. 14-22.
120. Гришко, В.Н. Мицелиальные актинобактерии засоленных почв Аридных территорий Украины и России / В.Н. Гришко, О.В. Сыщикова, Г.М. Зенова, П.А. Кожевин, М.С. Дуброва, Д.А. Лубсанова, И.Ю. Чернов // Почвоведение. - 2015. - № 1. - С. 81–86.
121. Гришко, В.Н. Структурно-функциональные особенности сообщества актиномицетов в некоторых черноземах и засоленных почвах Украины / В.Н. Гришко, О.В. Сыщикова // Почвоведение. - 2010. - № 2. - С. 221–228.
122. Громов, Б.В. Положение синезеленых водорослей в системе прокариот / Б.В. Громов // Вестн. ЛГУ. - 1981. - № 21. – С. 100-105.
123. Громов, Б.В. Цианобактерии в биосфере / Б.В. Громов // Сорос. Образов. журн. - 1996. - № 9. - С. 33-39.
124. Громовых, Т.И. Биологические особенности нового штамма *Streptomyces lateritius* 19/97-М, перспективного для использования в растениеводстве / Т.И. Громовых, Ю.А. Литовка, В.С. Садыкова, И.Г. Габидулина // Биотехнология. - 2005. - № 5. - С. 43–48.
125. Гусев, М.В. Влияние нефтяных углеводов на жизнеспособность цианобактерий в ассоциации с нефтеокисляющими бактериями / М.В. Гусев, М.А. Линькова, Т.В. Коронелли // Микробиология. - 1982. - Т. 51. - Вып. 6. - С. 932-936.
126. Гусев, М.В. Изучение ассоциации цианобактерий и нефтеокисляющих бактерий в условиях нефтяного загрязнения методом полного факторного эксперимента / М.В. Гусев, Т.В. Коронелли, М.А. Линькова, В.В. Ильинский // Микробиология. - 1981. – Т. 50. - Вып. 6. – С. 1097-1103.

127. Гусев, М.В. Общая микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минеева. - М.: МГУ, 1993. - 460 с.
128. Гусев, М.В. Цветение и деструкция цианобактерий в бассейне сероводородного источника Старой Мацесты / М.В. Гусев, К.А. Никитина, Н.В. Горская, Н.Г. Белогурова, В.В. Мочалов // Микробиология. – 1979. - № 6. – С. 1093-1101.
129. Гусев, М.В. Цианобактерии / М.В. Гусев, К.А. Никитина. - М.: Наука, 1979. - 227 с.
130. Давыдов, Д.А. Цианопрокариоты и их роль в процессе азотфиксации в наземных экосистемах Мурманской области / Д.А. Давыдов. - М.: ГЕОС, 2010. – 183 с.
131. Давыдова, Е.М. Технология получения авермектинового комплекса, продуцируемого культурой *Streptomyces avermitilis*: дис... канд. тех. наук: 05.18.10 / Давыдова Елена Михайловна. – М., 2001. - 165 с.
132. Дегтярева, Е.А. Почвенные актиномицеты как потенциальные биофунгициды / Е.А. Дегтярева, К.А. Виноградова, А.В. Александрова, В.А. Филоненко, П.А. Кожевин // Вестник Моск. универс. Серия 17: Почвоведение. - 2009. - № 2. - С. 22–26.
133. Дембицкий, В.М. Дикарбоновые и жирные кислоты цианобактерий рода *Aphanizomenon* / В.М. Дембицкий, И. Шкроб, И.В. Гоу // Биохимия. - 2001. - Т.66. - № 1. - С. 92-97.
134. Дембицкий, В.М. Разветвленные алканы и другие неполярные соединений, продуцируемые цианобактерией *Microcoleus vaginatus* из пустыни Негев / В.М. Дембицкий, И. Дор, И. Шкроб, М. Аки // Биоорг. химия. - 2001. - Т. 27. - № 2. - С. 130-140.
135. Дембицкий, В.М. Углеводородные и жирнокислотные компоненты в культурах нитевидных цианобактерий *Scytonema sp.*, выделенных из микробного сообщества «Black Cover» известняковых стен в Иерусалиме / В.М. Дембицкий // Биохимия. - 2002. - № 11. - С.1545-1552.

136. Демьянкова, М.В. Изыскание продуцентов природных противогрибковых антибиотиков, активных в отношении фитопатогенных грибов / М.В. Демьянкова, В.С. Садыкова, А.А. Глухова, Ю.В. Бойкова, Н.Д. Малкина, Т.А. Ефименко, Т.Д. Иванкова, Л.П. Терехова, О.В. Ефременкова // Политемат. сетевой Электр. Науч. Ж. Кубанс. Гос. Агр. Универс. – 2020. - № 159. – С. 147-164.
137. Джафаров, М.Х. Стероиды: Строение, получение, свойства и биологическое значение, применение в медицине и ветеринарии / М.Х. Джафаров, С.Ю. Зайцев, В.И. Максимов. - СПб.: Лань, 2010. - 288 с.
138. Держинская, И.С. Альго-бактериальные аспекты интенсификации биогидрохимического круговорота в техногенных экосистемах: автореф. дис. .... докт. биол. наук: 03.00.18 / Держинская Ирина Станиславовна. – М., 1993. - 51 с.
139. Держинская, И.С. Интенсификация процессов редукции в специфических экосистемах: автореф. дис. ...канд. биол. наук. 03.00.18 / Держинская Ирина Станиславовна. – М., 1987. - 24 с.
140. Держинская, И.С. Микробиологическая редукция лигнинов / И.С. Держинская. – М., 1989. – 118 с. - Деп. научные работы. Библиографический указатель ВИНТИ. Медбиоэкономика, № 5.
141. Держинская, И.С. Особенности формирования цианобактериального мата в сточной воде / И.С. Держинская // Биолог. науки. – 1992. - № 10. - С.138-143.
142. Держинская, И.С. Питательные среды для выделения и культивирования микроорганизмов: учеб. пособие / И.С. Держинская. - Астрахань: Изд-во АГТУ, 2008. – 348 с.
143. Держинская, И.С. Современные представления о техногенных экосистемах / И.С. Держинская // Проблемы и перспективы реабилитации техногенных экосистем: Материалы Международной научно-практической конференции. - Астрахань: Изд-во АГТУ, 2005. – С. 6-12.



144. Держинская, И.С. Состав и свойства техногенных альгобактериальных сообществ / И.С. Держинская, Д.И. Саинов, О.Б. Сопрунова, Р. Адисса Амину // Вестник АГТУ. – 1996. - Вып. 2. - С. 84-86.
145. Дидович, С.В. Биотехнологический потенциал почвенных цианобактерий (обзор) / С.В. Дидович, С.В. Москаленко, А.Д. Темралеева, С.А. Хапчаева // Вопросы Совр. Альгол. - 2017. - №2 (14). URL: <http://algology.ru/1170>.
146. Динамика процессов опустынивания Северо-Западного Прикаспия: физико-географические и социально-экономические аспекты: атлас-монография [Электронный ресурс] / В.А. Бананова, К.М. Петров, В.Г. Лазарева, А.С. Унагаев // Национальный цифровой ресурс Руконт - межотраслевая электронная библиотека (ЭБС) на базе технологии Контекстум. – 2016. - 91 с. Режим доступа: <http://rucont.ru/efd/388835>.
147. Добровольский, Г.В. Структурно-функциональная роль почв и почвенной биоты в биосфере / Г.В. Добровольский. – М.: Наука, 2003. - 364 с.
148. Долженко, В.И. Методические указания по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, моллюскоцидов и родентицидов в сельском хозяйстве / В.И. Долженко. - Спб.: Всероссийский НИИ защиты растений, 2009. - 321 с.
149. Доливо-Добровольский, Л.Б. Биологические пруды в системе сельскохозяйственного использования сточных вод. В сб.: Труды центральной научно-исслед. станции по с/х использованию сточных вод / Л.Б. Доливо-Добровольский, 1969. - Вып. 1. - С. 162-164.
150. Домрачева, Л. И. Оптимизация микробиологического состава биопрепарата при выращивании лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus* L.) / Л.И. Домрачева, Д.В. Козылбаева, А.Л. Ковина, Л.В. Трефилова, Ю.Н. Зыкова, М.Н. Грипась, В.А. Изотова // Теор. и Прикл. Экол. - 2019. - № 1. - С. 94-101.
151. Домрачева, Л.И. «Цветение» почвы в агроэкосистемах и закономерности его развития: автореф. дис. ... докт. биол. наук: 03.00.27, 03.00.07 / Домрачева Людмила Ивановна. – М., 1998. – 46 с.

152. Домрачева, Л.И. Антифузариозное действие цианобактерий и актиномицетов в почве и ризосфере / Л.И. Домрачева, И.Г. Широких, А.И. Фокина // Микол. и Фитопат. - 2009. - Т. 43. - Вып. 2. - С. 157-165.
153. Домрачева, Л.И. Биоремедиационный потенциал почвенных цианобактерий (обзор) / Л.И. Домрачева, Л.В. Кондакова, Л.Б. Попов, Ю.Н. Зыкова // Теор. и Прикл. Экол. - 2009. - № 1. - С. 8–17.
154. Домрачева, Л.И. Использование почвенных цианобактерий в агрономической практике. В кн.: Инновационное развитие агропромышленного комплекса как фактор конкурентоспособности: проблемы, тенденции, перспективы. Коллективная монография. / Л.И. Домрачева, Ю.Н. Зыкова, Л.В. Трефилова, А.Л. Ковина. - Киров, 2020. - С. 22-39.
155. Домрачева, Л.И. Цианобактериальные симбиозы и возможность их практического использования (обзор) / Л.И. Домрачева, А.Л. Ковина, Л.В. Кондакова, Т.Я. Ашихмина // Теор. и Прикл. Экол. - 2021. - № 3. - С. 21-30.
156. Домрачева, Л.И. «Цветение» почвы и закономерности его развития / Л.И. Домрачева. - Сыктывкар: Коми НЦ УрО РАН, 2005. - 336 с.
157. Дорофеев, А.Г. Роль фосфат-аккумулирующих бактерий в биологической очистке сточных вод от фосфора (обзор) / А.Г. Дорофеев, Ю.А. Николаев, А.В. Марданов, Н.В. Пименов // Прикл. Биох. и Микробиол. – 2020. - Т. 56. - № 1. - С. 3–18.
158. Дорофеева, Л.В. Новые актиномицеты семейства Microbacteriaceae, ассоциированные с нематодами подсемейства Anguininae: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.07 / Дорофеева Любовь Владимировна. - Пушкино, 2002. - 138 с.
159. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б.А. Доспехов. - 5-е изд., доп. и перераб. - М., 1985. - 351с.
160. Дубинин, А.В. Экофизиология и видовое многообразие цианобактерий озера Магади / А.В. Дубинин, Л.М. Герасименко, Г.А. Заварзин // Микробиология. - 1995. - Т. 64. - № 6. - С. 845-849.

161. Дубовик, И.Е. Водоросли эродированных почв и альгологическая оценка почвозащитных мероприятий / И.Е. Дубовик. – Уфа: Изд-во Башкир. ун-та, 1995. – 156 с.
162. Егоров, Н.С. Основы учения об антибиотиках / Н.С. Егоров. - М.: Наука, 2004. - 528 с.
163. Егоров, Н.С. Практикум по микробиологии: учеб. пособие / Н.С. Егоров. - М.: Изд-во Моск. ун-та, 1976. - 306 с.
164. Егоров, Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Н.С. Егоров. - М.: Профа. 2-е изд. МГУ, 1983. - 220 с.
165. Егоров, Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Н.С. Егоров. - М.: МГУ, 1995. - 224 с.
166. Егорова, А.М. Прайм-ин-сигнальная функция антибиотиков, продуцируемых стрептомицетами / А.М. Егорова, И.А. Тарчевский // Экобиотех. - 2019. - Т. 2. – № 4. - С. 504-509.
167. Егорова, И.Н. *Nostoc commune* (Cyanophyta / Cyanobacteria / Cyanoprokaryota) в наземных экосистемах Байкальского региона / И.Н. Егорова, М.С. Коновалов, Е.Н. Патова, М.Д. Сивков, А.В. Степанов // Известия Иркутс. Гос. Универс. Серия «Биология. Экология». - 2014. - Т. 9. - С. 21–43
168. Егорова, И.Н. К экологии *Nostoc commune* (Cyanoprokaryota) из Южной Сибири и Монголии / И.Н. Егорова, Г.С. Шамбуева, О.В. Шергина, Н. Шинен // Сибирс. лесной журнал. – 2019. - № 1. - С. 16–29.
169. Еленкин, А.А. Синезелёные водоросли СССР. Общая часть / А.А. Еленкин. - М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1936. - 679 с.
170. Ефимов, А.А. Обоснование технологии получения фикоцианина из синезеленых водорослей как пищевой добавки / А.А. Ефимов // Научный журнал «Фундам. Иссл.». – 2007. - № 11. – С. 80.
171. Ефимова, М.В. Получение биомассы цианобактерий *Phormidium ramosum* для биотехнологических целей / М.В. Ефимова, А.А. Ефимов // Совр. наукоемкие Технол. – 2004. – № 4. – С. 32-33.

172. Жадамбаа, Н. Актиномицеты в сельском хозяйстве. Аграрная наука - сельскому хозяйству / Н. Жадамбаа // Сборник материалов XIV Международной научно-практической конференции, 2019. - С. 383-384.
173. Жаков, С.И. Общие климатические закономерности Земли / С.И. Жаков. – М.: Просвещение, 1984. - 32 с.
174. Жерносекова, И.В. Физиологическая активность биопрепаратов стрептомицета и коммерческих препаратов в отношении растений фасоли (*Phaseolus vulgaris*) / И.В. Жерносекова // Вестник Днепропетр. Универс. Биология. Медицина. - 2012. - Т. 2. - № 3. - С. 32–36.
175. Жилина Т.Н. Анаэробные бактерии-деструкторы в галофильном циано-бактериальном сообществе / Т.Н. Жилина, Г.А. Заварзин // Микробиология. - 1991. - Т. 52. - № 3. - С. 302-317.
176. Жуковина, Н.В. Опустынивание: проблема деградации почв и земель с. Замьяны Астраханской области. В сборнике: Наука и образование: тенденции и перспективы / Н.В. Жуковина, В.В. Елина, О.С. Садомцева, В.В. Шакирова, Н.М. Имашева, А.Д. Кожина // Материалы Международной научно-практической конференции, 2014. - С. 5-7.
177. Заварзин, Г.А. Алкалофильное микробное сообщество и его функциональное разнообразие / Г.А. Заварзин, Т.Н. Жилина, В.В. Кевбрин // Микробиология. - 1999. - Т. 68. - № 5. - С. 579-600.
178. Заварзин, Г.А. Лекции по природоведческой микробиологии / Г.А. Заварзин; отв. ред. Н.Н. Колотилова. – М.: Наука, 2003. — 348 с.
179. Заварзин, Г.А. Развитие микробиальных сообществ в истории Земли / Г.А. Заварзин // Проблемы доантропогенной эволюции биосферы. - 1993. - С. 212-222.
180. Заварзин, Г.А. Циано-бактериальные сообщества – колодец в прошлое / Г.А. Заварзин, Н.Н. Крылов // Природа. - № 3. - 1983. - С. 59-68.
181. Заварзин, Г.А. Цианобактериальные сообщества гиперсолёных лагун Сиваша / Г.А. Заварзин, Л.М. Герасименко, Т.Н. Жилина // Микробиология. - 1993. - Т. 62. - № 5. - С. 1113-1127.

182. Зайцева, Т.Б. Влияние биогенных элементов на рост нитчатых цианобактерий – возбудителей «цветения» воды – и синтез ими метаболитов / Т.Б. Зайцева, Н.Г. Медведева // Биол. Внутр. вод. - № 3. - 2022. - С. 290-299.
183. Закалюкина, Ю.В. Антагонистические свойства почвенных ацидофильных актиномицетов / Ю.В. Закалюкина, Г.М. Зенова // Известия Рос. Акад. наук. Серия биологическая. - 2007. - № 4. - С. 402–405.
184. Закалюкина, Ю.В. Особенности роста и морфологической дифференцировки ацидофильных и нейтрофильных почвенных стрептомицетов / Ю.В. Закалюкина, Г.М. Зенова, Д.Г. Звягинцев // Микробиология. - 2004. - Т. 73. - № 1. - С. 89–93.
185. Звенигородский, В.И. Микробы-антагонисты (стрептомицеты и бациллы), выделенные из почв разных типов / В.И. Звенигородский, А.И. Кузин, Е.М. Шагов, Р.Р. Азизбемян, Г.М. Зенова, Т.А. Воейкова // Почвоведение. - 2004. - № 7. - С. 860 – 866.
186. Звягинцев Д.Г. Актиномицеты засоленных и щелочных почв / Д.Г. Звягинцев, Г.М. Зенова. – М.: МГУ, 2007. - 109 с.
187. Звягинцев, Д.Г. Биология почв / Д.Г. Звягинцев, И.П. Бабьева, Г.М. Зенова. - М.: Издательство Московского университета, 2005. - 448 с.
188. Звягинцев, Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Д.Г. Звягинцев. - М.: МГУ, 1991. - 304 с.
189. Звягинцев, Д.Г. Разнообразие почвенных актиномицетных комплексов, обусловленное температурными адаптациями мицелиальных актинобактерий / Д.Г. Звягинцев, Г.М. Зенова, Т.А. Грачёва, А.И. Курапова, М.С. Дуброва // Теор. и Прикл. Экол. - 2011. - № 1. - С. 4–23.
190. Звягинцев, Д.Г. Экология актиномицетов / Д.Г. Звягинцев, Г.М. Зенова. - М.: ГЕОС, 2001. - 256 с.
191. Зенова, Г.М. Актиномицеты – ассоциативные компоненты цианобактериальных сообществ и симбиозов / Г.М. Зенова, Е.С. Лобакова, И.Г. Широких, Е.А. Иванова // Теор. и Прикл. Экол. - 2013. - № 2. - С. 11–20.

192. Зенова, Г.М. Галофильные и алкалофильные стрептомицеты засоленных почв / Г.М. Зенова, Г.В. Оборотов, Ж. Норовсурэн, А.В. Федотова, Л.В. Яковлева // Почвоведение. - 2007. - № 11. - С. 1347–1351.
193. Зенова, Г.М. Модельные ассоциации актиномицетов и цианобактерии *Anabaena variabilis* Kutz и их способность к преобразованию структуры глинистых минералов / Г.М. Зенова, Е.А. Иванова, Е.О. Омарова, Г.М. Николаев, Е.С. Лобакова, Н.П. Чижикова // Теор. и Прикл. Экол. - 2009. - № 3. - С. 79-88.
194. Зенова, Г.М. Почвенные актиномицеты / Г.М. Зенова. - М.: МГУ, 1992. - 78 с.
195. Зенова, Г.М. Почвенные актиномицеты редких родов / Г.М. Зенова. - М.: Издательство Московского государственного университета, 2000. - 81 с.
196. Зенова, Г.М. Почвенные водоросли: Учебное пособие / Г.М. Зенова, Э.А. Штина. – М.: МГУ, 1990. - 80 с.
197. Зенова, Г.М. Почвенные стрептомицеты – компоненты экспериментальных альгобактериальных ценозов / Г.М. Зенова, В.К. Орлеанский, Е.О. Омарова // Почвоведение. - 2005. - № 10. - С. 1251–1254.
198. Зенова, Г.М. Экологические связи водорослей в биоценозах / Г.М. Зенова, Э.А. Штина, С.Н. Дедыш // Микробиология. – 1995. - № 2. – С. 149-164.
199. Зенова, Г.М. Экстремофильные и экстремотолерантные актиномицеты в почвах разных типов / Г.М. Зенова, Н.А. Манучарова, Д.Г. Звягинцев // Почвоведение. - 2011. - № 4. - С. 457–478.
200. Зенова, Г.М. Экстремофильные и экстремотолерантные актиномицеты в почвах разных типов / Г.М. Зенова, Н.А. Манучарова, Д.Г. Звягинцев // Почвоведение. - 2011. - № 4. - С. 457–478.
201. Зенова, Г.М. Солончаки - местообитание галофильных и алкалотолерантных стрептомицетов / Г.М. Зенова, Г.В. Оборотов, Д.Г. Звягинцев // Почвоведение. - 2005. - № 11. - С. 1341-1344.
202. Зимонина, Н.М. Водоросли и цианобактерии в загрязненных нефтью почвах России / Н.М. Зимонина // Материалы Международной научной

- конференции «Автотрофные микроорганизмы». - М.: МАКС Пресс, 2000. – С. 83-84.
203. Зимонина, Н.М. Почвенные водоросли нефтезагрязненных земель / Н.М. Зимонина; отв. ред. М.В. Герцен. – Киров, 1998. – 171 с.
204. Игнатенко, М.Е. Механизмы взаимодействия автотрофного и гетеротрофного компонентов в альгобактериальных сообществах / М.Е. Игнатенко, Н.В. Немцева // Бюллетень Оренб. Науч. центра УрО РАН. - 2012. - № 3. - С. 1-10.
205. Илич, С.Б. Биоактивные метаболиты из изолятов стрептомицетов – описание и антимикробная активность / С.Б. Илич, С.С. Константинович, З.Б. Тодорович, М.Л. Лазич, В.Б. Велькович, Н. Йокович, Б.Ц. Радованович // Микробиология. - 2007. - Т. 76. - № 4. - С. 480–487.
206. Инструкция по применению набора микрочипов для выявления ДНК/РНК патогенов картофеля методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «Фитопатогены картофеля». - Спб.: ООО «Генбит», 2015. - 16 с.
207. Исаченко, Б.Л. Хлоридные, сульфатные и содовые озера Кулундинской степи и биогенные процессы в них / Б.Л. Исаченко // Избр. Труды. - Т.2. М.: Изд-во АН СССР, 1951. - С. 143.
208. Кабиров, Р.Р. Альгоиндикация с использованием почвенных водорослей (Методологические аспекты) / Р.Р. Кабиров // Альгология. – 1993. - № 3. – С. 73-83.
209. Калакуцкий, Л.В. Экология актиномицетов / Л.В. Калакуцкий, Г.М. Зенова // Успехи Микробиол. - 1984. - Т.19. - С. 203-222.
210. Камелин, Р.В. Флорогенетический анализ естественной флоры горной Средней Азии / Р.В. Камелин. – Л., 1973. – 356 с.
211. Карпачевский, Л.О. Актиномицеты в наземных экосистемах / Л.О. Карпачевский // Почвоведение. - 2004. - № 3. - С. 380–382.
212. Каширская, Н.Н. Численность и суммарная биомасса микробных сообществ каштановых почв и солонцов сухостепной зоны Нижнего Поволжья /

- Н.Н. Каширская, Т.Э. Хомутова, Е.В. Чернышева, М.В. Ельцов, В.А. Демкин // Почвоведение. - 2015. - № 3. - С. 337-346.
213. Кашнер, Д. Жизнь микробов в экстремальных условиях. Пер. с англ. / Д. Кашнер. – М.: Мир, 1981. – 519 с.
214. Кевбрин, В.В. Выделение и идентификация *Pseudomonas nautical* – гетеротрофного спутника цианобактерий *Microcoleus chthonoplastes* / В.В. Кевбрин, Н.А. Кострикина, А.М. Лысенко // Микробиология. - 1994. - Т. 63. - Вып. 6. - С. 1072-1080.
215. Кирпенко, Н.И. Компонентный состав экзометаболитов в культурах некоторых водорослей / Н.И. Кирпенко, Е.А. Курашов, Ю.В. Крылова // Гидробиол. журнал. - 2012. - Т. 48. - № 1. - С. 65-77.
216. Кирпенко, Н.И. Экзогенные метаболитные комплексы двух синезеленых водорослей в моно- и смешанных культурах / Н.И. Кирпенко, Е.А. Курашов, Ю.В. Крылова // Преснов. Гидробиол. - 2010. - № 2 (43). - С. 241-244.
217. Кирхнер, Ю. Тонкослойная хроматография / Ю. Кирхнер. - Т.1. - М.: Мир, 1981. - 308 с.
218. Кирхнер, Ю. Тонкослойная хроматография / Ю. Кирхнер. - Т.2. - М.: Мир, 1981. - 261 с.
219. Киселев, И.А. Методы исследования планктона / И.А. Киселев // Жизнь пресных вод СССР. – М.-Л.: АН СССР, 1976. – 335 с.
220. Климишин, Д.А. Влияние условий культивирования на уровень синтеза аранциамицина штаммом *Streptomyces echinatus* DSM40730 / Д.А. Климишин // Биология. - 2010. - Т.12. - № 1. - С. 329–333.
221. Климишин, Д.А. Конструирование штаммов *Streptomyces Negalater* LV65 с повышенным уровнем синтеза ногаламицина с использованием регуляторных генов / Д.А. Климишин, М.В. Рабык, Т.П. Грень, О.Я. Немець, М.А. Гончар, А.Н. Громыко, В.А. Федоренко // Прикл. Биохим. и Микробиол. - 2011. - Т. 47. - № 6. - С. 650-652.



222. Климова, Е.В. Биологическое обоснование использования метаболитов актиномицетов против оранжерейной белокрылки *Trialeurodes vaporariorum* в теплицах (Биопрепараты на основе *Streptomyces aurantiacus* штамм 775 (алейцид) и *S. cretensis* штамм 729) / Е.В. Климова // Экол. Безопас. в АПК. - 2002. - № 4. - С. 991-994.
223. Ковда, В.А. Основы учения о почвах. Общая теория почвообразовательного процесса / В.А. Ковда. - М.: Наука, 1973. - 469 с.
224. Ковда, В.А. Почвенный покров. Его улучшение, использование и охрана / В.А. Ковда. - М.: Наука, 1981. - 183 с.
225. Ковда, В.А. Почвы дельты Волги и их место в почвообразовании / В.А. Ковда // Тр. Гос. океаногр. ин-та. Вып. 18/30. - 1951. - С. 5-43.
226. Ковина, А.Л. Микробные агроконсорциумы на основе цианобактерий: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.07 / Ковина Алевтина Леонидовна. - М., 1999. - 23 с.
227. Кожевин, П.А. Микробные популяции в природе / П.А. Кожевин. - М.: МГУ, 1989. - 175 с.
228. Козылбаева, Д.В. Стрептомицеты и цианобактерии как биорегуляторы при выращивании *Georgina wild* / Д.В. Козылбаева, Л.И. Домрачева, Л.В. Трефилова, А.Л. Ковина, Е.В. Товстик // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем. Материалы XV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. - Киров, 2017. - С. 112–117.
229. Кокшарова, О.А. Цианобактерии: перспективные объекты научного исследования и биотехнологии / О.А. Кокшарова // Успехи совр. Биол. - 2008. - Т. 128. - № 1. - С. 3-20.
230. Колосов, П.Н. Нитевидные микроорганизмы терминальных периодов протерозоя (Морфология, этапы развития, систематика и стратиграфическое значение) / П.Н. Колосов // Докл. II Всесоюз. совещ. «Общие вопросы расчленения докембрия СССР». – Якутск, 1989. – С. 49.

231. Колотилова, Н.Н. Колонизация известняка циано -бактериальным сообществом: действие биоцидов и консервирующих составов / Н.Н. Колотилова, Ю.П. Петушкова // Материалы Международной научной конференции «Автотрофные микроорганизмы». - М.: МАКС Пресс, 2000. – С. 104.
232. Комов, В.П. Биохимия / В.П. Комов, В.Н. Шведова. - М.: Дрофа, 2004. - 639 с.
233. Кондакова, Л.В. Альго-цианобактериальная флора и особенности ее развития в антропогенно нарушенных почвах (на примере почв подзоны южной тайги Европейской части России): автореф. дисс. ... докт. биол. наук: 03.02.08, 03.02.01 / Кондакова Любовь Владимировна. – Сыктывкар, 2012. - 35 с.
234. Кондакова, Л.В. Цианобактерии природных и антропогенных территорий Кировской области / Л.В. Кондакова, Л.И. Домрачева // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных системы. Материалы 18 Всеросс. науч.-практ. конф. с междунар. участием. - Киров: Вятский государственный университет, 2020. - С. 18–21.
235. Кондратьева, Е.Н. Автотрофные прокариоты / Е.Н. Кондратьева. - М.: МГУ, 1996. - 302 с.
236. Кондратьева, Н.В. Флора водорослей континентальных водоёмов Украины. Прокариотические водоросли (Procaruorphycobionta). Вып.1. Общая характеристика. Часть 2. Экология, значение, вопросы систематики / Н.В. Кондратьева. – Киев, 2001. – 342 с.
237. Контроль химических и биологических параметров окружающей среды. / Под ред. Л.К. Исаева. - СПб.: Эколого-аналитический информационный центр «Союз», 1998. - 896 с.
238. Коринец, В.В. Системно-энергетический подход к оценке плодородия почв / В.В. Коринец. - Астрахань, 2009. - 17 с.

239. Коронелли, Т.В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводов в окружающей среде / Т.В. Коронелли // Прикл. Биох. и Микробиол. - 1996. - № 32 – С. 785-790.
240. Косолапов, А.И. Изменение показателей плодородия дерново-мелкоподзолистой почвы в зависимости от ее ландшафтных условий и обработки / А.И. Косолапов, В.Р. Ямалтдинова, М.Т. Васбиева // Агр. наука. - 2013. - № 9. - С. 10-11.
241. Костиков, И.Ю. Водоросли грунтов Украины / И.Ю. Костиков, П.О. Романенко, Е.М. Демченко, Т.М. Дариенко, Т.И. Михайлюк, О.В. Рибчинский, А.М. Солоненко. - Киев, 2001. - 300 с.
242. Костин, А.М. Получение моторного топлива из жирных кислот / А.М. Костин, И.С. Корнеев, А.В. Романова, Ю.П. Сучков, В.Ф. Швец // Успехи в химии и Хим. Технол. - 2008. - Т. 22. - № 6 (86). - С. 50-53.
243. Костяев, В.Я. Биология и экология азотфиксирующих синезеленых водорослей пресных вод / В.Я. Костяев. – Л.: Наука, 1986. – 478 с.
244. Костяев, В.Я. Биология, экология и роль азотфиксирующих синезеленых водорослей (цианобактерий) в различных экосистемах: автореф. дис. ... докт. биол. наук: 03.00.18 / Костяев Валерий Яковлевич. – М., 1993. – 40 с.
245. Кочкина, В.А. Изучение биосинтетического потенциала почвенных стрептомицетов / В.А. Кочкина, Я.И. Назарова, И.Г. Широких // Экология родного края: проблемы и пути их решения Материалы XIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. - Киров, 2018. - С. 66–69.
246. Красильников, Н.А. Биология отдельных групп актиномицетов / Н.А. Красильников. - М.: Наука, 1965. - 370 с.
247. Крешков, А.П. Основы аналитической химии. Теоретические основы. Количественный анализ / А.П. Крешков. - Т. 2. - М.: Химия, 1971. – 276 с.
248. Кузнецов, С.И. Методы изучения водных микроорганизмов / С.И. Кузнецов, Г.А. Дубинина. – М.: Наука, 1989. – 38 с.

249. Кузьменко, М.И. Миксотрофизм синезеленых водорослей и его экологическое значение / М.И. Кузьменко. - Киев: Наука, 1981. - 212 с.
250. Кукк, Э.Г. Экология и физиология синезелёных водорослей / Э.Г. Кукк. - М.: Наука, 1965. – С. 5-12.
251. Куликова, Н.Г. Индукция антибиотикообразования при глубинном культивировании штаммов редких родов актиномицетов / Н.Г. Куликова, Л.П. Терехова // Антибиот. и Химиотер. - 2017. - Т. 62. – № 11. - С. 3–6.
252. Курашов, Е.А. Динамика компонентного состава эфирного масла побегов *Potamogeton pusillus* (*Potamogetonaceae*) в течение вегетации / Е.А. Курашов, Ю.В. Крылова, Г.Г. Митрукова // Растит. ресурсы. - 2013. - Т. 49. - Вып. 1. - С. 85-102.
253. Курашов, Е.А. Компонентный состав летучих низкомолекулярных органических веществ *Ceratophyllum demersum* L. во время плодоношения / Е.А. Курашов, Ю.В. Крылова, Г.Г. Митрукова // Вода: Хим. и Экол. - 2012. - № 6. - С. 107-116.
254. Кутлусурина, Г.В. Геолого-геохимическое и гидрогеологическое обоснование захоронения высокосернистых промстоков газоконденсатных месторождений: автореф. дис... канд. геол.-минер. наук: 04.00.13 / Кутлусурина Галина Васильевна. – Москва, 1996. - 25 с.
255. Кутовая, О.В. Микробиологическая и микроморфологическая характеристика крайнеаридных пустынных почв илийской впадины (Казахстан) / О.В. Кутовая, Е.С. Василенко, М.П. Лебедева // Почвоведение. - 2012. - № 12. - С. 1297-1309.
256. Лакин, Г.Ф. Биометрия. Учебное пособие для биол. спец. вузов, 4-е изд., перераб. и доп. / Г.Ф. Лакин. - М.: Высшая школа, 1990. - 352 с.
257. Лапаева, И.В. Некоторые вопросы техногенного воздействия газохимической промышленности на фитоценозы аридной зоны (на примере АГК): автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.02 / Лапаева Ирина Владимировна. – Астрахань, 2001. - 21 с.

258. Леманова, Н.Б. Применение стрептомицетов, выделенных из почв Молдовы, при выращивании овощей / Н.Б. Леманова, С.А. Бурцева, М.Н. Бырса // Селекция и семенов. Овощ. культур. - 2015. - № 46. - С. 310–316.
259. Ленова, Л.И. Водоросли в доочистке сточных вод / Л.И. Ленова, В.В. Ступина; отв. ред. Вассер С.П., АН УССР. Ин-т ботаники им. Н.Г. Холодного. – Киев: Наук. думка, 1990. – 184 с.
260. Линг, Л.А. *Streptomyces sp.* NEAU-HV9: Изоляция, идентификация и потенциал в качестве биоконтрольного агента против *Ralstonia solanacearum* растений томатов / Л. Линг, Х. Хан, Х. Ли, Х. Чжан, Х. Ван, Л. Чжан, П.Й. Цао, Х. Ван, Дж. Чжао, У. Сян // Микроорганизмы. – 2020. - Т. 8. - № 3. - 351 с.
261. Лискова, Е.А. Новый подход к выделению микобактерий, нокардиоформных актиномицетов и коринебактерий / Е.А. Лискова, К.Н. Слина // Вестник Алт. Гос. Агр. Универс. - 2016. - № 9 (143). - С. 128–131.
262. Логинов, О.Н. Бактерии *Pseudomonas* и *Azotobacter* как объекты сельскохозяйственной биотехнологии / О.Н. Логинов; отв. ред. Ф.М. Шакирова; Ин-т биологии Уфим. Науч. центра РАН. - М.: Изд-во Наука, 2005. – 166 с.
263. Манучарова, Н.А. Изменение филогенетической структуры метаболически активного прокариотного комплекса почв под влиянием нефтяного загрязнения / Н.А. Манучарова, Н.А. Ксенофонтова, Т.Д. Каримов, А.П. Власова, Г.М. Зенова, А.Л. Степанов // Микробиология. - 2020. - Т. 89. - № 2. - С. 222-234.
264. Манучарова, Н.А. Молекулярный анализ гидролитической прокариотной компоненты почв, загрязненных нефтепродуктами и восстановленных внесением хитина / Н.А. Манучарова, Ю.В. Кутейникова, П.В. Иванов, С.К. Николаева, В.Т. Трофимов, П.Ю. Степанов, Е.В. Тяпкина, Д.Н. Липатов, А.Л. Степанов // Микробиология. - 2017. - Т. 86. - С. 373-382.
265. Мейнелл, Д. Экспериментальная микробиология (Теория и практика) / Д. Мейнелл, Э. Мейнелл; под ред. А.С. Кривиского, В.Ю. Урбаха. – М.: Мир, 1967. – 347 с.

266. Мерзаева, О.В. Актиномицеты прикорневой зоны злаков и клевера: автореф. дис. ... канд. биол. наук 03.00.07 / Мерзаева Ольга Вениаминовна. - Москва, 2007. - 24 с.
267. Мерзаева, О.В. Колонизация актиномицетами различных родов прикорневой зоны растений / О.В. Мерзаева, И.Г. Широких // Микробиология. - 2006. - Т. 75. - № 2. - С. 271 – 276.
268. Методы общей бактериологии / под ред. Ф. Герхарда и др. – М.: Мир. - Т. 1, 1983. - 536 с.
269. Микрофоссилии докембрия СССР / Т. В. Янкаускас, Н. С. Михайлова, Т. Н. Герман и др.; отв. ред. Т. В. Янкаускас. – Л.: Наука, 1989. – 191 с.
270. Милевская, И.А. Исследование антагонистической активности актиномицетов р. *Streptomyces*, выделенных из ризосферы и корней картофеля, по отношению к возбудителю ризоктониоза *Rhizoctonia solani* (Польша) / И.А. Милевская // Экол. безопасность в АПК. - 2008. - № 3. - С. 730.
271. Миндубаев, А.З. Рост устойчивости к белому фосфору у микроорганизмов в результате направленной селекции. Биохимический анализ штамма *Streptomyces* sp. А8 / А.З. Миндубаев, А.Д. Волошина, Е.В. Горбачук, Н.В. Кулик, С.Т. Минзанова, Л.Г. Миронова, Ф.К. Алимова, К.А. Сапармырадов, Д.Г. Яхваров // Экол. вестник Сев. Кавказа. - 2015. - Т. 11. - № 3. - С. 10–18.
272. Миндубаев, А.З. Сравнение фитотоксичности, фунгицидных и бактерицидных свойств *Streptomyces* из разных биотопов. Определение видовой принадлежности штамма А8 / А.З. Миндубаев, Ф.К. Алимова, Д.Г. Яхваров, Ч. Болормаа, К.А. Сапармырадов // Экол. вестник Сев. Кавказа. - 2015. - Т. 11. - № 1. - С. 51–58.
273. Мироновский, М.Л. Разнообразие генов, кодирующих нерибосомные пептидсинтетазы, в геноме *Streptomyces sioyaensis* / М.Л. Мироновский, Б.Е. Осташ, В.А. Федоренко // Генетика. - 2010. - Т. 46. - № 7. - С. 896–903.

274. Михайлова, Е.К. Эпифитная микрофлора водорослей и роль сообществ водорослей и бактерий в обогащении азотом рисовых полей: автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.18 / Михайлова Е.К. – Ташкент, 1966. - 20 с.
275. Михеева, Л.Е. Молекулярно-генетический анализ новых штаммов *Anabaena*, выделенных из растительно-цианобактериального сообщества / Л.Е. Михеева, Н.В. Белавина, Е.А. Карбышева, С.В. Шестаков // Микробиология. - 2010. – Т. 79. - № 5. - С. 639–646.
276. Мишустин, Е.Н. Ассоциации почвенных микроорганизмов / Е.Н. Мишустин. - М.: Наука, 1975. - 107 с.
277. МУ 2620 – 82. Методические указания по гигиенической оценке микробных средств защиты растений от насекомых и болезней на основе неспорообразующих микроорганизмов. – Киев, 1982. – 23с.
278. МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам // Методические указания. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2004. - 94 с.
279. МУК 4.2.3533-18. Иммунологические методы лабораторной диагностики паразитарных болезней: Методические указания. - М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018. - 47 с.
280. Назаренко, Н.Н. Адаптивные диапазоны реакции комплекса актиномицетов городских почв / Н.Н. Назаренко // Агрэкологический Вестник материалы международной научно-практической конференции, посвященной году экологии в России. - 2017. - С. 222–227.
281. Назарова, Я.И. Идентификация двух ризосферных изолятов стрептомицетов и изучение *in vitro* их колонизирующей активности / Я.И. Назарова, И.Г. Широких, А.В. Бакулина, Е.Н. Баранова, Т.Я. Ашихмина // Теор. и Прикл. Экол. – 2019. - № 3. – С. 72-79.

282. Назарова, Я.И. Поиск перспективных штаммов стрептомицетов с биоконтрольным действием / Я.И. Назарова, И.Г. Широких // Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Сибири, Монголии, Казахстана, Беларуси и Болгарии сборник научных докладов XX Международной научно-практической конференции. Республика Коми, 2017. - С. 25–28.
283. Намсараев, З.Б. Разнообразие цианобактерий в щелочном озере Хилганта в засушливый и влажный период / З.Б. Намсараев, Т.В. Колганова, Е.О. Патутина, Д.Д. Цыренова, О.С. Самылина // Микробиология. - 2018. - № 87 (4). - С. 448-457.
284. Нейланд, О.Я. Органическая химия / О.Я. Нейланд. - М.: Высшая школа, 1990. - 751 с.
285. Нетрусов, А.И. Микробиология / А.И. Нетрусов, И.Б. Котова. - М.: Академия, 2006. - 352 с.
286. Нетрусов, А.И. Практикум по микробиологии: учеб. пособие для высших учеб. заведений / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук и др. М.: Академия, 2005. - 608 с.
287. Нетрусов, А.И. Экология микроорганизмов / А.И. Нетрусов, Е.А. Бонч-Осмоловская, В.М. Горленко. - М: Академия, 2004. - 272 с.
288. Никитина, В.Н. Синезеленые водоросли минеральных и термальных источников Кроноцкого заповедника / В.Н. Никитина // Вестн. Ленингр. Ун-та. – 1983. - № 15. – Биология. Вып. 3. – С. 47-53.
289. Николаев, Ю.А. Эффект дистантных взаимодействий на рост и развитие стрептомицетов / Ю.А. Николаев, Н.А. Сургучева, С.Н. Филиппова // Микробиология. - 2015. - Т. 84. - № 6. - С. 673.
290. Никольский, Б.П. Общие сведения, строение вещества, свойства важнейших веществ, лабораторная техника / Б.П. Никольский // Справочник химика. - М.-Л. - 1966. - Т. 1. - С. 1071-1073.



291. Нишанбаев, С.З. Химический состав и биологическая активность метаболитов растений рода *Alhagi* (обзор) / С.З. Нишанбаев, И.Д. Шамьянов, Х.М. Бобакулов, Ш.Ш. Сагдуллаев // Химия Раст. сырья. - 2019. - № 4. - С. 5–28.
292. Новиков, Ю.В. Методы определения вредных веществ в воде водоемов / Ю.В. Новиков, К.О. Ласточкина, З.Н. Болдина. – М.: Медицина, 1981. – 376 с.
293. Новикова, А.В. Исследования засоленных и солонцовых почв: генезис, мелиорация, экология. Избранные труды / А.В. Новикова. - Х.: КП Друкарня, 2009. - 720 с.
294. Новикова, И.И. Биологические особенности и компонентный состав активного комплекса штамма *Streptomyces chrysomallus* P-21 – антагониста фитопатогенных грибов / И.И. Новикова, И.В. Бойкова, Ю.Д. Шенин // Вестник Защ. Раст. - 2006. - № 3. - С. 13–21.
295. Новикова, И.И. Биологическое обоснование создания и применения полифункциональных биопрепаратов на основе микробов-антагонистов для фитосанитарной оптимизации агроэкосистем: автореф. дис. ... докт. биол. наук: 06.01.11 / Новикова Ирина Игоревна. - Санкт-Петербург, 2005. - 44 с.
296. Новичкова-Иванова, Л.Н. Почвенные водоросли фитоценозов Сахаро-Гобийской пустынной области / Л.Н. Новичкова-Иванова. - Л.: Наука, 1980. - 256 с.
297. Норовсурэн, Ж. Актиномицеты в ризосфере растений полупустынных почв Монголии / Ж. Норовсурэн, Г.М. Зенова, Л.В. Мосина // Почвоведение. - 2007. - № 4. - С. 457–460.
298. Норовсурэн, Ж. Почвенные актиномицеты редких родов в основных экосистемах Монголии: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.07 / Жадамбаагийн Норовсурэн. - Москва, 2001. - 24 с.
299. Оборотов, Г.В. Актиномицеты засоленных почв: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.07 / Оборотов, Геннадий Вячеславович. - Москва, 2007. - 23 с.

300. Овчинников, Р.С. Новые для Российской Федерации патогенные актиномицеты / Р.С. Овчинников, М.Г. Маноян, А.Г. Гайнуллина // Микология. - 2012. - № 5. - С. 40–42.
301. Овчинников, Ю.А. Биоорганическая химия / Ю.А. Овчинников. - М.: Просвещение, 1987. - 742 с.
302. Омарова, Е.О. Экспериментальные циано-актиномицетные ассоциации: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.07 / Омарова Елена Олеговна. - Москва, 2007. - 25 с.
303. Орехов, А.П. Химия алкалоидов / А.П. Орехов. - М.: Академия наук, 1955. - 868 с.
304. Орлеанский, В.К. Лабораторное моделирование онколитоподобных образований / В.К. Орлеанский, Р.К. Пауль, Е.А. Жегалло, Л.М. Мудренко // Литол. и полезные ископ. – 1994. - № 4. – С. 127-130.
305. Орлеанский, В.К. Лабораторное моделирование термофильного циано-бактериального сообщества / В.К. Орлеанский, Л.М. Герасименко // Микробиология. - 1982. - Т. 51. - № 4. - С. 538-542.
306. Орлеанский, В.К. Моделирование активно-ветвящихся столбчатых строматолитов / В.К. Орлеанский, М.Е. Раабен // Альгология. – 1998. - № 1. – С. 82-86.
307. Осташ, Б.Е. Использование ПЦР для обнаружения в геномах актиномицетов генов, кодирующих поликетидсинтазы I типа / Б.Е. Осташ, С.В. Огонян, А.Н. Лужецкий, А. Бехтольд, В.А. Федоренко // Генетика. - 2005. - Т. 41. - № 5. - С. 595–600.
308. Панкова, Е.И. Почвы зоны контакта светло-каштановых и бурых аридных почв юга Европейской России / Е.И. Панкова, А.Ф. Новикова, М.В. Конюшкова // Аридные экосистемы. - 2014. - № 3. - С. 84–101.
309. Панкратова, Е.М. Азотфиксирующие цианобактерии и их экология в пахотных почвах умеренной зоны / Е.М. Панкратова // Биол. азот в сельском хозяйстве СССР. – М.: Наука, 1989. – С. 147-156.

310. Панкратова, Е.М. Деструкция клеток сине-зеленых водорослей в почве / Е.М. Панкратова, Г.В. Мезенцева // Биол. науки. - 1985. - № 3. - С. 95-99.
311. Панкратова, Е.М. Использование фототрофных микроорганизмов в качестве биоиндикаторов на обеспеченность почвы элементами минерального питания / Е.М. Панкратова, Л.И. Домрачева, Г.Н. Перминова // Сельскох. Биол. - Сер. Биология. - 1994. - № 5. - С. 96-102.
312. Панкратова, Е.М. Методы и подходы к стандартизации биологического благополучия почвы в агрогенных системах умеренной зоны / Е.М. Панкратова, Л.И. Домрачева // Проблемы оценки состояния почв, растительного и животного мира: Мат-лы регионального научно-методического семинара. - Киров, 1995. - С. 78-86.
313. Панкратова, Е.М. Почвенные цианобактерии в прошлом Земли, их экологическая роль в настоящем и возможная в будущем / Е.М. Панкратова // Экология и почвы. Избранные лекции 10-й Всероссийской школы. - Пушкино: ОНТИ ПНЦ РАН, 2001. - С. 39-48.
314. Панкратова, Е.М. Роль азотфиксирующих синезеленых водорослей (цианобактерий) в накоплении азота и повышении плодородия почвы: автореф. дис. ...докт. биол. наук: 03.00.07 / Панкратова Евгения Матвеевна. - М., 1981. - 39 с.
315. Панкратова, Е.М. Становление функциональных особенностей цианобактерий на путях их сопряженной эволюции с биосферой / Е.М. Панкратова // Теор. и Прикл. Экол. - 2010. - № 3. - С. 4-11.
316. Панкратова, Е.М. Участие цианобактерий в круговороте азота в почве и создании её плодородия / Е.М. Панкратова // Успехи микробиол. - 1987. - С. 212-242.
317. Панкратова, Е.М. Цианобактерия *Nostoc paludosum* Kutz как основа для создания агрономически полезных микробных ассоциаций на примере бактерий рода *Rhizobium* / Е.М. Панкратова, Л.В. Трефилова, Р.Ю. Зяблых, И.А. Устюжанин // Микробиология. - 2008. - Том 77. - № 2. - С. 266-272.

318. Панькова, И.М. К характеристике бактерий-спутников термофильного штамма *Synechococcus elongatus* / И.М. Панькова, Н.С. Мануковский // Параметрическое управление биосинтезом микроводорослей. - 1980. - С. 98-102.
319. Патент №1180366 РФ. МПК C05F 11/08. Штамм цианобактерий *Nostoc muscorum* f. *linckia* (Roth) Born et. Flash 28-1 106 (коллекция ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии) активный несимбиотический азотфиксатор.
320. Патент №2147320 РФ. МПК C12R1/645, C12C-C12Q, C12P1/06, C12P19/62. Штамм *Streptomyces avermitilis* НИЦБ 132 - продуцент авермектинов.
321. Патент №2156301 РФ. МКИ C12R1/645, A01N63, C12P1/06, C12P17/08, C12P17/18. Штамм актиномицета *Streptomyces avermitilis* ССМ 4697 – продуцент авермектинов.
322. Патент №2160780 РФ. МПК C12P 1/06, C12R 1/465. Штамм *Streptomyces avermitilis* ФБМ 0004 - продуцент олигомицинов.
323. Патент №2170252 РФ. МПК C12N1/20, C12N9/06, C12N9/06, C12R1/465. Штамм *Streptomyces* sp. Z-11-6-продуцент внеклеточной L-глутаматоксидазы.
324. Патент №2198928 РФ. МПК C12P19/62, C12N1/20, C12N1/20, C12R1/465. Штамм *Streptomyces dosus* 472 ВНИИСХМ Д-666 – продуцент амфотерицина В.
325. Патент №2226214 РФ. МПК C12N1/20, A01N63/00, C12N1/20, C12R1/465. Штамм актиномицета *Streptomyces chrysomallus* P-21 для получения биопрепарата полифункционального действия.
326. Патент №2241755 РФ. МПК C12P 1/06, C12R 1/465. Штамм *Streptomyces cinnamonensis* АС-1638 – продуцент монензина А.
327. Патент №2243259 РФ. МПК C12N 1/20, A01N 63/00, C12R 1/55. Штамм актиномицета *Streptomyces hygroscopicus* Sub sp. ЦКМ В-4561, обладающий фунгицидными, бактерицидными и инсектицидными свойствами.
328. Патент №2464319 РФ. МПК C12P 19/56. Штамм *Streptomyces coeruleorubidu* – продуцент антибиотика даунорубицина.

329. Патент №2630661 РФ. МПК C12R1/465, C12N1/20, A01N63/02. Штамм *Streptomyces globisporus* K-35/15 в качестве средства для защиты растений от вредных насекомых - фитофагов.
330. Патент №2764304 РФ. МПК C12N 1/14. Средство для получения противогрибкового пептидного антибиотика, активного в отношении возбудителей инвазивных микозов.
331. Патова, Е.Н. *Nostoc commune* (Cyanophyta) в тундрах Российского сектора Арктики / Е.Н. Патова, М.В. Гецен, М.Д. Сивков // Бот. журн. – 2000. – Т. 85. - № 1. – С. 71–80.
332. Перминова, Г.Н. Влияние синезеленых водорослей на развитие микроорганизмов в почве / Г.Н. Перминова // Микробиология. - 1964. - № 3. - С. 427-476.
333. Петровичева, Е.В. Специфические формы жизни – как основа биоразнообразия в техногенных водных экосистемах / Е.В. Петровичева, И.С. Держинская // Тез. межд. конф. «Новые технологии в защите биоразнообразия в водных экосистемах». - М.: Изд-во МАКС Пресс, 2002. - С. 24.
334. Пивоварова, Ж.Ф. Особенности таксономической структуры почвенных фотоавтотрофов при освоении первичных субстратов / Ж.Ф. Пивоварова, Л.В. Факторович, А.Г. Благодатнова // Раст. мир Азиатской России. - 2012. - № 1. - № 9. - С. 16-21.
335. Пилипенко, В.Н. Современная флора дельты Волги / В.Н. Пилипенко, А.Л. Сальников, С.Н. Перевалов. – Астрахань: Изд-во АГПУ, 2002. - 137 с.
336. Пиневиц, А.В. Кислородная фототрофия: Руководство по эволюционной клеточной биологии / А.В. Пиневиц, С.Г. Аверина. – СПб.: Изд-во С.Петербург. ун-та, 2002. – 236 с.
337. Племенков, В.В. Химия изопреноидов: учебное пособие / В.В. Племенков. - Калининград: Изд-во Алтайского университета, 2007. - 320 с.

338. ПНД Ф 14.1:2 114-97. Количественный химический анализ вод. Методика измерений массовой концентрации сухого остатка в питьевых, поверхностных и сточных водах гравиметрическим методом.
339. ПНД Ф 14.1:2 98-97. Количественный химический анализ вод. Методика измерений общей жесткости в пробах природных и сточных вод титриметрическим методом.
340. ПНД Ф 14.1:2:4 112-97. Количественный химический анализ вод. Методика измерений массовой концентрации фосфат-ионов в питьевых, поверхностных и сточных водах фотометрическим методом с молибдатом аммония.
341. ПНД Ф 14.1:2:4 129-98. Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений массовых концентраций железа, кобальта, марганца, меди, никеля, серебра, хрома и цинка в пробах питьевых, природных и сточных вод методом атомно-абсорбционной спектроскопии.
342. Позднякова, Т.А. Исследование эфирного масла герани сибирской (*Geranium sibiricum L.*) / Т.А. Позднякова, Р.А. Бубенчиков // Фундам. Иссл. - 2014. - № 3. - С. 539-542.
343. Поляк, Ю.М. Выделение почвенных стрептомицетов – продуцентов комплексных антибиотиков / Ю.М. Поляк, В.И. Сухаревич // Вестник Биотехнол. и Физ.-Хим. Биологии им. Ю.А. Овчинникова. - 2017. - Т. 13. - № 1. - С. 18 – 24.
344. Попкова, Н.В. Философия техносферы / Н.В. Попкова. – М.: Издательство ЛКИ, 2008. – 344 с.
345. Пошехонцева, В.Ю. *Streptomyces tsukubensis* ВКМ Ас-2618Д – эффективный продуцент такролимуса / В.Ю. Пошехонцева, В.В. Фокина, С.В. Тарлачков, А.В. Мачулин, А.А. Шутов, М.В. Донова // Биотехнология. - 2021. - №1 (37). - С. 26-36.
346. Прокопенко, В.В. Экофизиологическая характеристика психротолерантных актиномицетов тундровых и лесных ландшафтов / В.В.

- Прокопенко, Г.М. Зенова, Н.А. Манучарова // Почвоведение. - 2019. - № 6. - С. 734-742.
347. Прохоров, А.М. Большая советская энциклопедия / А.М. Прохоров. - М.: Советская энциклопедия, 1978. - 631 с.
348. Проценко, А.Е. Морфология и классификация фитопатогенных вирусов / А.Е. Проценко. - М.: Наука, 1966. - 220 с.
349. Райе Э. Аллелопатия / Э. Райе. - М.: Мир, 1978. - 392 с.
350. Райская, Г.Ю. Особенности процесса самоочищения от нефтяного загрязнения в специфических искусственных водоемах: автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.18 / Райская Галина Юрьевна. – М., 2003. - 25 с.
351. Реймерс, Н.Ф. Природопользование: Словарь-справочник / Н.Ф. Реймерс. – М., 1990. – 260 с.
352. Роговин, З.А., Химия целлюлозы / З.А. Рогови // Целлюлоза и её производные. - Т. 1. - М., 1974. - 468 с.
353. Рогожин, В.В. Пероксидаза как компонент антиоксидантной системы живых организмов / В.В. Рогожин. – СПб.: ГИОРД, 2004. – 240 с.
354. Рогожина, Е.В. Особенности культивирования штаммов стрептомицетов и получения их метаболитов / Е.В. Рогожина, Л.С. Самарина // Субтроп. и Декорат. садоводство. - 2016. - № 58. - С. 100–106.
355. Родина, А.Г. Методы водной микробиологии. Практ. руководство / А.Г. Родина. - М.–Л.: Наука, 1965. – 237 с.
356. Роль почвы в формировании и сохранении биологического разнообразия / Г.В. Добровольский, И.Ю. Чернов. - М.: Товарищество научных изданий КМК, 2011. - 273 с.
357. Романенко, В.И. Экология микроорганизмов пресных водоёмов / В.И. Романенко, С.И. Кузнецов. – Л.: Наука, 1974. – 194 с.
358. Румянцев, В.А. Особенности природы цианобактерий / В.А. Румянцев, Л.Н. Крюков // Среда обитания. - 2012. - С. 221-227.

359. Рябова, О.В. Рост и антифунгальная активность стрептомицетов на фоне повышенной кислотности среды / О.В. Рябова, И.Г. Широких // Сельскохозяйственная биология. - 2014. - Т. 49. - № 3. - С. 100–107.
360. Садчиков, А.П. Методы изучения пресноводного фитопланктона / А.П. Садчиков // Методическое руководство: автор - сост. Садчиков А.П. – М.: Изд-во «Университет и школа», - 2003. – 157с.
361. Сальникова, Н.А. Микробные сообщества почв дельты Волги: автореф. дисс. ... канд. биол. наук: 03.00.07 / Сальникова Наталья Алексеевна. – М., 2007. - 25 с.
362. Самусенко, А.Л. Исследование антиоксидантной активности эфирных масел лимона, розового грейпфрута, кориандра, гвоздики и их смесей методом капиллярной газовой хроматографии / А.Л. Самусенко // Химия Раст. сырья. - 2011. - № 3. - С. 107–112.
363. Самылина, О.С. Галоалкалофильные цианобактерии и возможность их использования в качестве индикаторов содовых условий в прошлом / О.С. Самылина // Микробные сообщества в эволюции биосферы с древнейших времен до наших дней. Материалы конференции, посвященной памяти Г. А. Заварзина. Отв. ред. С.В. Рожнов. Серия «Гео-биологические процессы в прошлом». – Москва: ПИН РАН, 2017. - С. 22-34.
364. Самылина, О.С. Фоссилизация клеток натронофильной эндоэвапоритовой цианобактерии «*Euhalothese natronophila*» в модельной системе / О.С. Самылина, Л.М. Герасименко // Микробиология. - 2011. - Т. 80. - № 4. - С. 519-528.
365. Саут, Р. Основы альгологии / Р. Саут, А. Уиттик. – М.: Мир, 1990. – 597 с.
366. Селивановская, С.Ю. Биологические методы в оценке токсичности отходов и почв / С.Ю. Селивановская, П.Ю. Галицкая. - Казань: Казанский университет, 2011. - 96 с.



367. Селянин, В.В. Ацидофильные и алкалофильные актиномицеты в кислых, нейтральных и щелочных почвах / В.В. Селянин, Г.М. Зенова, Н.В. Можарова, Ю.В. Закалюкина, Д.Г. Звягинцев // Почвоведение. - 2005. - № 5. - С. 590–593.
368. Семенов, М.В. Биомасса и таксономическая структура микробных сообществ в почвах правобережья р. Оки / М.В. Семенов, Н.А. Манучарова, Г.С. Краснов, Д.А. Никитин, А.Л. Степанов // Почвоведение. - 2019. - № 8. - С. 974–985.
369. Семенов, М.В. Распределение метаболически активных представителей прокариот (архей и бактерий) по профилям чернозема и бурой полупустынной почвы / М.В. Семенов, Н.А. Манучарова, А.Л. Степанов // Почвоведение. - 2016. - № 2. - С. 239–248.
370. Сергеев, В.Н. Окремненные микрофоссилии докембрия и кембрия Урала и Средней Азии / В.Н. Сергеев. - М.: Наука, 1992. - 134 с.
371. Сергеев, В.Н. Первые три миллиарда лет жизни: от прокариот к эукариотам / В.Н. Сергеев, Э.Х. Нолл, Г.А. Заварзин // Природа. - 1996. - № 6. - С. 54–67.
372. Сергеева, А.Г. Актиномицеты как продуценты биологически активных веществ / А.Г. Сергеева, Н.Г. Куимова // Бюллетень Физиол. и Патол. дыхания. - 2006. - № 22. - С. 88–90.
373. Сергеева, О.В. Изучение действия штаммов актиномицетов рода *Streptomyces* на морковную листовую блошку / О.В. Сергеева // Известия Санкт-Петербургского Гос. Агр. Универс. - 2009. - № 15. - С. 60–63.
374. Сидорова, С.Г. Антифунгальная активность актиномицетов в отношении возбудителя фузариоза томата / С.Г. Сидорова // Журнал Белорус. Гос. Универс. Биология. - 2019. - № 3. - С. 21–32.
375. Синева, О.Н. Низкотемпературное хранение актинобактерий рода *Streptomyces* / О.Н. Синева, Л.П. Терехова // Биотехнология: состояние и перспективы развития. Материалы IX международного конгресса. - М., 2017. - С. 200–202.

376. Синева, О.Н. Низкотемпературное хранение актиномицетов – представителей рода *Streptomyces* / О.Н. Синева, Т.Д. Иванкова, Л.П. Терехова // Антибиот. и Химиотер. - 2019. - Т. 64. - № 3-4. - С. 3-7.
377. Сиренко, Л.А. Биологически активные вещества водорослей и качество воды / Л.А. Сиренко, В.Н. Козицкая. – Киев: Наукова думка, 1988. – 256 с.
378. Сиренко, Л.А. Биологически активные метаболиты синезеленых водорослей и их роль в эпидемиологии / Л.А. Сиренко, Ю.А. Кирпенко, Н.И. Кирпенко // Гидробиол. журн. – 1997. - № 3. – С. 51-62.
379. Сиренко, Л.А. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / Л.А. Сиренко, А.И. Сакевич, Л.Ф. Осипов, Л.Ф. Лукина, М.И. Кузьменко, В.Н. Козицкая, И.М. Величко, В.О. Мыслович, М.Я. Гавриленко, В.В. Арендарчук, Ю.А. Кирпенко. - Киев: Наукова думка, 1975. – 158 с.
380. Сиренко, Л.А. Роль Cyanophyta в природе / Л.А. Сиренко, Н.В. Кондратьева // Альгология. – 1998. - № 2. – С. 117-131.
381. Сиренко, Л.А. Физиологические основы массового размножения синезелёных водорослей в водохранилищах и методы его регулирования: автореф. дисс. ... докт. биол. наук: 03.00.18/ Сиренко Лидия Акимовна. - К., 1970. – 43 с.
382. Сиренко, Л.А. Физиологические основы размножения синезелёных водорослей в водохранилищах / Л.А. Сиренко. – К.: Высш. школа. Изд-во Наук. думка, 1972. – 204 с.
383. Смирнов, Н.Н. Влияние синезеленых водорослей на водных животных и растения / Н.Н. Смирнов, О.И. Феоктистова // Экология и физиология синезеленых водорослей. – М-Л.: Наука, 1965. – С. 212-223.
384. Соболевская, М.П. Биологически активные метаболиты морской актинобактерии *Streptomyces sp.* КММ 7210 / М.П. Соболевская, В.А. Денисенко, А.С. Моисеенко, Л.С. Шевченко, Н.И. Мензорова, Ю.Т. Сибирцев, Н.Ю. Ким,

- Т.А. Кузнецова // Известия Акад. наук. Серия химическая. - 2007. - № 4. - С. 807–810.
385. Соболевская, М.П. Биологически активные соединения актинобактерии *Streptomyces sp.* GW 33/1539 / М.П. Соболевская, В.А. Денисенко, С. Фотсо, Х. Лаач, Н.И. Мензорова, Ю.Т. Сибирцев, Т.А. Кузнецова // Известия Акад. наук. Серия химическая. - 2008. - № 3. - С. 652–655.
386. Сопрунова, О.Б. Альго-бактериальные сообщества водной техногенной системы (на примере очистных сооружений АГПЗ): автореф. дис... канд. биол. наук: 11.00.11 / Сопрунова Ольга Борисовна. – Астрахань, 1997. - 25 с.
387. Сопрунова, О.Б. Циано-бактериальные ассоциации – перспективные агенты реабилитации техногенных экосистем / О.Б. Сопрунова // Мат. Межд. конф. «Проблемы и перспективы реабилитации техногенных экосистем». - Астрахань, 2005. - С. 33-38.
388. Справочник по Астраханскому газоконденсатному месторождению. – Астрахань, 2000. - С. 117-119.
389. Стецюк, О.У. Безопасность и переносимость антибиотиков в амбулаторной практике / О.У. Стецюк, И.В. Андреева, А.В. Колосов, Р.С. Козлов // Клиническая Микробиол. и Антимикр. Химиотер. - 2011. - Т. 13. - № 1. - С. 67-84.
390. Столяров, Б.В. Практическая газовая и жидкостная хроматография / Б.В. Столяров, И.М. Савинов, А.Г. Витенберг. – С.-Петербург. ун-т, 2002. – 602 с.
391. Стом, Д.И. О механизме торможения роста растений некоторыми фенолами / Д.И. Стом, А.В. Калабина // II Всесоюз. Симпоз. по фенольным соединениям: Тез. докл. - Алма-Ата, 1970. – С. 79-80.
392. Страшинская, В.В. Биологическая активность изолятов актиномицетов, выделенных из почвы / В.В. Страшинская, О.В. Фомина // Биологическая осень 2017 (к Году науки в Беларуси) тезисы докладов Международной научной конференции молодых ученых. - Минск, 2017. - С. 141–142.

393. Строганов, С. Взаимоотношения сине-зеленых водорослей с другими водными организмами. В сб.: Биология сине-зеленых водорослей / С. Строганов. – М.: Изд-во Моск. универ., 1964. – С. 80-98.
394. Строев, Е.А. Биологическая химия / Е.А. Строев. - М.: Высшая школа, 1986. - 479 с.
395. Струбицкий, И.В. Регуляция фенольными соединениями и ферредоксин: тио-редоксиновой системой энергетического обмена *Microcystis aeruginosa* Kutz. emend. Elenk.: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.18 / Струбицкий И.В. - Киев, 1986. - 20 с.
396. Судына, Е.Г. Биохимия синезеленых водорослей / Е.Г. Судына, Е.И. Шнюкова, Н.В. Костлан, П.О. Мушак, Н.Д. Тупик. – Киев: Наук. думка, 1978. – 264 с.
397. Сухорученко, Г.И. Методические рекомендации по селективности для современных инсектоакарицидов на членистоногих / Г.И. Сухорученко, Ю.С. Толстова. - Л.: ВИЗР, 1990. - 24 с.
398. Темралеева, А.Д. Разнообразие цианобактерий почв зоны сухих степей и полупустынь России / А.Д. Темралеева // Микробиология. – 2018. - Т. 87. - № 2. - С. 191-203.
399. Теория и практика химического анализа почв / под ред. Л.А. Воробьевой. - М.: ГЕОС, 2006. - 400 с.
400. Теппер, Е.З. Практикум по микробиологии / Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева. - М.: Колос, 1993. - 175 с.
401. Теппер, Е.З. Практикум по микробиологии / Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева. - М.: Колос, 2004. - 256 с.
402. Терехова, Л.П. Выделение, ЯМР и конформационный анализ антибиотика ИНА-2770 (цинеромицина В), продуцируемого штаммом рода *Streptomyces* / Л.П. Терехова, О.А. Галатенко, В.В. Куляева, Н.Д. Малкина, И.В. Бойкова, Г.С. Катруха, А.С. Шашков, А.Г. Гербст, Н.Э. Нифантьев // Известия Акад. наук. Серия химическая. - 2007. - № 4. - С. 784–788.

403. Теречик, Л.Ф. Оценка 19 видов актиномицетов на способность к продуцированию альфа-галактозидазы, используемой для удаления олигосахаридов из зерна и продуктов переработки зернобобовых культур (Египет) / Л.Ф. Теречик // Пищ. и Перераб. Промышл. - 2003. - № 3. - 1047 с.
404. Теркина, И.А. Актиномицеты рода *Streptomyces* и рода *Micromonospora* в микробном сообществе озера Байкал: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Теркина Ирина Анатольевна. - Москва, 2004. - 136 с.
405. Тихонова, И.В. Анализ цианобактерий озера Байкал и Усть-Илимского водохранилища на наличие гена синтеза микроцистина / И.В.Тихонова, О.И. Белых, Г.В. Помазкина, А.С. Гладких // Доклады АН. – 2006. - Т. 409. – № 3. – С. 425–427.
406. Топачевский, А.В. Пресноводные водоросли Украинской ССР / А.В. Топачевский, Н.П. Масюк. – К.: Высшая школа. Главное изд-во, 1984. - 336 с.
407. Трефилова, Л.В. Использование цианобактерий в агробiotехнологии: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.07, 03.00.23 / Трефилова Людмила Васильевна. - Саратов, 2008. – 26 с.
408. Трефилова, Л.В. Эффективность использования цианоризобияльного консорциума при выращивании гороха посевного / Л.В. Трефилова, М.Н. Патрушева // Теор. и Прикл. Экол. - 2009. - № 3. - С. 67–75.
409. Унифицированные методы исследования качества вод. Часть 3. Методы биологического анализа вод. – М.: Изд-во СЭВ, 1976. – 48 с.
410. Ушаков, Н.М. Природа и история Астраханского края / Н.М. Ушаков, В.П. Щучкина, Е.Г. Тимофеева, В.Н. Пилипенко / Астрахань: Изд-во АГПУ, 1996. - С. 11-20.
411. Федоров, А.А. Жизнь растений в шести томах. Введение. Бактерии и актиномицеты / А.А. Федоров, А.Л. Тахтаджян. - М.: Просвещение, 1974. - Т. 1. - 288 с.
412. Федоров, В.Д. О методах изучения фитопланктона и его активности / В.Д. Федоров. - М.: Изд-во Моск. ун-та, 1979. - 168 с.

413. Филиппова, С.Н. Изучение фазово-структурного состояния фосфолипидных фракций актинобактерий в связи с условиями их хранения / С.Н. Филиппова, Н.А. Сургучева, Е.В. Ермакова, М.А. Киселев, Л.П. Терехова, О.Н. Синёва, О.А. Галатенко, А.В. Забелин, В.Ф. Гальченко // Микробиология. – 2013. – Т. 82. - № 3. – С. 335-343.
414. Фогт, В.Г. Использование методов ВЭТСХ и ВЭЖХ в разработке экстракта противодиабетического / В.Г. Фогт, А.С. Степанов, Т.А. Степанова // Химия Раст. сырья. – 2008. – № 4 – С. 75-77.
415. Фокина, А.И. Антагонистическая и сорбционная активность моно-, бинарных и трехвидовых биопленок почвенных цианобактерий / А.И. Фокина, С.Г. Скугорева, Л.И. Домрачева // Теор. и Прикл. Экол. - 2020. - № 3. - С. 119–125.
416. Хазиев, А.А. Противогрибковая активность актиномицетов, выделенных с поверхности корней лекарственных растений / А.А. Хазиев, О.Б. Рябова, Е.А. Казакова // Известия Рос. Военно-медиц. академии. - 2020. - Т. 2. - № 1. – С. 181-186.
417. Халецкий, А.М. Фармацевтическая химия / А.М. Халецкий. - Л.: Медицина, 1966. - 748 с.
418. Халилова, Э.А. Экстремофильные микробные сообщества засоленных почв и их разнообразие в регионе Прикаспийской Низменности / Э.А. Халилова, С.Ц. Котенко, Э.А. Исламмагомедова, Р.З. Гасанов, А.А. Абакарова, Д.А. Аливердиева // Арид. экосистемы. – 2017. – Т. 23. - № 2 (71). - С. 52-56
419. Хасанов, В.В. Методы исследования антиоксидантов / В.В. Хасанов, Г.Л. Рыжова, Е.В. Мальцева // Химия растительного сырья. – 2004. – № 3 – С. 63-75.
420. Химическая микробиология / Н.П. Елинов. – М.: Высш. шк., 1989. - 448 с.
421. Хирш, Р. Появление антибиотиков в водной среде / Р. Хирш, Т. Тернес, К. Хаберер, К.Л. Крац // Наука об общей окружающей среде. - 1999. - С. 109-118.
422. Хоулт, Д. Определитель бактерий Берджи / Д. Хоулт, Н. Криг, П. Снит, Д. Стейнли, С. Уильямс. - Т. 2. - М.: Мир, 1997. - 368 с.

423. Цавкелова, Е.А. Структурно-функциональные особенности микробных сообществ эпифитных орхидей: биоразнообразие, роль и биотехнологическая значимость ассоциативных микроорганизмов: автореф. дис. ... докт. биол. наук: 03.02.03, 03.01.06 / Цавкелова Елена Аркадьевна. – М., 2021. - 46 с.
424. Царенко, В.М. Внеклеточные органические кислоты и их связь с функциональной активностью синезеленых водорослей: автореф. дис.... канд. биол. наук: 03.00.18 / Царенко Виталий Михайлович. – Киев, 1983. – 26 с.
425. Цзен, Цзи-мянь Опыты по хранению азотфиксирующих синезеленых водорослей с помощью высушивания / Цзи-мянь Цзен. - Шуйшэн Шэньусюэ цзикань, 1959. - № 4. – 452 с.
426. Цыренова, Д.Д. Таксономическая и экологическая характеристика цианобактерий некоторых солоноватых и соленых озер Южного Забайкалья / Д.Д. Цыренова, А.В. Брянская, З.Б. Намсараев, В.Н. Акимов // Микробиология. - Т. 80. - № 2. - 2011. - С. 230-240.
427. Чан, Ван Ни Физиолого-биохимические основы использования свободноживущих азотфиксирующих цианобактерий в рисоводстве северного Вьетнама: автореф. дис. ... докт. биол. наук: 03.00.07 / Чан Ван Ни. – Пуццино, 1990. – 35 с.
428. Чернова, Е.Н. Токсичные метаболиты сине-зелёных водорослей и методы их определения / Е.Н. Чернова, Я.В. Русских, З.А. Жаковская // Вестник СПбГУ. Физика и химия. - 2017. - Т. 4 (62). - Вып. 4. - С. 440-473.
429. Чудина, А.И. Изучение химического состава нейтральной фракции гексанового экстракта коры сосны методом хромато-масс-спектрометрии / А.И. Чудина, В.И. Шарыпов, Б.Н. Кузнецов // Журнал Сибирс. Гос. Универс. Химия. - 2011. - № 4. - С. 350-355.
430. Чулуун, Б. Сравнение показателей фитотоксичности, фунгицидной и бактерицидной активности стрептомицетов из различных местообитаний / Б. Чулуун, К.А. Сапармырадов, Ф.К. Алимова, А.З. Миндубаев // Бутлеровские сообщения. - 2014. - Т. 38. - № 6. - С. 147-152.

431. Шабанов, Р.М. Деградация земель в республике Калмыкия в контексте глобальной экологической проблемы опустынивания территорий. В сб.: Итоги и перспективы развития агропромышленного комплекса. Сборник материалов Международной научно-практической конференции / Р.М. Шабанов, Ч.С. Бембеев. - 2018. - С. 476-481.
432. Шалбуев, Д. В. Практикум по оценке качества сточных вод на кожевенно-меховых предприятиях. Учебное пособие / Д.В. Шалбуев. – Улан-Удэ: Изд-во ВСГТУ, 2006. – С. 11-25.
433. Шамханов, Ч.Ю. Физико-химические свойства комплексного препарата кератинрасщепляющих протеаз актиномицета *Streptomyces fradiospiralis* ВКМ А-157 / Ч.Ю. Шамханов, Л.В. Антипова // Известия Высш. Учеб. Завед. Пищевая технология. - 2005. - № 23. - С. 64-66.
434. Шаов, А.Х. Основные методы обнаружения химических элементов в природных и сточных водах. Лабораторные работы по спецкурсу / А.Х. Шаов, Т.А. Борукаев, М.М. Бегретов. – Нальчик: Каб.-Балк. ун-т, 2003. – С. 8-30.
435. Шарова, Н.Ю. Биосинтез ингибиторов глюкозидаз актиномицетами рода *Streptomyces* / Н.Ю. Шарова, Т.А. Никифорова, О.А. Ходкевич // Хранение и перераб. сельхозсырья. - 2008. - № 3. - С. 53–56.
436. Шемякин, М.М. Химия антибиотиков / М.М. Шемякин, А.С. Хохлов, М.Н. Колосов - М.: АН СССР, 1961. - 776 с.
437. Широких, И.Г. Биологическая активность *Streptomyces hygroscopicus* против фитопатогенного гриба *Fusarium avenaceum* в ризосфере / И.Г. Широких, О.В. Мерзаева // Микол. и Фитопат. - 2008. - Т. 42. - № 6. - С. 587–592.
438. Широких, И.Г. Влияние *Streptomyces castelarensis* А4 на заболеваемость и урожайность зерновых культур полевого севооборота / И.Г. Широких, А.В. Бакулина, Я.И. Назарова, А.А. Широких, Л.М. Козлова // Микол. и Фитопатол. - 2020. - Т. 54. - № 1. - С. 59-66.
439. Широких, И.Г. Влияние штамма *Streptomyces hygroscopicus* А-4 на комплекс микромицетов – патогенов яровой мягкой пшеницы / И.Г. Широких,



- О.В. Рябова, А.В. Харина, Л.А. Коряковцева, А.А. Широких // Микол. и Фитопатол. - 2013. - Т. 47. - № 6. - С. 410–416.
440. Широких, И.Г. Новые штаммы стрептомицетов как перспективные биофунгициды / И.Г. Широких, Я.И. Назарова, А.В. Бакулина, Р.И. Абубакирова // Теор. и Прикл. Экол. - 2021. - № 1. - С. 172-180.
441. Широких, И.Г. Функциональное разнообразие стрептомицетов в почвах лесных и луговых фитоценозов техногенных территорий Е / И.Г. Широких, В. Товстик, А.А. Широких, Т.Я. Ашихмина // Теор. и Прикл. Экол. - 2017. - № 4. - С. 74–81.
442. Широких, И.Г. Экспериментальное получение симбиотических ассоциаций почвенных стрептомицетов с цианобактериями / И.Г. Широких, Д.А. Эиновьева, С.Ю. Огородникова, А.А. Широких // Теор. и Прикл. Экол. - 2013. - № 1. - С. 101–106.
443. Широков, Е.П. практикум по хранению и переработке плодов и овощей / Е.П. Широков. – М.: Колос, 1964. – С. 40-60.
444. Шлегель, Г. Общая микробиология / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987. – 567 с.
445. Штина, Э.А. Альгологический мониторинг почв / Э.А. Штина, Г.М. Зенова, Н.А. Манучарова // Почвоведение. – 1998. - № 12. – С. 1449 – 1461.
446. Штина, Э.А. Взаимодействия азотфиксирующих синезеленых водорослей с микроорганизмами-спутниками / Э.А. Штина, Е.М. Панкратова // Актуальные проблемы биологии синезеленых водорослей. – М.: 1974. – С. 67-78.
447. Штина, Э.А. Водоросли загрязненных нефтью почв / Э.А. Штина, К.А. Некрасова // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. - М.: Наука, 1988. - С. 57-81.
448. Штина, Э.А. Почвенные водоросли как пионеры зарастания техногенных субстратов и индикаторы состояния нарушения земель / Э.А. Штина // Ж-л Общ. Биология. – 1985. - № 4. - С. 435-444.

449. Штина, Э.А. Почвенные водоросли как экологические индикаторы / Э.А. Штина // Ботан. Журн. – 1990. - № 4. – С. 441-453.
450. Штина, Э.А. Роль водорослей в биогеоценозах суши / Э.А. Штина // Альгология. – 1991. - № 1. – С. 23-35.
451. Штина, Э.А. Экология почвенных водорослей: учеб. пособие для вузов / Э.А. Штина, М.М. Голлербах. - М.: Наука, 1976. - 143 с.
452. Щетинин, Е.В. Полимиксины — новый взгляд на известные антибиотики / Е.В. Щетинин // Обзор, журнал Клинич. Микробиол. и Антимикр. Химиотер. 2000. - Т. 2. - № 3. - С. 68-73.
453. Щучкина, В.П. История развития рельефа юго-западной части Прикаспийской низменности / В.П. Щучкина. - Волгоград, 1983. - 92 с.
454. Юнг, Л.А. Влияние синезеленых водорослей на почвенную микрофлору / Л.А. Юнг // Современное состояние и перспективы изучения почвенных водорослей в СССР. Тр. Кировск. с-х. ин-та. - 1967. - Вып. 40. - С. 254-261.
455. Ющук, Н.Д. Антибиотики и противоинфекционный иммунитет / Н.Д. Ющук, И.П. Балмасова, В.Н. Царев // Практическая Медицина. - 2012. - 232 с.
456. Яковлева, Л.В. Структура и морфологические особенности антропогенно-измененных почвенно-растительных комплексов дельты Волги / Л.В. Яковлева, С.Н. Перевалов, А.С. Подковырова // Вестник Оренбур. Гос. Универс. - 2009. - Ч. II. - С. 307-309.
457. Abdel-Raouf N. Agricultural importance of algae / N. Abdel-Raouf, A. Al-Homaidan, I. Ibraheem // African J. Biotechnology. 2012. - № 11. - P.11648-11658.
458. Abdel-Razek, A.S. Penicisteroid C: new polyoxygenated steroid produced by co-culturing of *Streptomyces piomogenus* with *Aspergillus niger* / A.S. Abdel-Razek, A. Hamed, M. Frese, N. Sewald, M. Shaaban // Steroids. - 2018. - № 138. - P. 21–25.
459. Abed, R.M. Application of cyanobacteria in biotechnology / R.M. Abed, S. Dobretsov, K. Sudesh // Appl. Microbiol. - 2008. - № 106. - P. 1-12.
460. Abed, R.M. Microbial diversity of a heavily polluted microbial mat and its community changes following degradation of petroleum compounds / R.M. Abed,

N.M. Safi, J. Koster, D. de Beer, Y. El-Nahhal, J. Rullkotter, F. Garcia-Pichel // Appl. Environ. Microbiol. - 2002. - № 4. - P. 1674-1683.

461. Abed, R.M. Polyphasic characterization of benthic, moderately halophilic, moderately thermophilic cyanobacteria with very thin trichomes and the proposal of *Halomicronema excentricum* gen. nov., sp. nov. / R.M. Abed, F. Garcia-Pichel, M. Hernández-Mariné // Archives of Microbiol. – 2002. – V. 177. - P. 361–370.

462. Algal chemical ecology / Ed. by C. Amsler. Berlin-London: Springer, 2008. - 314 p.

463. Amaresan, N.J. In plant growth promotion: mechanisms and role / N.J. Amaresan, H. Naik, K. Kumar, K.G. Bapatla, R.K. Mishra // New and Future Develop. in Microbial Biotechnol. and Bioengin.: *Actinobacteria: Diversity and Biotechnol. Appl.* - 2018. - P. 125–135.

464. Angermayr, S.A. Energy biotechnology with cyanobacteria / S.A. Angermayr, K.J. Hellingwerf, P. Lindblad, M.J. De Mattos // Curr. Opin. Biotech. - 2009. - V. 20. - № 3. - P. 257–263.

465. Apelblat, A. Citric Acid / A. Apelblat // Springer, 2014. - 357 c.

466. Asano, N. Glycosidase inhibitors: update and perspectives on practical use / N. Asano // Glycobiology. - 2003. - V. 13. - № 10. - P. 93-104.

467. Asan-Ozusaglam, M. Bioactivity and Antioxidant Capacity of *Anabaenopsis* sp. (Cyanobacteria) Extracts / M. Asan-Ozusaglam, Y.S. Cakmak, M. Kaya // J. of Algal Biomass Utiliz. – January. - 2013. – P. 50-58.

468. Asthana, R.K. Isolation and identification of a new antibacterial entity from the Antarctic cyanobacterium Nostoc CCC 537 / R.K. Asthana, M.K. Tripathi, A. Deepali, A. Srivastava, A.P. Singh, S.P. Singh, G. Nath, R. Srivastava, B.S. Srivastava // J. Appl. Phycol. – 2009. - № 21. – P. 81–88.

469. Atkins, R. The Microcystis cyanobacteria bloom in the Swan river / R. Atkins, T. Rose, R.S. Brown, M. Robb // Water Sci Technol. - 2001. - № 43 (9). – P. 107–114.

470. Barka, A. Microalgae as a potential source of single-cell proteins. A review / A. Barka, C. Blecker // *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* - 2016. - V. 20. - № 3. - P. 427–436.
471. Barth, H.J. The influence of cyanobacteria on oil polluted intertidal soils at the Saudi Arabian Gulf shores / H.J. Barth // *Mar. Pollut. Bull.* - 2003. - № 10. - P. 1245–1252.
472. Basilio, A.I. Patterns of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and salinity / A.I. Basilio, M.F. Gonzalez, J. Vicente, A. Gorrochategui, A. Cabello, O. Gonzalez // *J. of Appl. Microbiol.* - 2003. - V. 95. - № 4. - P. 814–823.
473. Bataeva, Y.V. Composition of phototrophs in different soil types of Astrakhan oblast / Y.V. Bataeva, I.S. Dzerzhinskaya, L.V. Yakovleva // *Euras. Soil Sci.* – 2017. – Vol. 50. - № 8. – P. 943-951.
474. Bauld J. Microbial mats in marginal marine environments: Shark Bay, Western Australia, and Spencer Gulf, South Australia. *Microbial Mats: Stromatolites* / J. Bauld; eds. Y. Cohen, R.W. Castenholz, H.O. Halverson. – New York, 1984. - P. 39-58.
475. Bauld J. Occurrence of benthic microbial mats in Saline Lake / J. Bauld // *Hydrobiologia.* – 1981. - P. 81-87.
476. Becher, P.G. The cyanobacterial alkaloid nostocarboline: An acetylcholinesterase and trypsin inhibitor / P.G. Becher, H.I. Baumann, K. Gademann, F. Juttner // *J. of Appl. Phycology.* – 2009. - V. 21 (1). – P. 103–110.
477. Bennura, T. *Nocardioopsis species*: incidence, ecological roles and adaptations / T. Bennura, A. Ravikumara, S. Zinjardea, V. Javdekar // *Microbiol. Research.* - 2015. - № 174. - P. 33-47.
478. Bentley, S.D. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2) / S.D. Bentley, K.F. Chater, A.-M. Cerdeno-Tarraga // *Nature.* - 2002. - V. 417. - № 1. - P. 141-147.
479. Bentley, S.D. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2) / S.D. Bentley, K.F. Chater, A.M. Cerdeño-

- Tárraga, G.L. Challis, N.R. Thomson, K.D. James, D.E. Harris, M.A. Quail, H. Kieser, D. Harper, A. Bateman, S. Brown, G. Chandra, C.W. Chen, M. Collins, A. Cronin, A. Fraser, A. Goble, J. Hidalgo, T. Hornsby, S. Howarth, C.H. Huang, T. Kieser, L. Larke, L. Murphy, K. Oliver, S. O'Neil, E. Rabbinowitsch, M.A. Rajandream, K. Rutherford, S. Rutter, K. Seeger, D. Saunders, S. Sharp, R. Squares, S. Squares, K. Taylor, T. Warren, A. Wietzorrek, J. Woodward, B.G. Barrell, J. Parkhill, D.A. Hopwood // *Nature*. – 2002. - №417 (6885). - P. 141-147.
480. Berdy, J. Are actinomycetes exhausted as a source of secondary metabolites? / J. Berdy // *Proc. 9th Intern. Symp. Biol. of Actinomycetes*. Moskva, 1994. – 27 p.
481. Bereziuk, Y. The amino acid composition of the biomass of the strain *Streptomyces fradiae* CNMN-AC-11, cultivated on a complex medium with bio products of a cyanobacterial nature / Y. Bereziuk, S. Boortseva, M. Byrsa, S. Garaeva, A. Manciu // *Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie*. -2017. - T. 24. - № 2. - P. 60-65.
482. *Bergey' manual of Systematic Bacteriology* / Eds. Williams and Wilkins. – Baltimore, Hong Kong, London, Sydney. 1984, 1997, 2001.
483. Berry, J.P. Cyanobacterial toxins as allelochemicals with potential applications as algacides, herbicides and insecticides / J.P. Berry, M. Gantar, M.H. Perez, G. Berry, F.G. Noriega // *Mar. Drugs*. – 2008. - № 6. – P. 117–146.
484. Berthold, P.R. An engineered *Streptomyces hygroscopicus* APH 7 gene mediates dominant resistance against hygromycin b in *Chlamydomonas reinhardtii* / P.R. Berthold, W. Schmitt // *Protist*. - 2002. - V. 153. - № 4. - P. 401–412.
485. Bhatti, A.A. Actinomycetes benefaction role in soil and plant health / A.A. Bhatti, S. Haq, R.A. Bhat // *Microbial Pathogen*. - 2017. - V. 111. - P. 458–467.
486. Bhavana, M. Optimization of culture conditions of *Streptomyces carpaticus* (MTCC-11062) for the production of antimicrobial compound / M. Bhavana, V.S. Prasadtalluri, K. Sivakumar, S.V. Rajagopal // *Int. J. Pharm Pharm Sci*. - 2014. - № 6. - P. 281-285.

487. Biliavska, L.O. Sterols biosynthesis by soil streptomycetes / L.O. Biliavska, A.M. Ostapchuk, S.I. Voychuk, G.O. Iutynska // *The Ukrainian Biochem. J.* - 2017. - V. 89. - № 2. - P. 78–84.
488. Billi, D. Engineering desiccation tolerance in *Escherichia coli* / D. Billi, D.J. Wright, R.F. Helm, T. Prickett, M. Potts, J.H. Crowe // *Appl. Environ. Microbiol.* - 2000. - V. 66. - P. 1680-1684.
489. Biondi, N. Evaluation of *Nostoc strain* ATCC 53789 as a potential source of natural pesticides / N. Biondi, R. Piccardi, M.C. Margheri, F.L. Rodol, G.D. Smith, M.R. Tredici // *Appl. Environ. Microbiol.* - 2004. - № 70. – P. 3313–3320.
490. Blom, J.F. Potent algicides based on the cyanobacterial alkaloid nostocarboline / J.F. Blom, T. Brutsch, D. Barbaras, Y. Bethuel, H.H. Locher, C. Hubschwerlen, K. Gademann // *Org. Lett.* - 2006. - № 8. - P. 737–740.
491. Blunt, J.W. Marine natural products / J.W. Blunt, B.R. Copp, W.P. Hu, M.H. Munro, P.T. Northcote, M.R. Prinsep // *Nat. Prod. Rep.* – 2009. - № 26. - P. 170–244.
492. Borowitzka, M.A. *Microalgal Biotechnology* / M.A. Borowitzka, L.J. Borowitzka. - U.S.A.: Cambridge University Press, 1992. – 179 p.
493. Brandao, P.F.B. Discrimination and taxonomy of geographically diverse strains of nitrile-metabolizing actinomycetes using chemometric and molecular sequencing techniques / P.F.B. Brandao, Ju.P. Clapp, A.T. Bull // *Environmental Microbiology.* - 2002. - V. 4. - № 5. - P. 262–276.
494. Brinckmann, J. *Collagen, Topics in Current Chemistry* / J. Brinckmann, H.N. Otbohm, P.K. Müller // Springer. Berlin. - 2005. - 247 c.
495. Brock, T.D. *Thermophilic Microorganisms and Life at High Temperatures* / T.D. Brock. - New York: Springer Verlag., 1978. - P. 465.
496. Brown, A.D. Microbial water stress / A.D. Brown // *Bacteriol. Rev.* – 1976. – V. 40. – P. 803-846.
497. Burja, A.M. Marine cyanobacteria – a prolific source of natural products / A.M. Burja, B. Banaigs, E. Abou-Mansour, J.G. Burgess, P.C. Wright // *Tetrahedron.* - 2001. - № 57. – P. 9347-9377.

498. Campbell, J. Accumulation of poly-beta-hydroxybutyrate in *Spirulina platensis* / J. Campbell, S.E.J. Stevens, D.L. Balkwill // *J. of Bacteriology*. – 1982. – V. 149. – P. 361-363.
499. Cardellina, J.H. Richard E. Moore (1933–2007) / J.H. Cardellina, B.S. Moore // *J. Nat. Prod.* – 2010. - № 73. - P. 301–302.
500. Cardozo, K.H. Metabolites from algae with economical impact / K.H. Cardozo, T. Guaratini, M.P. Barros, V.R. Falcão, A.P. Tonon, N.P. Lopes // *Comp. Biochem. Phys.* - 2007. - № 146. – P. 60–78.
501. Carmichael, W.W. The Cyanotoxins / W.W. Carmichael // *Bot. Res.* - 1997. - P. 212-256.
502. Carrillo, L. Alkalithermophilic actinomycetes in a subtropical area of jujuy, Argentina / L. Carrillo, M.R. Benítez, M.J. Maldonado // *Revista Argentina de Microbiol.* - 2009. - V. 41. - № 2. - P. 112–116.
503. Castenholz, R.W. Physiology of sulfide tolerance in a thermophilic *Oscillatoria* / R.W. Castenholz, H.C. Utkilen // *Arch. Microbiol.* - 1984. - P. 299-305.
504. Castenholz, R.W. The behavior of *Oscillatoria terebriformis* in hot springs / R.W. Castenholz // *J. Phycol.* – 1968. - № 2. – P. 132-139.
505. Castenholz, R.W. The effect of sulfide on the blue green algae of hot springs. Yellowstone National Park / R.W. Castenholz // *Microbial. Ecol.* - 1977. - P. 79-105.
506. Castillo, M.A. Biodegradation of the herbicide diuron by streptomycetes isolated from soil / M.A. Castillo, N. Felis, G. Cuesta, C. Sabater, P. Aragón // *Intern. Biodeterioration & Biodegradation.* - 2006. - V. 58. - № 3. - P. 196–202.
507. Chater, K.F. Chlorobiocin biosynthesis in *Streptomyces*: identification of the halogenase and generation of structural analogs / K.F. Chater // *Chemistry & Biology.* - 2003. - V. 10. - № 3. - P. 279–288.
508. Chater, K.F. The complex extracellular biology of *Streptomyces*: review article / K.F. Chater, S. Biró, K.J. Lee, T. Palmer, H. Schrempf // *FEMS Microbiology Reviews.* - 2010. - V. 34. - № 2. - P. 171–198.

509. Chehregani, A. Essential oil variation in the populations of *Artemisia spicigera* from northwest of Iran: chemical composition and antibacterial activity / A. Chehregani, M. Atri, S. Yousefi, Z. Albooyeh, F. Mohsenzadeh // *Pharm. Biol.* - 2013. - № 51 (2). - P. 246-252.
510. Chitte, R.R. Potent fibrinolytic enzyme from a thermophilic *Streptomyces megasporus* strain SD5 / R.R. Chitte, S. Dey // *Letters in Appl. Microbiol.* - 2000. - V. 31. - № 6. - P. 405–410.
511. Cho, J.Y. Antibacterial benzaldehydes produced by seaweed-derived *Streptomyces atrovirens* PK288-21 / J.Y. Cho, M.S. Kim // *Fisheries Sci.* - 2012. - V. 78. - № 5. - P. 1065–1073.
512. Chorus, I. Toxic cyanobacteria in water, a guide of their public health consequences, monitoring, and management / eds. I. Chorus, J. Bartram. - London: Spoon, 1999. – 400 p.
513. Choudoir, M.J. Diversification of secondary metabolite biosynthetic gene clusters coincides with lineage divergence in *Streptomyces* / M.J. Choudoir, C. Peper-Ranney, D.H. Buckley // *Antibiotics.* - 2018. - № 1 (15). - P. 303–307.
514. Cohen, Y. Bioremediation of oil by marine microbial mats / Y. Cohen // *Int. Microbiol.* - 2002. - № 5. - P. 189-193.
515. Cohen, Y. Old degradation by cyanobacterial mats / Y. Cohen, L. Aizenshtat // 10<sup>th</sup> Int. symp. on Phototrophic Prokaryotes Program. A. Abstracts. - Barcelona, Spain, 2000. - P. 85.
516. Cohen, Y. Photosynthesis in cyanobacterial mats and its relation to the sulfur cycle: a model for microbial sulfur interactions / Y. Cohen // *Physiological Ecology of Benthic Microbial Communities.* Washington. - 1989. - P. 22-36.
517. Cohen, Z. Chemicals from microalgae / Z. Cohen. – London: Taylor & Francis, 1999. – 450 p.
518. Colombo, E.M. Critical assessment of streptomyces spp. able to control toxigenic fusaria in cereals: A literature and patent review / E.M. Colombo, A. Kunova,



- P. Cortesi, M. Saracchi, M. Pasquali // Intern. J. of Molec. Sci. - 2019. - V.20. - № 24. – 6119 p.
519. Cowan, M.M. Plant Products as antimicrobial agents / M.M. Cowan // Clin. Microbiol. Rev. - 1999. - V.12. - № 4. - P. 564-582.
520. Cox, P.A. Diverse taxa of cyanobacteria produce beta-N-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid / P.A. Cox, S.A. Banack, S.J. Murch, U. Rasmussen, G. Tien, R.R. Bidigare, J.S. Metcalf, L.F. Morrison, G.A. Codd, B. Bergman // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2005. - V.102. - P. 5074.
521. Cseke, L.J. Analytical and Preparative Separations of Natural Products / L.J. Cseke, W.N. Setzer, B. Vogler, A. Kirakosyan, P.B. Kaufman // Traditional. C.R.C. Press, London. – 2006. – P. 264-317.
522. Cyanobacteria: Ecology, Toxicology and Management / Eds: Aloysio Da S. Ferrao-Filho. - New York: Nova Science Pub. Inc., 2013. - 225 p.
523. Czekanowski, J. Coefficient of racial likeness and durchschnittliche Differenz / J. Czekanowski // Anthropol. Anz. - 1922. - V. 9. - P. 227-249.
524. D'Antoni D'Amelio, E. Comparative functional ultrastructure of two hypersaline submerged cyanobacterial mats: Guerrero Negro, Baja California Sur, Mexico, and Solar Lake, Sinai, Egypt / E. D'Antoni D'Amelio, Y. Cohen, D. Des Marais; eds. Cohen Y., Rosenberg E. // Microbial Mats. Physiological Ecol. of Benthic Microb. Communities. - Washington. - 1989. - P. 97-113.
525. Dai, W. Antiviral efficacy of flavonoids against enterovirus infection in vitro and in newborn mice / W. Dai, J. Bi, F. Li, S. Wang, X. Huang, X. Meng, B. Sun, D. Wang, W. Kong, C. Jiang, W. Su // Microbiol. Rev. – 2019. - № 11 (625). - P. 1-14.
526. Das, A.C. Soil application of insecticides influences microorganisms and plant nutrients / A.C. Das, D. Mukherjee // Appl. Soil Ecology. - 2000. - V. 14. - № 1. - P. 55–62.
527. Dixit, R.B. Cyanobacteria: Potential candidates for drug discovery / R.B. Dixit, M.R. Suseela // Anton Leeuw. – 2013. - № 103. – P. 947-961.

528. Domracheva, L.I. Anti-fusarium activity of cyanobacteria and actinomycetes in soil and rhizosphere / L.I. Domracheva, I.G. Shirokikh, A.I. Fokina // *Microbiology*. - 2010. - V. 79. - № 6. - P. 871–876.
529. Drăcea, O. New thioureides of 2-(4-methylphenoxyethyl) benzoic acid with antimicrobial activity / O. Drăcea, C. Larion, M.C. Chifiriuc, I. Raut, C. Limban, G.M. Nițulescu, C.D. Bădiceanu, A.M. // *Israel Roum Arch. Microbiol. Immunol.* - 2008. – V. 67 (3-4). - P. 92-97.
530. Efimenko, T.A. Antibiotic activity of bacterial endobionts of basidiomycete fruit bodies / T.A. Efimenko, I.A. Malanicheva, B.F. Vasil'eva, A.A. Glukhova, I.G. Sumarukova, Yu.V. Boikova, N.D. Malkina, L.P. Terekhova, O.V. Efremenkova // *Microbiology*. - 2016. - V. 85. - P. 740–747.
531. Ernstgard, L. Acute effects of 1 mg/m<sup>3</sup> of vaporized 2-ethyl-1-hexanol in humans / L. Ernstgard // *Indoor air*. - 2010. - V. 20. - № 2. - P. 168–175.
532. Ettl, H. *Syllabus der Boden-Luft-und Flechtenalgen* / H. Ettl, G. Gärtner. - Stuttgart-Jena-New York: Gustav Fischer Verlag, 1995. - 721 p.
533. Eun-Soo, Park Antimicrobial activity of phenol and benzoic acid derivatives / Park. Eun-Soo, Moon Woong-Sig, Song. Min-Jin, Kim. Mal-Nam, Chung. Kyoo-Hyun, Yoon. Jin-San // *Intern. Biodeterioration and Biodegradation*. - 2001. - V.47. - № 4. - P. 209–214.
534. Facey, J.A. A Review of the Effect of Trace Metals on Freshwater Cyanobacterial Growth and Toxin Production / J.A. Facey, S.C. Apte, S. Mitrovic // *Toxins*. - 2019. - V.11. - № 643. - P. 1-18.
535. Fadl-Allah, E.M. In vitro creation of artificial nitrogen fixing Cyanobacterium (*Nostoc muscorum*) association with wheat / E.M. Fadl-Allah, H.M. El-komy, N.A. Al-Harbi, E.N. Sholkamy // *African J. of Microbiol. Research*. - 2011. - V. 5. - № 3. - P. 302–310.
536. Fay, P. Heterotrophy and nitrogen fixation in *Chlorogloea fritschii* / P. Fay // *J. Gen. Microbiol.* - 1965. - P. 39.

537. Fernandez-Ballester, G. The histidine-phosphocarrier protein of *Streptomyces coelicolor* folds by a partially folded species at low / G. Fernandez-Ballester, J. Maya, A. Martín, J. Gómez, J.L. Neira, S. Parche, F. Titgemeyer // FEBS Journal. - 2003. - V. 270. - № 10. - P. 2254–2267.
538. Ferrari, P.F. TNF  $\alpha$ -induced endothelial activation is counteracted by polyphenol extract from UV-stressed cyanobacterium *Arthrospira platensis*. P.F. Ferrari, D. Palmieri, A.A. Casazza, B. Aliakbarian, P. Perego, D. Palombo // Med. Chem. Res. - 2015. - № 24. – P. 275–282.
539. Flechtner, V.R. The biological soil crusts of the San Nicolas Island: enigmatic algae from a geographically isolated ecosystems / V.R. Flechtner, J.R. Johansen, J. Belnap // Western North American Naturalist. - 2008. - V. 68 (4). - P. 405–436.
540. Flores, E. Assimilatory nitrogen metabolism and its regulation / E. Flores, A. Herrero; in: D.A. Bryant (ed.) // The Molecular Biology of Cyanobacteria. - 1994. – P. 487-517.
541. Fogg, G.E. Extracellular products of phytoplankton photosynthesis / G.E. Fogg, C. Nalewajko, W.D. Watt. - Proc. Roy. Soc., 1965. – 517 p.
542. Fogg, G.E. The blue-green algae / G.E. Fogg, W.P. Stewart, P. Fay, A.E. Walsby. – London; New York: Acad. Press, 1973. – 459 p.
543. Fogg, G.E. The Extracellular products of algae / G.E. Fogg // Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. - 1966. – P. 195.
544. Frosini, A. Characterisation of the biological activity of *Nostoc sp.* PTA 251 and isolation of the active compounds / A. Frosini., R. Piccardi, L. Calamai. - Algae and Human Affairs in the 21st Century. Consiglio Nazionale delle Ricerche: Area della ricerca di Firenze, 1999. – P. 201.
545. Furey, A. Hepatotoxins: Context and chemical determination A. Furey, O. Allis, P.M. Ortea, M. Lehane, K.J. James / Seafood and freshwater toxins. Pharmacology, physiology and detection, ed. by L.M. Botana. Boca Raton, 2008. - P. 844–886.
546. García-Salcedo, R.R. Characterization of the jomthonic acids biosynthesis pathway and isolation of novel analogues in *Streptomyces caniferus* GUA-06-05-006A

- / R.R. García-Salcedo, C. Álvarez-Álvarez, A.F. Olah, C. Brana, J.A. Méndez, L. Salas, F. Cañedo, D.L. Calle // *Marine Drugs*. - 2018. - № 16 (8). - 259 p.
547. Gayathri, M. In vitro regeneration of *Arachis hypogaea* L., and *Moringa oleifera* Lam. using extracellular phytohormones from *Aphanothece* sp. MBDU 515 / M. Gayathri, P.S. Kumar, A.M.L. Prabha, G. Muralitharan // *Algal Res.* – 2015. - № 7. – P. 100–105.
548. Gernerden, V. Microbial mats: A joint venture / V. Gernerden // *Mar. Geol.* – 1993. – P. 3-25.
549. Gerwick, W.H. Giant marine cyanobacteria produce exciting potential pharmaceuticals / W.H. Gerwick, R.C. Coates, N. Engene, L. Gerwick, R.V. Grindberg, A.C. Jones, C.M. Sorrels // *Microbe.* – 2008. - № 3. - P. 277–284.
550. Gerwick, W.H. Screening cultured marine microalgae for anticancer-type activity / W.H. Gerwick, M.A. Roberts, P.J. Proteau, J.L. Chen // *J. Appl. Phycol.* – 1994. – № 6 – P. 143–149.
551. Ghasemi, Y. Parsiguine, a novel antimicrobial substance from *Fischerella ambigua* / Y. Ghasemi, M.T. Yazdi, A. Shafiee, A. Amini, S. Shokravi, G. Zarrini // *Pharmac. Biology.* – 2004. – № 42. – P. 318-322.
552. Goldwhite, H. Short summary of the career of the German organic chemist, Hermann Kolbe / H. Goldwhite // *New Haven Section Bull. Am. Chem. Soc. Journal.* - 2003. - V. 20. - № 3. - P. 203–218.
553. Grigoryan, L.N. Study of the component structure of the metabolites of bacteria *Nocardiopsis umidischolae* in the search for eco-friendly plant protection agents / L.N. Grigoryan, Y.V. Bataeva, E.D. Andreeva, D.Kh. Zakar'yaeva, Z.O. Turaeva // *Rus. J. of Gen. Chem.* – 2020. - № 90 (13). - P. 2531–2541.
554. Grünewald, J. Chemoenzymatic and template-directed synthesis of bioactive macrocyclic peptides / J. Grünewald, M.A. Marahiel // *Microbiol. & Molec. Biol. Rev.* - 2006. - V. 70. - № 1. - P. 121-146.
555. Guererro, M.C. Environmental factors controlling the development of microbial mats in inland saline lakes; the granulometric composition of the sediment. *Microbial*

mats / M.C. Guerro, A.B. Tadeo, R. de Wit; eds. L.J. Stal, P. Caumette. -Heidelberg: Springer-Verlag, 1994. - P. 85-90.

556. Guo, S. Natural product leads for drug discovery: isolation, synthesis and biological evaluation of 6-cyano-5-methoxyindolo[2,3-a]carbazole based ligands as antibacterial agents / S. Guo, S.K. Tipparaju, S.D. Pegan, B. Wan, S. Mo, J. Orjala, A.D. Mesecar, S.G. Franzblau, A.P. Kozikowski // *Bioorg. Med. Chem.* - 2009. - № 17. – P. 7126–7130.

557. Gupta, A. Extraction, isolation, and bioassay of a gibberellin-like substance from *Phormidium foveolarum* / A. Gupta, P. Agarwal // *Ann. Bot.* - 1973. - № 37. – P. 737–741.

558. Gutie´rrez, R.M.P. Two new antibacterial norbietetane diterpenoids from cyanobacterium *Micrococcus lacustris* / R.M.P. Gutie´rrez, A.M. Flores, R.V. Solis, J.C. Jimenez // *J. Nat. Med.* - 2008. - № 62. – P. 328–331.

559. Hackman, R.H. The occurrence of phenolic substances in arthropods / R.H. Hackman, M.G. Pryor, A.R. Todd // *The Biochemical J.* - 1948. - V. 43. - № 3. - P. 474-477.

560. Hammer, U.T. The succession of bloom species of blue-green algae and some casual factors / U.T. Hammer // *Verhandl. Internat. Verein. theoret. und angew. Limnol.* – 1964. – № 2. - P. 829-836.

561. Haritha, R. Characterization of marine *Streptomyces carpaticus* and optimization of conditions for production of extracellular protease / R. Haritha, K. Sivakumar, A. Swathi, Y.S.Y.V. Jagan Mohan, T. Ramana // *Microbiol. J.* - 2012. - № 2. - P. 23-35.

562. Hatanaka, T. Sequencing of metalloendopeptidase from *Streptomyces septatus* TH-2 / T. Hatanaka, M. Iwabuchi, J.A. Yoshiko Uesugi // *Archives of Biochem. and Biophys.* - 2005. - V. 434. - № 2. - P. 289–298.

563. Heise, S. Phthalates / S. Heise, N. Litz. - Berlin: Germ. Fed. Environ. Agency, 2004. – 40 p.

564. Herbst, V. Metabolic coupling between the algae *Oscillatiria redekei* and accompanying bacteria / V. Herbst, J. Overbeek // *Naturwissenschaften*. - 1978. - № 11. - P. 598-599.
565. Hirata, K. Bioactivities of nostocine A produced by a freshwater cyanobacterium *Nostoc spongiaeforme* TISTR 8169 / K. Hirata, S. Yoshitomi, S. Dwi, O. Iwabe, A. Mahakhant, J. Polchai, K. Miyamoto // *J. Biosci. Bioeng.* – 2003. - № 95. – P. 512–517.
566. Hirsch, A.M. Hormonal regulation in plant-microbe symbioses (symposium remarks) / A.M. Hirsch // *Biology of Plant-Microbe Interactions*. - 2004. - V. 4. - P. 389–390.
567. Hou, B.L. Global regulator bldA regulates morphological differentiation and lincomycin production in *Streptomyces lincolnensis* / B.L. Hou, X. Tao, W. Zhu, M. Wu, H. Guo, H. Wu, J.Y. Zhang // *Appl. Microbiol. and Biotechnol.* - 2018. - № 102 (9). - P. 4101–4115.
568. Hristeva, T.H. Screening of soil actinomycetes with antagonistic activity against pathogens of the genus *Alternaria* at tobacco plants / T.H. Hristeva // *Евраз. союз ученых*. - 2016. - № 31 (2). - P. 48–52.
569. [http://genome.jgipsf.org/microbial/ana\\_va.home.html](http://genome.jgipsf.org/microbial/ana_va.home.html)
570. [http://molbiol.ru/protocol/24\\_01.html](http://molbiol.ru/protocol/24_01.html)
571. <http://www.bio-protocol.org/e1428>
572. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
573. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>
574. <https://www.nist.gov/news-events/news/2014/07/latest-nist-mass-spectral-library-expanded-coverage-features>
575. Hussain, A. Comparative assessment of the efficacy of bacterial and cyanobacterial phytohormones in plant tissue culture / A. Hussain, S. Hasnain // *World J. Microbiol. Biotechnol.* - 2011. - № 28. - P. 1459–1466.
576. Hussain, A. Phytostimulation and biofertilization in wheat by cyanobacteria / A. Hussain, S. Hasnain // *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* - 2010. - № 38. - P. 85–92.

577. Indhuja, S.S. Extracellular keratinolytic proteases from an alkalophilic *Streptomyces albidoflavus* TBG-S13A5: enhanced production and characterization / S.S. Indhuja, N.S. Shiburaj, V. Pradeep, T.K. Thankamani // J. of Pure and Appl. Microbiol. - 2012. - V. 66. - № 4. - P. 1599–1607.
578. Ishibashi, F. Synthesis and algicidal activity of (+)- cyanobacterin and its stereoisomer / F. Ishibashi, S. Park, T. Kusano, K. Kuwano // Biosci. Biotechnol. Biochem. – 2005. - № 69. – P. 331–396.
579. Isichei, A.O. The role of algae and cyanobacteria in arid lands / A.O. Isichei // Arid Soil Res. and Rehabil. – 1990. – № 4 (1). - P. 1-17.
580. Jaccard, P. Distribution de la flore alpine dans le Bassin des Dranses et dans quelques regions voisines / P. Jaccard // Bull. Soc. Vaudoise sci. Natur. - 1901. - V. 37. - Bd. 140. - P. 241-272.
581. Jaki, B. New antibacterial metabolites from the cyanobacterium *Nostoc commune* (EAWAG 122b) / B. Jaki, J. Heilmann, O. Sticher // J. Nat. Prod. – 2000. – № 63. – P. 1283–1285.
582. Jaki, B. Novel extracellular diterpenoids with biological activity from the cyanobacterium *Nostoc commune* / B. Jaki, J. Orjala, J. Heilmann, A. Linden, B. Vogler, O. Sticher // J. Nat. Prod. - 2000. - № 63. – P. 339–343.
583. Jardine, M. Synthesis of mycothiol, 1d-1-o-(2-(n-acetyl-l-cysteinylo-amino-2-deoxy- $\alpha$ -d-glucopyranosyl)-myo-inositol, principal low molecular mass thiol in the actinomycetes / M. Jardine, D.J. Steenkamp, H.S. Spies, C.M. Nkambule, D.W. Gammon // Bioorg. Medic. Chem. - 2002. - V.10. - № 4. - P. 875–881.
584. Jepson, M.A. Cell targeting by lectins: a strategy for mucosal vaccination and drug delivery / M.A. Jepson, M.A. Clark, B.H. Hirst // Adv. Drug Deliv. Rev. - 2004. - № 56. – P. 511–525.
585. Jorgensen, B.B. Diurnal cycle of oxygen and sulfide microgradients and microbial photosynthesis in a cyanobacterial mat sediment / B.B. Jorgensen, N.P. Revsbech, T.H. Blackburn, Y. Cohen // Appl. Environ Microbiol. - 1979. - P. 46-58.

586. Jorgensen, B.B. Photosynthesis and structure of benthic microbial mats: Micro-electrode and SEM studies of four cyanobacterial communities / B.B. Jorgensen, N.P. Revsbech, Y. Cohen // *Limnol. Oceanogr.* - 1983. – P. 1075-1093.
587. Jung, S.J. Screening and evaluation of *Streptomyces species* as a potential biocontrol agent against a wood Decay fungus, *Gloeophyllum trabeum* / S.J. Jung, J.K. Lee, N.K. Kim, D.H. Lee, S.I. Hong // *Mycobiology.* - 2018. - № 46 (2). - P. 138–146.
588. Jung, W.S. Characterization and engineering of the ethylmalonyl-coa pathway towards the improved heterologous production of polyketides in *Streptomyces venezuelae* / W.S. Jung, E. Kim, Y.J. Yoo, Y.H. Ban, E.J. Kim, Y.J. Yoon // *Appl. Microbiol. and Biotechnol.* - 2014. - V. 98. - № 8. - P. 3701–3713.
589. Jungblut, A.D. Diversity within cyanobacterial mat communities in variable salinity meltwater ponds of McMurdo Ice Shelf, Antarctica / A.D. Jungblut, I. Hawes, D. Mountfort, B. Hitzfeld, D.R. Dietrich, B.P. Burns, B.A. Neilan // *Environ. Microbiol.* - 2005. - P. 519-529.
590. Kahnt, G. Use of Lupinex to increase crop yield and improve harvest quality with less nitrogen fertilization / G. Kahnt, LA. Hijazi // *J. Agron. Crop Sci.* - 1991. - V. 166.- P. 228-230.
591. Kajiyama, S. Nostifungicidine, an antifungal lipopeptide from the field-grown terrestrial blue-green algae *Nostoc commune* / S. Kajiyama, H. Kanazaki, K. Kawazu, A. Kobayashi // *Tetrahedron Lett.* – 1998. – № 39. – P. 3737–3740.
592. Kajiyama, S. Nostofungicide, an antifungal lipopeptide from the fieldgrown terrestrial bluegreen alga *Nostoc commune* / S. Kajiyama, H. Kanazaki, K. Kawazu, A. Kobayashi // *Tetrahedron Lett.* - 1998. - Vol. 39 (22). - P. 3737-3740.
593. Karrouchi, K. Synthesis and Pharmacological Activities of Pyrazole Derivatives / K. Karrouchi, S. Radi, Y. Ramli, J. Taoufik, Y.N. Mabkhot, F.A. Al-aizari. // *Molecules.* - 2018. - № 23 (134). - P. 1-85.
594. Katsui, G. Vitamin / G. Katsui, S. Ishikawa, M. Shimizu, Y. Nishimoto // *Chem. Abstr.* – 1963. - №28. – P. 77-95.



595. Kaushik, B.D. Developments in Cyanobacterial Biofertilizer / B.D. Kaushik // Proceed. of the Indian Nat. Sci. Acad. - 2014. - № 80 (2). – P. 379-388.
596. Kaushik, B.D. Effect of algal inoculation on the yield and vitamin C content of two varieties of tomato / B.D. Kaushik, G.S. Venkataraman // Plant Soil. - 1979. - № 52. – P. 135–137.
597. Kaushik, P. Cyanobacteria: Antibacterial Activity / P. Kaushik, A. Chauhan. – New India Publishing Agency, 2009. – 198 p.
598. Kaushik, P. In vitro antibacterial activity of laboratory grown culture of *Spirulina platensis* / P. Kaushik, A. Chauhan // Indian J. Microbiol. - 2008. - № 48. – P. 348–352.
599. Kim J.-B. Comparative Analysis of Cyanobacterial Communities from Polluted Reservoirs in Korea / J.-B. Kim, M.-S. Moon, D.-H. Lee, S.-T. Lee, M. Bazzicalupo, C.-K. Kim // The J. of Microbiol. – 2004. – V. 42. - № 3. - P. 181-187.
600. Kohlhase, M. Saturated and unsaturated sterols of nitrogen-fixing blue-green algae (cyanobacteria) / M. Kohlhase, P. Pohl // Phytochem. – 1988. – V. 27. – № 6. - P. 1735-1740.
601. Komárek, L. Cyanoprokaryota. 1. Teil: Oscillatoriales / L. Komárek, K. Anagnostidis; eds.: B. Büdel, G. Gärtner, L. Krienitz, M. Schlagerl. Süßwasserflora von Mitteleuropa. V.19/2. - München: Elsevier GmbH, 2005. - 760 p.
602. Kouomou, P.F.D. Evaluation of antagonistic activities against *Pythium myriotylum* and plant growth promoting traits of streptomycetes isolated from cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) SCHOTT) rhizosphere / P.F.D. Kouomou, C.A. Ewane, T. Boudjeko, S. Lerat, C. Beaulieu, D.O. Ndoumou // Australian J. of crop sci. – 2019. - V. 13. - № 6. – P. 920-933.
603. Krumbein, W.E. Biostabilization of sediments / W.E. Krumbein (ed.). - Oldenburg: Bill. and Inform. System Univer., 1994. – 528 p.
604. Krumbein, W.E. Primary production, mat formation and lithification: Contribution of oxygenic and facultative anoxygenic Cyanobacteria. Fossil Algae /

W.E. Krumbein, Y. Cohen; ed. by E. Flugel. – Berlin; Heidelberg: Springer Verlag, 1977. – P. 37-55.

605. Krylova, J.V. The pollution of Lake Ladoga by organochlorine pesticides and petroleum products / J.V. Krylova, E.A. Kurashov, N.N. Korkishko // Lakes and Reservoirs: Res. and Manag. - 2003. - № 8 (3). - P. 231–246.

606. Kulaev, I.S. The biochemistry of inorganic polyphosphates / I.S. Kulaev. - John Wiley and Sons, 1979. – 53 p.

607. Kumar, J. UVB induces biomass production and nonenzymatic antioxidant compounds in three cyanobacteria / J. Kumar, P. Parihar, R. Singh, V.P. Singh, S.M. Prasad // J. Appl. Phycol. - 2016. - № 28. - P. 131–140.

608. Kurashov, E. The Use of Allelochemicals of Aquatic Macrophytes to Suppress the Development of Cyanobacterial “Blooms” / E. Kurashov, J. Krylova, E. Protopopova // Plankton Commun. - 2020. - P. 1-31.

609. Lamb, G.D. Point: Counterpoint: Lactic acid accumulation is an advantage disadvantage during muscle activity / G.D. Lamb, D.G. Stephenson // J. of Appl. Physiology. - 2006. - № 4. - C. 1410-1412.

610. Lan, S. Cyanobacterial inoculation facultates the succession of vegetation communities / S. Lan, Q. Zhang, L. Wu, Y. Liu, D. Zhang, C. Hu // Environ. Sci. and Technol. - 2014. - V. 48. - № 1. - P. 307–315.

611. Lanciotti, R. Application of Hexanal, (E)-2-Hexenal, and Hexyl Acetate to Improve the Safety of Fresh-Sliced Apples / R. Lanciotti, N. Beletti, F. Patrignani, A. Gianotti, F. Gardini, M.E. Guerzoni // J. Agric. Food Chem. - 2003. - V. 51. - P. 2958-2963.

612. Lazareva, V.G. Dynamics of anthropogenic desertification of the European desert on the example of Russian Precaspian region / V.G. Lazareva, V.A. Bananova // Intern. J. of Engineering and Technology (UAE). - 2018. - № 7 (4). - P. 309-313.

613. Lazzarini, A.L. Rare genera of actinomycetes as potential producers of new antibiotics / A.L. Lazzarini, G. Cavaletti, F. Toppo // Antonie van Leeuwenhoek. - 2000. - V. 78. - № 3 (4). - P. 399–405.

614. Lewis, R.J. Condensed chemical dictionary Hawley / R.J. Lewis, N.Y. Van // 12th ed. New York: Strand Rheinhold. - 1993. - 776 p.
615. Liang, Q. Analysis of chemical composition of *Salvia miltiorrhiza* flower by GC-MS / Q. Liang, W.H. Xu // *Zhong Yao Cai*. - 2012. - V. 35 (1). - P.74-77.
616. Lide, D.R. Handbook of data on organic compounds / D.R. Lide, G.W.A. Milne // Volume I. 3rd ed. CRC Press, Inc. Boca Raton. Florida. - 1994. - V. 3. - P. 2551–3107.
617. Lobakova, E.S. Infection of plants and plant tissue cultures with cyanobacteria-bacteria complexes / E.S. Lobakova, A.G. Shchelmanova, T.G. Korzhenevskaya, M.V. Gusev // *Microbiology*. - 2001. - T. 70. - № 3. - P. 299-305.
618. Lund, J.W.G. Observations on soil algae. 1. The ecology, size and taxonomy of British soil diatoms / J.W.G. Lund // *New Phytologist*. - 1945. - V. 44. - № 2. - P. 169–216.
619. Luzhetskyy, A.A. Applications of bacterial glycosyltransferases: current state and prospects / A.A. Luzhetskyy, N.D. Bechthold // *Appl. Microbiol. and Biotechnol.* - 2008. - V. 80. - № 6. - P. 945–952.
620. Ma, L.X. Determination by high field NMR spectroscopy of the longitudinal electron relaxation rate in Cu (II) plastocyanin form *Anabaena variabilis* / L.X. Ma, J.J. Led // *Am. Chem. Soc.* - 2000. - № 122. - P. 7823–7824.
621. Machavariani, N.G. Isolation of Endophytic Actinomycetes from Medicinal Plants of the Moscow Region, Russia / N.G. Machavariani, T.D. Ivankova, O.N. Sineva, L.P. Terekhova // *World Appl. Sci. J.* - 2014. - V. 30. - № 11. - P. 1599-1604.
622. Macias, F.A. Allelopathic agents from aquatic ecosystems: potential biopesticides models / F.A. Macias, J.L.G. Galindo, M.D. Garcia-Diaz, J.C.G. Galindo // *Phytochem. Rev.* - 2008. - V. 7. - P.155-178.
623. Manucharova, N.A. Changes in the Phylogenetic Structure of the Metabolically Active Prokaryotic Soil Complex Induced by Oil Pollution / N.A. Manucharova, N.A. Ksenofontova, T.D. Karimov, A.P. Vlasova, G.M. Zenova, A.L. Stepanov // *Microbiology*. - 2020. - T. 89. - № 2. - C. 219-230.

624. Manucharova, N.A. Characterization of the Structure of the Prokaryotic Complex of Antarctic Permafrost by Molecular Genetic Techniques / N.A. Manucharova, E.V. Trosheva, E.M. Kol'tsova, E.V. Demkina, E.V. Karaevskaya, E.M. Rivkina, A.V. Mardanov, G.I. El'-Registan // *Microbiology*. - 2016. - T. 85. - № 1. - C. 102-108.
625. Manucharova, N.A. Molecular Analysis of the Hydrolytic Component of Petroleum Contaminated Soils and of Soils Remediated with Chitin / N.A. Manucharova, Yu.V. Kuteinikova, P.V. Ivanov, S.K. Nikolaeva, V.T. Trofimov, P.Yu. Stepanov, E.V. Tyarkina, D.N. Lipatov, A.L. Stepanov // *Microbiology*, издательство Maik Nauka // Interperiodica Publishing (Russian Federation). - 2017. - T. 68. - № 3. - C. 395-402.
626. Manucharova, N.A. Prokaryotic Component of Oil-Contaminated Oligotrophic Peat Soil under Different Levels of Mineral Nutrition: Biomass, Diversity, and Activity / N.A. Manucharova, N.A. Ksenofontova, A.A. Belov, N.N. Kamenskiy, A.V. Arzamazova, G.M. Zenova, R.R. Kinzhaev, S.Ya. Trofimov, A.I. Stepanov // *Euras. Soil Sci.* - 2021. - T. 54. - № 1. - C. 89-97.
627. Marakasova, K.S. Negative regulation of moenomycin a biosynthesis in *Streptomyces ghanaensis* ATCC14672 / K.S. Marakasova, B.O. Ostash, V.O. Fedorenko // *Micr. and biotechnol.* - 2009. - № 3 (7). - P. 36–39.
628. Marinho-Soriano, E. Effects of season on the yield and quality of agar from *Gracilaria* species (Gracilariaceae Rhodophyta) / E. Marinho-Soriano, E. Bourret // *Bioresour. Technol.* – 2003. - № 90. – P. 329–333.
629. Marsšálek, B. Extracellular abscisic acid produced by cyanobacteria under salt stress / B. Marsšálek, H. Zahradníčková, M. Hronková // *J. Plant Physiol.* – 1992. - № 139. – P. 506–508.
630. Mascotti, M.L. Expanding the toolbox for enantioselective sulfide oxidations: *Streptomyces* strains as biocatalysts / M.L. Mascotti, M. Kurina-Sanz, M.A. Palazzolo, E. Lewkowicz // *Biocatal. and Agricult. Biotechnol.* - 2013. - V. 2. - № 4. - P. 399–402.

631. Matolcsy, G. Pesticide chemistry / G. Matolcsy, M. Nádasy, V. Andriská // Elsevier. - 2002. - P. 21-22.
632. Mayer, A.M.S. Marine Pharmacology in 2001-2002. Marine compounds with anthelmintic, antibacterial, anticoagulant, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiplatelet, antiprotozoal, antituberculosis and antiviral activities, affecting the cardiovascular, immune and nervous systems and other miscellaneous mechanisms of action / A.M.S. Mayer, M.J. Hamann // Comp. Biochem. Phys. – 2005. – № 140. – P. 265-286.
633. Meffert, M.E. Net release of nitrogenous compounds by axenic and bacteria-containing cultures of *Oscillatoria redekei* (Cyanophyta) / M.E. Meffert, H. Zimmermann-Telschow // Arch. Hydrobiol. - 1979. - № 2. - P. 125-138.
634. Meriluoto, J. Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis / J. Meriluoto, L. Spoof, G. A. - Codd West Sussex: Wiley, 2017. - 576 p.
635. Miao, S. Cytotoxic metabolites from the sponge *Ianthella basta* collected in Papua New Guinea / S. Miao, R.J. Anderson, T.M. Allen // J. Nat. Prod. - 1990. - № 53. – P. 1441–1446.
636. Middleton, E. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells / E.Jr. Middleton, C. Kandaswami, T.C. Theoharides // Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. Pharmacol. Rev. - 2000. - V. 52. - № 4. - P. 673-751.
637. Milas, N.A. Fumaric Acid. Organic Synthesis / N.A. Milas // Collective, 1943. - V. 2. - 302 p.
638. Misra, S. Growth promoting substances of cyanobacteria II. Detection of amino acids, sugars and auxins. / S. Misra, B.D. Kaushik // Proc. Indian Sci. Acad. – 1989. - B 55. – P. 499–504.
639. Moghtaderi, A. Cyanobacteria in Biological Soil Crust of Chadormalu Area, Bafq Region in Central Iran / A. Moghtaderi, M. Taghavi, R. Rezaei // Pakistan J. of Nutrition. – 2009. - № 8 (7). - P. 1083-1092.
640. Mohsenzadeh, F. Chemical composition, antibacterial activity and cytotoxicity of essential oils of *Tanacetum parthenium* in different developmental stages / F.

- Mohsenzadeh, A. Chehregani, H. Amiri // *Pharm. Biol.* - 2011. - V. 49 (9). - P. 920-926.
641. Molyneux, P. The use of the stable free radical diphenilpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity / P. Molyneux // *J. Sci. Technol.* – 2004. – V. 26. № 2. – P. 211-219.
642. Nagatsu, A. Muscoride A: a new oxazole peptide alkaloid from freshwater cyanobacterium *Nostoc muscorum* / A. Nagatsu, H. Kajitani, J. Sakakibara // *Tetrahedron Lett.* – 1995. - № 36. – P. 4097–4100.
643. Nakai, S. Anti-cyanobacterial fatty acids released from *Myriophyllum spicatum* / S. Nakai, S. Yamada, M. Hosomi // *Hydrobiologia.* - 2005. - V. 543. - P. 71–78.
644. Nanjwade, B.K. Isolation and morphological characterization of antibiotic producing actinomycetes / B.K. Nanjwade, A.M. Shamarez, F.V. Manvi, S. Chandrashekhara, P.S. Goudanavar // *Tropical J. of Pharmac. Res.* - 2010. - V. 9. - № 9. - P. 231–236.
645. Naumova, I.B. Cell wall teichoic acids: structural diversity, species specificity in the genus *Nocardiopsis*, and chemotaxonomic perspective / I.B. Naumova, E.M. Tul'Skaya, G.M. Streshinskaya, Y.I. Kozlova, N.V. Potekhina, A.S. Shashkov, L.I. Evtushenko, E. Stackebrandt // *FEMS Microbiology Reviews.* - 2001. - V. 25. - № 3. - P. 269–284.
646. Nemani, R.R. Climate-driven increases in global terrestrial net primary production from 1982 to 1999 / R.R. Nemani, C.D. Keeling, H. Hashimoto, W.M. Jolly, S.C. Piper, C.J. Tucker, R.B. Myneni, S.W. Running // *Science.* – 2003. - № 300. - P. 1560-1563.
647. Ningthoujam, D.S. Studies on bioactive actinomycetes in a niche biotope, nambul river in manipur, India / D.S. Ningthoujam, S. Sanasam, S. Nimaichand // *J. of Microb. and Biochem. Technology.* - 2013. - V. 5. - № 2. - P. 11-14.
648. Niyomvong, N.K. Thamchaipenet Actinomycetes from tropical limestone caves / N.K. Niyomvong, W. Duangmal, A. Pathom-Aree // *Chiang Mai J. of Sci.* - 2012. - V. 39. - № 3. - P. 373–388.

649. Nübel, U. PCR primers to amplify 16S rRNA genes from cyanobacteria / U. Nübel, F. Garcia-Pichel, G. Muyzer // *Appl. Environ. Microbiol.* - 1997. - № 63 (8). – P. 3327-3332.
650. Oren, A. Mycosporines and mycosporine-like amino acids: UV protectants or multipurpose secondary metabolites? / A. Oren, N. Gunde-Cimerman // *FEMS Microbiol. Lett.* - 2007. - № 269. – P. 1–10.
651. Oren, A. The ecology and taxonomy of anaerobic halophilic eubacteria / A. Oren // *FEMS Microbiol. Rev.* – 1986. – V. 39. – P. 23-29.
652. Ozemir, G. Antibacterial activity of volatile components and various extracts of *Spirulina platensis* / G. Ozemir, N.U. Karabay, M.C. Dalay, B. Pazarbasi // *Phytotherapy Res.* – 2004. – № 18. – P. 754-757.
653. Paerl, H.W. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms / H.W. Paerl, J. Huisman // *Environ. Microbiol. Rep.* – 2009. - V. 1. – P. 27–37.
654. Paerl, H.W. Hypersaline cyanobacterial mats as indicators of elevated tropical hurricane activity and associated climate change / H.W. Paerl, T.F. Steppe, K.C. Buchan, M. Potts // *Ambio.* – 2003. - № 32. - P. 87-90.
655. Pankratov, T.A. Microbial communities of lichens / T.A. Pankratov, A.V. Kachalkin, T.G. Dobrovol'skaya, E.S. Korchikov // *Microbiology.* - 2017. - T. 86. - № 3. - C. 293-309.
656. Pankratova, J.M. Growth interaction between *Nostoc* and *Rhizobium* / J.M. Pankratova, A.A. Kalinin, A.L. Kovina // *Nitrogen fixation: Fundamentals and Applications. X Int. Congr. On Nitrogen fixation.* - Kluwer Acad. Publ., 1995. - P. 720.
657. Paoletti, C. Unsaponifiable matter of green and blue-green algal lipids as a factor of biochemical differentiation of their biomasses: I. Total unsaponifiable and hydrocarbon fraction / C. Paoletti, B. Pushparaj, G. Florenzano, P. Capella, G. Lercker // *Lipids.* – 1976. - № 11. - P. 258–265.

658. Papaefthimiou, D. Diversity and specificity of *Azolla-cyanobionts* / D. Papaefthimiou, H.C. Van, A. Lejeune, U. Rasmussen, A. Wilmotte // J. Psychol. 2008. - V. 44. - № 1. - P. 60–70.
659. Parker, B.C. Biotic relation-ship between soil algae and other microorganisms / B.C. Parker, H.C. Bold // Amer. J. Bot. – 1961. - № 2. - P. 185-197.
660. Parker, D.L. Sorption of metals by extracellular polymers from the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* f. *flos-aquae* strain C3-40 / D.L. Parker, J.E. Mihalick, J.L. Phude, M.J. Plude, T.P. Clark, L. Egan, J.J. Flom, L.C. Rai, H.D. Kumar // J. Appl. Phycol. - 2000. - V. 12. - P. 219–224.
661. Patterson, G.M.L. Antiviral activity of blue-green algae cultures / G.M.L. Patterson // J. Phycol. – 1993. – V. 29. – P. 125–130.
662. Patterson, G.M.L. Bioactive natural products from blue-green algae / G.M.L. Patterson, L.K. Larsen, R.E. Moore // J. Appl. Phycol. – 1994. – № 6. – P. 151–157.
663. Pearson, L. On the chemistry, toxicology and genetics of the cyanobacterial toxins, microcystin, nodularin, saxitoxin and cylindrospermopsin / L. Pearson, T. Mihali, M. Moffitt, R. Kellmann, B. Neilan // Mar. Drugs. - 2010. - V. 8. - P. 1650–1680.
664. Peltola, J.S.P. Isolation of toxigenic *Nocardiosis* strains from indoor environments and description of two new *Nocardiosis species*, *N. exhalans* sp. nov. and *N. umidischolae* sp. Nov. / J.S.P. Peltola, M.A. Andersson, P. Kämpfer, G. Auling, R.M. Kroppenstedt, H.-J. Busse, M.S. Salkinoja-Salonen, F.A. Rainey // Appl. Environ. Microbiol. - 2001. - № 67 (9). - P. 4293–4304.
665. Peng, X. Development of a nitrogen-fixing cyanobacterial consortium for surface stabilization of agricultural soils / X. Peng, M.A. Bruns // J. Appl. Phycol. – 2019. - № 31. – P. 1047–1056.
666. Pettis, G.S. Intergeneric conjugal gene transfer from *Escherichia coli* to the sweet potato pathogen *Streptomyces ipomoeae* / G.S. Pettis, D. Guan // Letters in Appl. Microbiol. - 2009. - V. 49. - № 1. - P. 67–72.



667. Pierson, B.K. Introduction. In: The Proterozoic Biosphere / B.K. Pierson; eds. J.W. Schopf, C. Klein. - New York. A Multidisciplinary Study Cambridge University Press, 1992. - P. 247-251.
668. Playford, Ph. Australia's stromatolite stronghold / Ph. Playford // Natur. Hist. – 1980. - № 10. - P. 56-61.
669. Polishchuk, L.V. Influence of herbicides (phenylurea compounds) on some capacities of streptomycetes / L.V. Polishchuk, A.M. Strizhkova, V.V. Lukyanchuk // Bulletin of Odessa Nat. Univers. Biology. - 2001. - V. 6. - № 4. - P. 244–246.
670. Prasanna, R. Cyanobacteria as a “green” option for sustainable agriculture. Cyanobacteria: an economic perspective. 1. / R. Prasanna, A. Sood, S.K. Ratha, P.K. Singh; eds. K. Naveen Sharma, K. Rai Ashwani, J. Sta Lucas, 2014. - № 9. – P. 145–166.
671. Prasanna, R. Evaluating the potential of rhizo-cyanobacteria as inoculants for rice and wheat / R. Prasanna, P. Jaiswal, J. Shrikrishna, M. Joshi, L. Nain, A. Rana, Y.S. Shivay // J. of Agricult. Technol. - 2012. - V. 8. - № 1. - P. 157–171.
672. Prasanna, R.A. Rediscovering cyanobacteria as valuable sources of bioactive compounds (review) / R.A. Prasanna, A. Sood, S. Jaiswal, S. Nayak, V. Gupta, V. Chaudhary // Appl. Biochem. Microb. – 2010. - № 46. – P. 119–134.
673. Pratsinis, H. Antiproliferative activity of Greek propolis / H. Pratsinis, D. Kletsas, E. Melliou, I. Chinou // J. of Medicinal Food. - 2010. - V. 13 (2). - P. 286-290.
674. Prinsep, M.R. Tolyphorin, a novel multidrug resistance reversing agent from the blue green algae *Tolypothrix nodosa* / M.R. Prinsep, F.R. Caplan, R.E. Moore, G.M.L. Patterson, C.D. Smith // J. Am. Chem. Soc. – 1992. - № 114. - P. 385–387.
675. Proceedings of the Fift International Congress on Toxic Cyanobacteria (Blue-green Algae), Tor Nessling Foundation Symposium on «Recent developments in Cyanobacterial Research» / ed. by O. Moestrup et al. // Phycologia. – 1996. - № 6. – 211 p.
676. Putnam, A.R. Allelopathic chemicals / A.R. Putnam // Chem. Eng. News. - 1983. - V. 61. - P. 34-45.

677. Pylro, V.S. Draft genomic sequences of *Streptomyces misionensis* ACT66 and *Streptomyces albidoflavus* act77, bacteria with potential application for phytopathogen biocontrol / V.S. Pylro, A.C.F. Dias, C.C.F. Andreote, F.D. Andreote, D.E. Mello, A. Varani, D.E. Figueiredo, I.A. Ribeiro, I.T. Kitano, D.E. Almeida, E.R. Bernardo // Microbiol. resource announcements. - 2019. - V. 8. - № 36. - P. 118-125.
678. Rainey, F.A. The genus *Nocardiopsis* represents a phylogenetically coherent taxon and a distinct actinomycete lineage: proposal of *Nocardiopsaceae* fam. NOV. / F.A. Rainey, N. Ward-Rainey, R.M. Kroppenstedt, E. Stackebrandt // Int. J. Syst. Bacteriol. - 1996. - № 46. - P. 1088-1092.
679. Ramamurthy, V.D. Antimicrobial activity of Heterocytic Cyanobacteria / V.D. Ramamurthy, S. Raveendran, S. Thirumeni, S. Krishnaveni // International J. Advanced Life Sci. (IJALS). - 2012. - V. 1. - P. 32–39.
680. Ramirez, M. Polyphasic approach and adaptative strategies of *Nostoc* cf. *commune* (Nostocales, Nostocaceae) growing on Mayan monuments / M. Ramirez, M. Hernandez-Marine, P. Mateo, E. Berrendero, M. Roldan // Fottea. - 2011. - 11. - V. 1. - P. 73–86.
681. Rastogi, R.P. Biotechnological and industrial significance of cyanobacterial secondary metabolites / R.P. Rastogi, R.P. Sinha // Biotechnol. Adv. - 2009. - № 27. - P. 521–539.
682. Raty, K.A. Gene cluster from *Streptomyces galilaeus* involved in glycosylation of aclarubicin / K.A. Raty, T. Kunnari, J. Hakala, P. Mantsala, K. Ylihonko // Molec. and Gen. Genetics MGG. - 2000. - V. 264. - № 1 (2). - P. 164–172.
683. Raveh, A. Antimicrobial ambigucins from the cyanobacterium *Fischerella* sp. collected in Israel / A. Raveh, S. Carmeli // J. Nat. Prod. - 2007. - № 70. - P. 196–201.
684. Rebets, Y. Function of *lanI* in regulation of landomycin A biosynthesis in *Streptomyces cyanogenus* S136 and cross-complementation studies with *Streptomyces* antibiotic regulatory proteins encoding genes / Y. Rebets, L. Dutko, B. Ostash, O. Kulachkovskyy, V. Fedorenko, A. Luzhetskyy, A. Bechthold, T. Yamaguchi, T. Nakamura // Archives of Microbiol. - 2008. - V. 189. - № 2. - P. 111–120.

685. Reddy, D. Anticancer and Antiviral Properties of Cardiac Glycosides: A Review to Explore the Mechanism of Actions / D. Reddy, R. Kumavath, D. Barh, V. Azevedo, P. Ghosh // *Molecules*. - 2020. - № 25 (16). - P. 3596.
686. Rezanka T. Hydrocarbons in green and blue-green algae / T. Rezanka, J. Zahradník, M. Podojil // *Folia Microbiol. (Praha)*. - 1982. - V. 27 (6). - P.450-454.
687. Řezanka, T. Five new derivatives of nonactic and homo-nonactic acids from *Streptomyces globisporus* / T. Řezanka, J. Spížek Přikrylová V., Prell A., Dembitsky V.M. // *Tetrahedron*. - 2004. - V. 60. - № 22. - P. 4781–4787.
688. Rezanka, T. Metabolites produced by cyanobacteria belonging to several species of the family Nostocaceae / T. Rezanka, V.M. Dembitsky // *Folia Microbiol.* – 2006. - V. 51. – P. 159–182.
689. Řezanka, T. Sterol Compositions of the Filamentous Nitrogen-Fixing Terrestrial Cyanobacterium *Scytonema* sp. / T. Řezanka, V.M. Dembitsky, J.V. Go, I. Dor, A. Prell, L. Hanuš // *Folia Microbiol.* – 2003. - № 48 (3). – P. 357–360.
690. Rice-Evans, C.A. Antioxidant properties of phenolic compounds / C.A. Rice-Evans, N.J. Miller, G. Paganga // *Trends Plant Sci.* – 1997. - № 2. – P. 152–159.
691. Rippka, R. Generic assignments strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria / R. Rippka, J. Deruelles, J. Waterbury, M. Herdman, R. Stanier // *Gen. Microbiol.* - 1979. - P. 1-61.
692. Rodger, P.A. Chemical composition of cultures and natural samples of N<sub>2</sub>-fixing blue-green algae from rice fields / P.A. Rodger, A. Tirol, S. Ardales, I. Watanabe // *Biol. Fertil. Soils*. - 1986. - № 2. - P.131-146.
693. Rodriguez-Navarro, A.J. Comparison of neosaxitoxin versus bupivacaine via port infiltration for postoperative analgesia following laparoscopic cholecystectomy. A randomized, double-blind trial / A.J. Rodriguez-Navarro, C.B. Berde, G. Wiedmaier, A. Mercado, C. Garcia, V. Iglesias, D. Zurakowski // *Region. Anesth. Pain M.* - 2011. - V. 36. - № 2. - P. 103–109.

694. Rothrock, M.J. Microbial diversity of benthic mats along a tidal desiccation gradient / M.J. Rothrock, F. Garcia-Pichel // *Environ. Microbiol.* - 2005. - № 7. - P. 593-601.
695. Runnegar, M.T.C. In vivo and in vitro binding of microcystin to protein phosphatases 1 and 2A / M.T.C. Runnegar, N. Berndt, S.M. Kong, E.Y. Lee, L. Zhang // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* - 1995. - V. 216. - № 1. - P. 162–169.
696. Rusanova, E.P. An antibiotic complex produced by *Streptomyces werraensis* 1365T strain / E.P. Rusanova, T.A. Alekhova, G.B. Fedorova, G.S. Katrukha // *Appl. Biochem. and Microbiol.* - 2000. - V. 36. - № 5. - P. 564–568.
697. Saadoun, I. Influence of culture conditions of *Streptomyces sp.* (strain S 242) on chitinase production / I. Saadoun, R. Al-Omari, Z. Jaradat, Q. Ababneh // *Polish J. of Microbiol.* - 2009. - V. 58. - № 4. - P. 339–345.
698. Sakdapetsiri, C. Solid state fermentation, storage and viability of *Streptomyces similanensis* 9X166 using agro-industrial substrates against *Phytophthora palmivora* - induced black rot disease in orchids / C. Sakdapetsiri, Y. Fukuta, Y. Aramsirirujiwet, N. Shirasaka, S. Tokuyama, V. Kitpreechavanich // *Biocontrol sci. technol.* - 2019. - V.29. - № 3. - P. 276-292.
699. Samadi, N. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Anthemis altissima* L. var. *altissima* / N. Samadi, A. Manayi, M. Vazirian, M. Samadi, Z. Zeinalzadeh, Z. Saghari, N. Abadian, V.O. Mozaffarian, M. Khanavi // *Nat. Prod. Res.* - 2012. - V. 26 (20). - P.1931-1934.
700. Schopf, J.W. Microfossils of the Early Archean Apex Chert: new evidence of the antiquity of life / J.W. Schopf // *Science.* - 1993. - V. 260. - P. 640-646.
701. Schopf, J.W. The Proterozoic biosphaere: a multidisciplinary study / J.W. Schopf, C. Klein. - Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1992. - P. 1348.
702. Schultze-Lam, S. Ultrastructure and seasonal growth patterns of microbial mats in temperate climate saline-alkaline lake: Goodenough Lake, British Columbia, Canada / S. Schultze-Lam, F.G. Ferris, B. Sherwood-Lollar, J.P. Gerits // *Can. J. Microbiol.* - 1996. - V. 42. - P. 147-161.

703. Schwabe, G.H. Blaualgenprobleme / G.H. Schwabe // Schweiz. fur Hydrologie, Hydrographie, Hydrobiologie. Basel. - 1962. – V 2. - P. 207-222.
704. Schwabe, G.H. Uber der thermobionten Kosmopoliten *Mastigocladus laminosus* Cohn / G.H. Schwabe // Z. Gydrol. – 1960. - V 22. - P. 115-119.
705. Schwartz, R.E. Fromtling, Pharmaceuticals from cultured algae / R.E. Schwartz, C.F. Hirsch, D.F. Sesin, J.E. Flor, M. Chartain, R.E. Fromtling // Indus. Microbiol. - 1990. - № 5. – P. 113–124.
706. Sergeeva, E. Evidence for production of the phytohormone indole-3-acetic acid by cyanobacteria / E. Sergeeva, A. Liaimer, B. Bergman // Planta. - 2002. - V. 215. - P. 229.
707. Shaaban, M.A. Biosynthesis of Ag, Se, and Zno nanoparticles with antimicrobial activities against resistant pathogens using waste isolate *Streptomyces enissocaesilis* / M.A. Shaaban, M. El-Mahdy // IET Nanobiotechnology. - 2018. - № 12 (6). - P. 741–747.
708. Shaieb, F.A. Antimicrobial activity of crude extracts of cyanobacteria *Nostoc commune* and *Spirulina platensis* / F.A. Shaieb, A.A. Issa, A. Meragaa // Archives of Biomedical Sci. – 2014. - № 2 (2). – P. 34-41.
709. Shannon, C.E. The Mathematical theory of communication / C.E. Shannon, W. Weaver. - Urbana: University of Illinois press, 1949. - 117 p.
710. Shigeichi, K. Transformation of thylakoid membranes during differentiation from vegetative cell into heterocyst visualized by microscopic spectral imaging / K. Shigeichi, A. Masashi, H. Makoto // Plant Physiol. - 2013. - V. 161. - № 3. - P. 1321–1333.
711. Silva-Stenico, M.E. Non-ribosomal peptides produced by Brazilian cyanobacterial isolates with antimicrobial activity / M.E. Silva-Stenico, C.S. Silva, A.S. Lorenzi, T.K. Shishido, A. Etchegaray, S.P. Lira // Microbiol. Res. - 2011. - № 166. – P. 161–175.
712. Singh, R. Uncovering Potential Applications of Cyanobacteria and Algal Metabolites in Biology, Agriculture and Medicine: Current Status and Future Prospects

- / R. Singh, P. Parihar, M. Singh, A. Bajguz, J. Kumar, S. Singh, V.P. Singh, S.M. Prasad // *Front. Microbiol.* - 2017. - № 8. – P. 515.
713. Singh, S.P. Cyanobacteria and ultraviolet radiation (UVR) stress: mitigation strategies / S.P. Singh, D.P. Hader, R.P. Sinha // *Age Res. Rev.* - 2010. - № 9. P. 79–90.
714. Sivonen, K. Bioactive compounds produced by cyanobacteria. In: *The Cyanobacteria: Molecular Biology, Genomics, and Evolution* / K. Sivonen, T. Börner; eds. A. Herrero, E. Flores. - Norfolk, UK.: Caister Academic Press., 2008. - P. 159–197.
715. Smith, G.D. Cyanobacterial metabolites with bioactivity against photosynthesis in cyanobacteria, algae and higher plants / G.D. Smith, Th. Doan // *J. Appl. Phycol.* – 1999. – P. 337–344.
716. Sobolevskaya, M.P. Biologically active compounds from lake Baikal streptomycetes / M.P. Sobolevskaya, I.A. Li, M.I. Kusaikin, N.S. Verigina, A.N. Mazeika, L.S. Shevchenko, Yu.V. Burtseva, T.N. Zvyagintseva, T.A. Kuznetsova, I.A. Terkina, V.V. Parfenova, L.S. Buzoleva // *Chem. of Nat. Compounds.* - 2006. - V. 42. - № 1. - P. 82–87.
717. Solanki, R.M. Bioactive compounds from marine actinomycetes / R.M. Solanki, R. Khanna // *Indian J. of Microbiol.* - 2008. - V. 48. - No. 4. - P. 410–431.
718. Sorensen, T.A. A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content, and its application to analyses of the vegetation on Danish commons / T.A. Sorensen // *Kongelige Danske Videnskabernes Selskabs Biologiske Skrifter.* - 1948. - V. 5. - P. 1–34.
719. Souza, A.B. Antimicrobial evaluation of diterpenes from *Copaifera langsdorffii* oleoresin against periodontal anaerobic bacteria / A.B. Souza, M.G. de Souza, M.A. Moreira, M.R. Moreira, N.A. Furtado, C.H. Martins, J.K. Bastos, R.A. dos Santos, V.C. Heleno, S.R. Ambrosio, R.C. Veneziani // *Molecules.* - 2011. - V. 18. - P. 9611–9619.

720. Srinivasa, R.T. Studies on combined effect of biofertilizers and in situ green manuring on leaf yield in mulberry / R.T. Srinivasa, B. Kasi, J.V. Krishna, A. Harihara, K. Lavanya, S. Jayaraj // *Indian J. of Sericulture*. - 2008. - V. 47. № 1. - P. 16–19.
721. Stal, L.J. Cyanobacterial mats and stromatolites. The ecology of cyanobacteria / L.J. Stal; eds. B. Whitton, M. Potts. - Netherlands: Kluwer Academic Publ., 2000. - P. 61-120.
722. Stal, L.J. Microbial mats in coastal environments. *Microbial Mats. Structure. Development and Environmental Significance* / Eds. L.J. Stal, P. Caumette. - Springer Verlag, Heidelberg, 1994. - P. 21-32.
723. Stal, L.J. *Microbial Mats. Structure. Development and Environmental Significance* / L.J. Stal, P. Caumette. – Heidelberg. Springer Verlag, 1994. - P. 463.
724. Stal, L.J. Structure and development of a benthic marine microbial mat / L.J. Stal, H. Van Gernerden, W. Krumbein // *FEMS Microbiol. Ecol.* - 1985. - P. 111-125.
725. Stevenson, C.E. Investigation of DNA sequence recognition by a streptomycete MARR family transcriptional regulator through surface plasmon resonance and x-ray crystallography / C.E. Stevenson, S.J. Assaad, D.M. Greive, G. Lawson, T.B. Chandra, K. Le, M.J. Bibb // *Nucleic Acids Res.* - 2013. - V. 41. - № 14. - P. 7009–7022.
726. Stevenson, C.S. Scytonemin, a marine natural product inhibitor of kinases key in hyperproliferative inflammatory diseases / C.S. Stevenson, E.A. Capper, A.K. Roshak, B. Marquez, K. Grace, W.G. Gerwick // *Inflamm. Res.* - 2002. - № 51. – P. 112–114.
727. Stewart, J.B. Cytotoxic, fungicidal nucleosides from blue-green algae belonging to the Scytonemataceae / J.B. Stewart, V. Bomemann, J.L. Chen, R.E. Moore, F.R. Caplan, H. Karuso, L.K. Larsen, G.M. Patterson // *J. Antibiot.* – 1988. - № 41. – P. 1048–1056.
728. Stewart, W.D.P. *Algae, Man and environment* / W.D.P. Stewart; Ed. D.F. Jackson. - Syracuse, 1968. - 72 p.
729. Stirk, W. Cytokinin- and auxin-like activity in Cyanophyta and microalgae / W. Stirk, V. Ördög, J. Van Staden, K. Jager // *J. Appl. Phycol.* – № 14. – P. 215–221.

730. Stirk, W.A. Cytokinins and auxin-like activity in Cyanophyta and microalgae / W.A. Stirk, V. Ordog, J.V. Staden, K. Jager // *J. Appl. Phycol.* - 2002. - № 14. – P. 215–221.
731. Stirk, W.A. Hormone profiles in microalgae: gibberellins and brassinosteroids / W.A. Stirk, P. Bálint, D. Tarkowská, O. Novákc, M. Strnad, V. Ördög // *Plant Physiol. Biochem.* - 2013. - № 70. – P. 348–353.
732. Stolz, J.F. Magnetosomes / J.F. Stolz // *J. Gen. Microbiol.* - 1993. - P. 1663–1670.
733. Subba, B. Production of aminoglycosides in noaminoglycoside producing *Streptomyces lividans* TK24 / B. Subba, N.P. Kurumbang, Y.S. Jung, Y.J. Yoon, H.C. Lee, K. Liou, J.K. Sohng // *Bioorg. Med. Chem. Letters.* - 2007. - V. 17. - № 7. - P. 1892–1896.
734. Tamura, K. Molecular evolutionary genetics analysis using Maximum Likelihood, evolutionary distance, and Maximum Parismony methods / K. Tamura, D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei, S. Kumar // *Molec. Biol. and Evolution.* - 2011. - V. 28. - P. 2731–2739.
735. Tan, L.T. Bioactive natural products from marine cyanobacteria for drug discovery / L.T. Tan // *Phytochemistry.* – 2007. - V. 68. P. 954–979.
736. Tepper, A.W. Channeling of electrons within slac, the small laccase from *Streptomyces coelicolor* / A.W. Tepper, G.W. Canters, T.J. Aartsma // *Faraday Discus.* - 2011. - V. 148. - P. 161–171.
737. *The biology of Cyanobacteria* / Eds. N.G. Carr, B.A. Whitton. – Oxford etc.: Blackwell Sci. Publ., 1982. – 688 p.
738. *The Ecology of Cyanobacteria. Their Diversity in Time and Space* / Eds. B.A. Whitton. - M.: Potts, 2000. – 669 p.
739. *The Molecular biology of Cyanobacteria* / Eds. D.A. Bryant. – Dordrecht, Boston, London: Kluver Acad. Publ., 1994. – 860 p.
740. Thuan, N.H. Genome-guided exploration of metabolic features of *Streptomyces peucetius* ATCC 27952: past, current, and prospect / N.H. Thuan, D. Dhakal, A.R.



- Pokhrel, L.L. Chu, T.T. Van, A. Shrestha, J.K. Sohng // *Appl. Microbiol. and Biotechnol.* - 2018. - № 102 (10). - P. 4355–4370.
741. Thummajitsakul, S. Antibacterial activity of crude extracts of cyanobacteria *Phormidium* and *Microcoleus species* / S. Thummajitsakul, K. Silprasit, S. Sittipraneed // *African J. of Microbiol. Res.* - 2012. - V. 6 (10) / C. 2574-2579.
742. Tirkey, J. Cyanobacteria in biological soil crusts of India / J. Tirkey, S.P. Adhikary // *Current Science.* - 2005. - V. 89. - № 3. - P. 515–521.
743. Triantisb, T. Evaluation of food antioxidant activity by photostorage chemiluminescence / T. Triantisb, K. Papadopoulou, D. Dimotikalib, J. Nikokavourasa // *Baü fen bil. enst. Dergisi.* – 2002. – V. 4. № 2. – P. 30-33.
744. Tucker, C.J. Expansion and contraction of the Sahara Desert from 1980-1990 / C.J. Tucker, H.E. Dregne, W.W. Newcombe // *Science.* - 1991. - № 253. - P. 299-301.
745. Tyski, S. The effect of lupine alkaloids and ethanol extracts from seeds of *Lupinus angustifolius* on selected bacterial strains / S. Tyski, M. Markiewicz // *J. Plant Physiology.* - 1988. - V. 133. - P. 240-242.
746. Uddin, S.J. Evaluation of cytotoxic activity of patriscabratine, tetracosane and various flavonoids isolated from the Bangladeshi medicinal plant *Acrostichum aureum* / S.J. Uddin, D. Grice, E. Tiralongo // *Pharm. Biol.* - 2012. - V. 50 (10). - P. 1276-1280.
747. Umeyama, T. Protein serinethreonine kinases in signal transduction for secondary metabolism and morphogenesis in *Streptomyces* / T. Umeyama, P.C. Lee, S. Horinouchi // *Appl. Microbiol. and Biotechnol.* - 2002. - V. 59. - № 4 (5). - P. 419–425.
748. Vasil'chenko, L.G. Isolation and characteristics of micromycetes-producers of neutral phenol oxidase from trophic soil with a high level of dioxins / L.G. Vasil'chenko, O.V. Koroleva, E.V. Stepanova, E.O. Landesman, M.L. Rabinovich // *Прикл. Биох. и Микробиол.* - 2000. - V. 36. - № 4. - P. 412–421.

749. Venkataraman, G.S. Algalization / G.S. Venkataraman // *Phycos.* – 1966. - № 1-2. - P. 164.
750. Verslyppe, B. StrainInfo introduces electronic passports for microorganisms / B. Verslyppe, De. Smet, De.B. Baets, De. Vos, P. Dawyndt // *Syst. Appl. Microbiol.* - 2014. - № 37. - P. 42 – 50.
751. Vityaz, S.N. The effect of metabolic products of *Streptomyces avermectilis* on the dynamics of currant bud mite on blackcurrant seedlings with a closed-root system in seed-field conditions / S.N. Vityaz, E.A. Dyukova // *Modern trends in Agric. Product. in the world economy.* – 2020. – P. 165-171.
752. Volk R. Antialgal, antibacterial and antifungal activity of two metabolites produced and excreted by cyanobacteria during growth / Rainer-B Volk, Franz H Furkert // *Microbiol. Res.* – 161. – P. 180–186.
753. Volk, R.B. Antialgal, antibacterial and antifungal activity of two metabolites produced and excreted by cyanobacteria during growth / R.B. Volk, F.H. Furkert // *Microbiol. Res.* – 2006. - № 161 (2). – P. 180-186.
754. Vukovic, N. Antimicrobial activity of the essential oil obtained from roots and chemical composition of the volatile constituents from the roots, stems, and leaves of *Ballota nigra* from Serbia / N. Vukovic, S. Sukdolak, S. Solujic, N. Niciforovic // *J. of Medicinal Food.* - 2009. - V. 12 (2). - P. 435-441.
755. Waksman, S.A. Production of antibiotic substances by actinomycetes / S.A. Waksman, A. Schatz, D.M. Reynolds // *Annals of the New York Academy of Sciences.* - 2010. - V. 1213. - № 1. - P. 112–124.
756. Watanabe, A. On the mass-culturing of a nitrogen-fixing blue-green alga *Tolypothrix tenuis.* / A. Watanabe // *J. Gen. Appl. Microbiol.* - № 5 (1-2). - P. 85. 1959.
757. Watkins, A.L. The prevalence and distribution of neurodegenerative compound-producing soil *Streptomyces spp.* / A.L. Watkins, A. Ray, L.R. Roberts, K.A. Caldwell, J.B. Olson // *Sci. Reports.* - 2016. - V. 6. - P. 225–566.

758. Weisburg, W.G. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study / W.G. Weisburg, S.M. Barns, D.A. Pelletier, D.J. Lane // J. of Bacteriology. - 1991. - № 173 (2). – P. 697–703.
759. Welker, M. Application of MALDI-TOF MS in cyanotoxin research / M. Welker, J. Fastner, M. Erhard, H. von Döhlen // Environ. Toxicol. – 2002. - № 17. – P. 367–374.
760. Whitton, B.A. Ecology of blue-green algae / B.A. Whitton, C. Sinclair // Sci. Prog. Oxf. – 1975. – P. 429-446.
761. Wiese, M. Neurotoxic alkaloids: Saxitoxin and its analogs / M. Wiese, P.M. D'Agostino, T.K. Mihali, M.C. Moffitt, B.A. Neilan // Mar. Drugs. - 2010. - V. 8. № 7. - P. 2185–2211.
762. Wiley, J. Preparation of genomic DNA from bacteria / J. Wiley // Current Protocols in Mol. Biology. – 1997. - № 2.4.1-2.4.5.
763. Willey, J.M. Morphogenetic signaling molecules of the streptomycetes / J.M. Willey, A.A. Gaskell // Chem. Rev. - 2011. - V. 111. - № 1. - P. 174 – 187.
764. Williams, W.J. Cyanobacteria in the Australian northern savannah detect the difference between intermittent dry season and wet season rain / W.J. Williams, B. Büdel, H. Reichenberger, N. Rose // Biodiver. and Conserv. - 2014. - V. 23. - P. 1827–1844.
765. Williamson, N.P. Molecular detection of bacterial and *Streptomyces chitinases* in the environment / N.P. Williamson, E.M. Brian, H. Wellington // Antonie van Leeuwenhoek. - 2000. - V. 78. - № 3 (4). - P. 315–321.
766. Wim, V. Photosynthesis and Respiration in Cyanobacteria / V. Wim // Arizona State University. - 2001. - P. 1-7.
767. Xu, F.B. Seyedsayamdost Discovery of a cryptic antifungal compound from *Streptomyces albus* J1074 using high-throughput elicitor screens / F.B. Xu, K. Nazari, L.B. Moon, M.R. Bushin // J. of the Amer. Chem. Society. - 2017. - V. 139. - № 27. - P. 9203–9212.

768. Xuan, T.D. Identification of Phytotoxic Substances from Early Growth of Barnyard Grass (*Echinochloa crusgalli*) Root Exudates / T.D. Xuan, M. Chung, T.D. Khanh, S. Tawata // J. Chem. Ecol. - 2006. - V. 32. - P. 895-906.
769. Yagüe, P. Pre-sporulation stages of *Streptomyces* differentiation: state-of-the-art and future perspectives / P. Yagüe, M.T. López-García, B. Rioseras, J. Sánchez, A. Manteca // FEMS Microbiology Letters. - 2013. - V. 342. - № 2. - P. 79–88.
770. Yan, X. *Streptomyces ginkgonis* sp. nov., an endophyte from *Ginkgo biloba* / X. Yan, Y. Li, N. Wang, Y. Chen, L.-l. Huang // Antonie van Leeuwenhoek. - 2018. - V. 111. - № 6. - P. 891 - 896.
771. Yoon, Y.J. Generation of multiple bioactive macrolides by hybrid modular polyketide synthases in *Streptomyces venezuelae* / Y.J. Yoon, B.J. Beck, H.Y. Kang, D.H. Sherman, B.S. Kim, K.A. Reynolds // Chem. Biol. - 2002. - V. 9. - № 2. - P. 203–214.
772. Zahradnickova, H. High-performance thin-layer chromatographic and high-performance liquid chromatographic determination of abscisic acid produced by cyanobacteria / H. Zahradnickova, C. Budijovice, M. Polinska // J. Chromatogr. A. - 1991. - № 555. - P. 239–245.
773. Zenova, G.M. Structural-functional specificity of the complexes of psychrotolerant soil actinomycetes / G.M. Zenova, M.S. Dubrova, D.G. Zvyagintsev // Euras. Soil Sci. - 2010. - V. 43. - № 4. - C. 447–452.
774. Zenova, G.M. Vertical-storey stratification of oligosporeous actinomycetes in different types of biogeoceses / G.M. Zenova, N.V. Mikhailova, O.S. Zakharova, D.G. Zvyagintsev // Euras. Soil Sci. - 2000. - V. 33. - № 2. - P. 201–204.
775. Zinn, M.-K. Did granny know best? Evaluating the antibacterial, antifungal and antiviral efficacy of acetic acid for home care procedures. BMC / M.-K. Zinn, D. Bockmühl // Microbiology. - 2020. - № 20 (265). - P. 1-9.
776. Zvyagintsev, D.G. Moderately haloalkaliphilic actinomycetes in salt-affected soils / D.G. Zvyagintsev, G.M. Zenova, G.V. Oborotov // Euras. Soil Sci. - 2009. - V. 42. - № 13. - P. 1515–1520.

## ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

## КОЛЛЕКЦИЯ КУЛЬТУР МИКРОВОДОРОСЛЕЙ (IPRAS)

127276, Москва, И-276, Ботанический ул. 35, ИФР РАН  
e-mail: ipras@nicolov@mail.ru

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева  
Российской академии наук

## СПРАВКА\*

о депонировании штамма в коллекции микроводорослей  
ИФР РАН (IPRAS)

Авторы изобретения:

Вотаева Ю.В., Держипская И.С.

Название изобретения: «Способ стимуляции роста и развития растений, повышения урожайности и защиты от фитопатогенных грибов в аридной зоне».

Заявитель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Астраханский государственный университет».

Адрес: 414056 г. Астрахань, ул. Ткачкова 20а.

Род, вид и назначение депонированной культуры: род - *Anabaena*, вид - *Anabaena constricta* (Szaf.) Geitl., назначение - культура с фитостимулирующими, фунгицидными и антиоксидантными свойствами.

Дата депонирования: 14 сентября 2015 г.

Регистрационный номер, присвоенный депонированному штамму:  
IPRAS В-2020

Зам. директора Института  
д.б.н.

И. Е. Мошков

Руководитель коллекции  
к.б.н.

М.А. Синетова

(\*). Справка прилагается к описанию изобретения на штамм, культуру микроводорослей, способ получения веществ биотехнологическим путем, вещество, полученное биотехнологическим путем и т.п. для патентной процедуры

Anabaena sp. IPPAS B-2020 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: OK041021.1

[FASTA Graphics](#)

[Go to:](#)

```

LOCUS           OK041021                      612 bp    DNA        linear    BCT 12-SEP-2021
DEFINITION     Anabaena sp. IPPAS B-2020 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION     OK041021
VERSION       OK041021.1
KEYWORDS       .
SOURCE        Anabaena sp. IPPAS B-2020
  ORGANISM    Anabaena sp. IPPAS B-2020
              Bacteria; Cyanobacteria; Nostocales; Nostocaceae; Anabaena;
              unclassified Anabaena.
REFERENCE     1 (bases 1 to 612)
AUTHORS      Bataeva, Y.V. and Sinetova, M.A.
TITLE        Direct Submission
JOURNAL      Submitted (04-SEP-2021) Molecular Biosystems, Institute of plant
              physiology RAS, Botanicheskaya, 35, Moscow 127276, Russia
COMMENT      ##Assembly-Data-START##
              Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
              ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
   source             1..612
                     /organism="Anabaena sp. IPPAS B-2020"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="IPPAS B-2020"
                     /isolation_source="rhizosphere of Fraxinus pennsylvanica,
                     Astrakhan region"
                     /culture_collection="IPPAS:B-2020"
                     /db_xref="taxon:2874517"
                     /country="Russia"
   rRNA               <1..>612
                     /product="16S ribosomal RNA"
ORIGIN
1  cggacgggtg agtaacgcgt gagaatttgg cttcaggtcg gggacaacag ttggaaacga
61 ctgctaatac cggatatgcc ggaaggtgaa aggcttgctg cctgaagata agctcgcgtc
121 tgattagcta gttggtgggg taagagccta ccaaggcgac gatcagtagc tggctctgaga
181 ggatgatcag ccacactggg actgagacac ggcccagact cctacgggag gcagcagtgg
241 ggaattttcc gcaatgggcg aaagcctgac ggagcaatac cgcgtgaggg aggaaggctc
301 ttgggtcgta aacctctttt ctcaaggaag aaaaaaatga cggtacttga ggaataagca
361 tccgctaact ccgtgccagc agccgcggtg atacggagga tgcaagcgtt atccggaatg
421 attgggctga aaggtccgc aggtggtgct gtaagtctgc tgtaaagag tctagctcaa
481 ctagataaaa gcagtggaaa ctacaggact agagtgcgtt cggggcagaa ggaattcctg
541 gtgtagcggg gaaatgcgta gatatcagga agaacaccgg tggcgaaagc gtctgctagg
601 ccgcaactga ca
//

```

**СПРАВКА\***

о депонировании штамма в коллекции микроводорослей  
ИФР РАН (IPPAS)

Авторы изобретения: Батаева Ю.В.

Заявители: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение Высшего образования «Астраханский государственный университет»

Адрес: 414056 г. Астрахань, ул. Татищева 20а.

Род, вид и назначение депонированного штамма: род - *Phormidium*, вид - *Ph. catenatum* V.-Peters., назначение – культура с деструкционными свойствами в высокоминерализованных условиях по отношению к органическим соединениям: белкам и жирам

Дата депонирования: 29 июня 2016 г.

Регистрационный номер, присвоенный депонированному штамму:  
**IPPAS B-2022**

Зам. директора Института  
д.б.н.

Руководитель коллекции  
к.б.н.



И. В. Мошков

М. А. Синцова

## Pseudanabaenaceae cyanobacterium IPPAS B-2022 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: OK041022.1

[FASTA Graphics](#)[Go to:](#)

LOCUS OK041022 642 bp DNA linear BCT 12-SEP-2021  
 DEFINITION Pseudanabaenaceae cyanobacterium IPPAS B-2022 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.  
 ACCESSION OK041022  
 VERSION OK041022.1  
 KEYWORDS .  
 SOURCE Pseudanabaenaceae cyanobacterium IPPAS B-2022  
 ORGANISM [Pseudanabaenaceae cyanobacterium IPPAS B-2022](#)  
 Bacteria; Cyanobacteria; Pseudanabaenales; Pseudanabaenaceae.  
 REFERENCE 1 (bases 1 to 642)  
 AUTHORS Bataeva, Y.V. and Sinetova, M.A.  
 TITLE Direct Submission  
 JOURNAL Submitted (04-SEP-2021) Molecular Biosystems, Institute of plant physiology RAS, Botanicheskaya, 35, Moscow 127276, Russia  
 COMMENT ##Assembly-Data-START##  
 Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing  
 ##Assembly-Data-END##  
 FEATURES Location/Qualifiers  
 source 1..642  
 /organism="Pseudanabaenaceae cyanobacterium IPPAS B-2022"  
 /mol\_type="genomic DNA"  
 /strain="IPPAS B-2022"  
 /isolation\_source="Marble Lake, Astrakhan region"  
 /culture\_collection="IPPAS:B-2022"  
 /db\_xref="taxon:2874519"  
 /country="Russia"  
[rRNA](#) <1..>642  
 /product="16S ribosomal RNA"  
 ORIGIN  
 1 taacgcgtga ggatctgtcc ttaggagggg gataacattg ggaaaccgat gctaataccc  
 61 catatgccga gaggtgaaaa ggtaaactct gcctgagggg gagctcgcgt cggattagct  
 121 agttggtggg gtaagggcct accaaggcga cgatccgtag ctggtctgag aggatgatca  
 181 gccacactgg gactgagaca cggcccagac tcctacggga ggcagcagtg ggaatthtc  
 241 cgcaatgggg gcaaccctga cggagcaacg ccgctgcggg gagacggcc ttcgggttgt  
 301 aaaccgcttt tctctgggaa gaagatctga cggtaaccaga ggaataagcc tcggctaact  
 361 ccgtgccagc agccgcggta agacggagga ggcaagcgtt atccggaatt attgggcgta  
 421 aagcgtccgt aggcggctag tcaagtctgc tgtcaaaggt cagggttaa ccctgagtcg  
 481 gcggtggaaa ctgattagct agagagcggc aggggtagag ggaattccca gtgtagcggg  
 541 gaaatgcgta gatattggga agaacaccag tggcgaaggc gctctactgg gccgttactg  
 601 acgctgaggg acgaaagcta ggggagcga tgggattaga ta

//





Russian Collection of Agricultural Microorganisms

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ**  
**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение**  
**«Всероссийский научно-исследовательский институт**  
**сельскохозяйственной микробиологии»**  
**(ФГБНУ ВНИИСХМ)**

196608 Санкт-Петербург, Пушкин,  
 шоссе Подбельского, 3  
 Телефон 8-812-470-51-00

Выдано в ФГБУ «Россельхозцентр»  
 по Астраханской области

Факс 470-43-62

15.11.2017 № 468/12

**СПРАВКА**

**о депонировании штамма микроорганизма в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (RCAM)**

1. **Депозитор:** Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Российский сельскохозяйственный центр» по Астраханской области, 414051, г. Астрахань, ул. 5-я Котельная, 9.
2. **Авторы штамма:** Григорян Л. Н., Батаева Ю. В., Шляхов В. А.
3. **Штамм *Streptomyces carpaticus* K-11** обладает высокими показателями фитостимулирующей, инсектицидной, акарицидной, фунгицидной, бактерицидной и противовирусной свойств; является перспективным элементом агробиотехнологии, на основе которого планируется разработка лабораторного образца биопрепарата для фитостимуляции, защиты растений от болезней и вредителей, повышения плодородия почвы и урожайности сельскохозяйственных культур.
4. Штамм *Streptomyces carpaticus* K-11 депонирован 16 ноября 2017 г. под регистрационным номером RCAM04697.
5. **Адрес коллекции:** 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, 3, ФГБНУ ВНИИСХМ; тел. (812) 470-51-00, факс (812) 470-43-62, e-mail: [v.safronova@rambler.ru](mailto:v.safronova@rambler.ru), сайт: <http://www.arriam.ru>

Врио директора ФГБНУ ВНИИСХМ,  
 д.б.н., профессор



Н.А. Проворов

Заведующая RCAM, к.б.н.

В.И. Сафронова



Russian Collection of Agricultural Microorganisms

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ**  
**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение**  
**«Всероссийский научно-исследовательский институт**  
**сельскохозяйственной микробиологии»**  
**(ФГБУ ВНИИСХМ)**

196608 Санкт-Петербург, Пушкин,  
 шоссе Подбельского, 3  
 Телефон 8-812-470-51-00  
 Факс 470-43-62

Выдано в ФГБУ «Россельхозцентр»  
 по Астраханской области

*28.05.2018* № *263/05*

**СПРАВКА**

**о депонировании штамма микроорганизма в Ведомственной коллекции  
 полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (RCAM)**

1. **Депозитор:** Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Российский сельскохозяйственный центр» по Астраханской области, 414051, г. Астрахань, ул. 5-я Котельная, 9.
2. **Авторы штамма:** Григорян Л. Н., Батаева Ю. В., Шляхов В. А.
3. **Штамм *Nocardiopsis umidischolae* №2** обладает высокими показателями фитостимулирующей, противовирусной, фунгицидной, бактерицидной афицидной и акарицидной свойств; является перспективным элементом агробιοтехнологии, на основе которого планируется разработка лабораторного образца биопрепарата для фитостимуляции, повышения плодородия почвы и урожайности сельскохозяйственных культур, защиты растений от болезней и вредителей.
4. Штамм *Nocardiopsis umidischolae* №2 депонирован 8 мая 2018 г. под регистрационным номером RCAM04882.
5. **Адрес коллекции:** 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, 3, ФГБУ ВНИИСХМ; тел. (812) 470-51-00, факс (812) 470-43-62, e-mail: [v.safronova@rambler.ru](mailto:v.safronova@rambler.ru), сайт: <http://www.arriam.ru>

Директор ФГБУ ВНИИСХМ,  
 д.б.н.

Заведующая RCAM, к.б.н.



Н.А. Проворов

В.И.Сафронова



Russian Collection of Agricultural Microorganisms

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ**  
**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение**  
**«Всероссийский научно-исследовательский институт**  
**сельскохозяйственной микробиологии»**  
**(ФГБНУ ВНИИСХМ)**

196608 Санкт-Петербург, Пушкин,  
 шоссе Подбельского, 3  
 Телефон 8-812-470-51-00

Выдано в ФГБУ «Россельхозцентр»  
 по Астраханской области

Факс 470-43-62

18.05.2018, № 264/05

**СПРАВКА**

**о депонировании штамма микроорганизма в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (RCAM)**

- 1. Депозитор:** Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Российский сельскохозяйственный центр» по Астраханской области, 414051, г. Астрахань, ул. 5-я Котельная, 9.
- 2. Авторы штамма:** Григорян Л. Н., Батаева Ю. В., Шляхов В.А.
- 3. Штамм *Nocardiosis umidischolae* №18** обладает высокими показателями фитостимулирующей, противовирусной, фунгицидной, бактерицидной афицидной и акарицидной свойств; является перспективным элементом агробиотехнологии, на основе которого планируется разработка лабораторного образца биопрепарата для фитостимуляции, повышения плодородия почвы и урожайности сельскохозяйственных культур, защиты растений от болезней и вредителей.
- 4. Штамм *Nocardiosis umidischolae* №18** депонирован 8 мая 2018 г. под регистрационным номером RCAM04883.
- 5. Адрес коллекции:** 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, 3, ФГБНУ ВНИИСХМ; тел. (812) 470-51-00, факс (812) 470-43-62, e-mail: [v.safronova@rambler.ru](mailto:v.safronova@rambler.ru), сайт: <http://www.arriam.ru>

Директор ФГБНУ ВНИИСХМ  
 д.б.н.

Н.А. Проворов

Заведующая RCAM, к.б.н.

В.И.Сафронова



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ  
И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

**ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОЛЛЕКЦИЯ ПАТОГЕННЫХ  
МИКРООРГАНИЗМОВ И КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР  
«ГКПМ – ОБОЛЕНСК»**

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ»  
(ФБУН ГНЦ ПМБ)

142279, Московская область, г.о. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А», д. 24  
Тел. 36-00-03, факс 36-00-10, код (4967), E-mail: info@obolensk.org, http://www.obolensk.org

№ 435

«08» июля 2022 года

**СПРАВКА О ДЕПОНИРОВАНИИ**

Государственная коллекция  
патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск»  
приняла на хранение авторский штамм микроорганизма  
*Streptomyces carpathicus* № 11.

**Особенность (предназначение) штамма:** обладает высокими показателями фитостимулирующей, противовирусной, фунгицидной, афицидной и акарицидной активности; является перспективным элементом агrobiотехнологии, на основе которого разработан экспериментальный образец биопрепарата для фитостимуляции, повышения урожайности сельскохозяйственных культур, защиты растений от болезней и вредителей.

**Депозитор:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный университет имени В.Н. Татищева» (Астраханский государственный университет имени В.Н. Татищева).

**Адрес депозитора:** 414056, г. Астрахань, ул. Татищева, д. 20а. Тел.: 24-64-00. Факс: 24-68-64, код (8512). E-mail: asu@asu.edu.ru, http://www.asu.edu.ru.

**Автор (ы):** Григорян Лилия Норайровна, к.б.н.; Батасва Юлия Викторовна, к.б.н., доцент.

**Штамм депонирован:** 01 июля 2022 г.

**Принятому штамму присвоен регистрационный номер:** В-9993

Директор

И.А. Дятлов

Заведующий отделом  
коллекционных культур

А.Г. Богун



## Streptomyces carpaticus strain SCPM-O-B-9993 chromosome, complete genome

GenBank: CP104005.1

[FASTA Graphics](#)[Go to:](#)

LOCUS CP104005 5968715 bp DNA linear BCT 11-SEP-2022  
 DEFINITION Streptomyces carpaticus strain SCPM-O-B-9993 chromosome, complete genome.  
 ACCESSION CP104005  
 VERSION CP104005.1  
 DBLINK BioProject: [PRJNA269675](#)  
 BioSample: [SAMN30493425](#)  
 KEYWORDS .  
 SOURCE Streptomyces carpaticus  
 ORGANISM [Streptomyces carpaticus](#)  
 Bacteria; Actinobacteria; Streptomycetales; Streptomycetaceae; Streptomyces.  
 REFERENCE 1 (bases 1 to 5968715)  
 AUTHORS Bataeva,Y., Bogun,A., Kislichkina,A., Solomentsev,V., Skryabin,Y., Sizova,A., Platonov,M. and Grigoryan,L.  
 TITLE Direct Submission  
 JOURNAL Submitted (31-AUG-2022) Science Department, SRCAMB, Building 1, Obolensk, Moscow region 142279, Russia  
 COMMENT The annotation was added by the NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP). Information about PGAP can be found here:  
[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/annotation\\_prok/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/annotation_prok/)

## ##Genome-Assembly-Data-START##

Assembly Method :: Unicycler v. v 0.4.7  
 Genome Representation :: Full  
 Expected Final Version :: Yes  
 Genome Coverage :: 130.8x  
 Sequencing Technology :: Illumina MiSeq; Oxford Nanopore MinION  
 ##Genome-Assembly-Data-END##

## ##Genome-Annotation-Data-START##

Annotation Provider :: NCBI  
 Annotation Date :: 09/02/2022 14:56:40  
 Annotation Pipeline :: NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP)  
 Annotation Method :: Best-placed reference protein set; GeneMarkS-2+  
 Annotation Software revision :: 6.2  
 Features Annotated :: Gene; CDS; rRNA; tRNA; ncRNA; repeat\_region  
 Genes (total) :: 5,409  
 CDSs (total) :: 5,331  
 Genes (coding) :: 5,206  
 CDSs (with protein) :: 5,206  
 Genes (RNA) :: 78  
 rRNAs :: 5, 5, 5 (5S, 16S, 23S)  
 complete rRNAs :: 5, 5, 5 (5S, 16S, 23S)  
 tRNAs :: 60  
 ncRNAs :: 3  
 Pseudo Genes (total) :: 125  
 CDSs (without protein) :: 125  
 Pseudo Genes (ambiguous residues) :: 0 of 125

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2634387

**СПОСОБ СТИМУЛЯЦИИ РОСТА И РАЗВИТИЯ  
РАСТЕНИЙ, ПОВЫШЕНИЯ УРОЖАЙНОСТИ И  
ЗАЩИТЫ ОТ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ В  
АРИДНОЙ ЗОНЕ**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Астраханский государственный университет" (RU)*

Авторы: *Батаева Юлия Викторовна (RU),  
Держинская Ирина Станиславовна (RU)*

Заявка № 2015143855

Приоритет изобретения 13 октября 2015 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 26 октября 2017 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 13 октября 2035 г.

*Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности*

*Г.П. Низина*



## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2695157

**ШТАММ STREPTOMYCES CARPATICUS ДЛЯ ЗАЩИТЫ  
ОТ НАСЕКОМЫХ-ВРЕДИТЕЛЕЙ, ГРИБНЫХ,  
ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ И СТИМУЛЯЦИИ РОСТА  
ТОМАТОВ**

Патентообладатели: *Григорян Лилит Норайровна (RU), Батаева Юлия Викторовна (RU), Шляхов Виктор Александрович (RU)*

Авторы: *Григорян Лилит Норайровна (RU), Батаева Юлия Викторовна (RU), Шляхов Виктор Александрович (RU), Держинская Ирина Станиславовна (RU)*

Заявка № 2018113688

Приоритет изобретения 13 апреля 2018 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 22 июля 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 13 апреля 2038 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

*Г.П. Ивлиев* Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) RU (11) **2 709 308** (13) C1ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(51) МПК  
C02F 1/50 (2006.01)  
A01P 13/00 (2006.01)  
(52) СПК  
C02F 1/50 (2019.08)  
A01N 25/00 (2019.08)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: действует (последнее изменение статуса: 26.12.2019)

(21)(22) Заявка: [2019104959](#), 21.02.2019(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
21.02.2019Дата регистрации:  
17.12.2019Приоритет(ы):  
(22) Дата подачи заявки: 21.02.2019(45) Опубликовано: [17.12.2019](#) Бюл. № [35](#)(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: RU 2448051 C2, 20.04.2012. SU  
1504248 A1, 30.08.1989. CN 103975948 A,  
13.08.2014.Адрес для переписки:  
195256, Санкт-Петербург, ул. Бутлерова, 13,  
кв. 557, Курашов Евгений Александрович

(72) Автор(ы):

Курашов Евгений Александрович (RU),  
Крылова Юлия Викторовна (RU),  
Батаева Юлия Викторовна (RU),  
Русанов Александр Геннадьевич (RU),  
Суханко Людмила Тимофеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

ООО "МЕТА-АКВА" (RU)

(54) АЛЬГИЦИД ДЛЯ ПОДАВЛЕНИЯ РАЗВИТИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ И ЗЕЛЕННЫХ  
ВОДОРОСЛЕЙ НА ОСНОВЕ МЕТАБОЛИТОВ - АЛЛЕЛОПАТИИ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии, в частности к альгицидам на основе органических кислот - метаболитов водных растений, применяемых для обработки искусственных водных экосистем - аквариумов, бассейнов для аквакультуры, с целью избирательного подавления цветения, вызываемого цианобактериями и зелеными водорослями и поддержания развития экосистемы. Описан альгицид для избирательного подавления цветения, вызываемого цианобактериями и зелеными водорослями в искусственных водных экосистемах, отличающийся тем, что в состав входят галловая, тетрадекановая, гептановая, октановая кислоты и этанол, и использованием природного механизма аллелопатии для контроля развития цианобактерий и зеленых водорослей, в следующих концентрациях, (г/л) (% действующего соединения): галловая кислота C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub> (Gallic acid) - 70 (25); тетрадекановая кислота C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub> (Tetradecanoic acid) - 70 (25); гептановая кислота C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub> (Heptanoic acid) - 70 (25); октановая кислота C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub> (Octanoic acid) - 70 (25); этиловый спирт - остальное (1 л). Технический результат: повышение эффективности контроля развития цианобактерий и зеленых водорослей в водных системах и обеспечение экологической безопасности альгицида. 13 табл.

Изобретение относится к биотехнологии, в частности к альгицидам на основе органических кислот - метаболитов водных растений, применяемых для обработки искусственных водных экосистем - аквариумов, бассейнов для аквакультуры, с целью



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2020620186

**ВЛИЯНИЕ ШТАММОВ АКТИНОМИЦЕТОВ НА  
ВИРУСНЫЕ БОЛЕЗНИ ОВОЩЕБАХЧЕВЫХ КУЛЬТУР  
И КАРТОФЕЛЯ В АРИДНОЙ ЗОНЕ СЕВЕРНОГО  
ПРИКАСПИЯ**

Правообладатели: *Григорян Лилит Норайровна (RU), Батаева Юлия  
Викторовна (RU)*

Авторы: *Григорян Лилит Норайровна (RU),  
Батаева Юлия Викторовна (RU)*



Заявка № 2020620059

Дата поступления 14 января 2020 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре баз данных 30 января 2020 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

*Г.П. Ивлиев* Г.П. Ивлиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2013620692

ЦИАНОБАКТЕРИИ ТЕХНОГЕННЫХ ВОДОЕМОВ  
КАСПИЙСКОГО БАССЕЙНА

Правообладатель(ли): *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Астраханский государственный университет" (Астраханский государственный университет) (RU)*

Автор(ы): *Батаева Юлия Викторовна (RU), Держинская Ирина Станиславовна (RU), Егоров Михаил Алексеевич (RU)*

Заявка № 2013620350

Дата поступления 11 апреля 2013 г.

Зарегистрировано в Реестре баз данных  
10 июня 2013 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

Б.П. Симонов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



RU2022620218

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ  
ГОСУДАРСТВЕННАЯ РЕГИСТРАЦИЯ БАЗЫ ДАННЫХ, ОХРАНЯЕМОЙ  
АВТОРСКИМИ ПРАВАМИ

Номер регистрации (свидетельства): 2022620218 Дата регистрации: 24.01.2022 Номер и дата поступления заявки: 2022620063 14.01.2022 Дата публикации и номер бюллетеня: 24.01.2022 Бюл. № 2 Контактные реквизиты: +79678208952, lilyagrigoryan90@gmail.com	Автор(ы): Григорян Лилиит Норайровна (RU), Батаева Юлия Викторовна (RU) Правообладатель(и): Общество с ограниченной ответственностью «ФитоБиоГарант» (RU)
---	--

Название базы данных:

«Компонентный состав метаболитов бактерий рода *Streptomyces* с полифункциональными свойствами, выделенных из почв Астраханской области»

Реферат:

В базе данных представлено описание культурально-морфологических, физиолого-биохимических и генетических свойств штамма *Streptomyces sagraticus* RCAM04697. База данных создана для хранения совокупности самостоятельных материалов, содержащих компонентный состав метаболитов бактерий рода *Streptomyces* с полифункциональными свойствами. Дана оценка компонентного состава метаболитов данного штамма, определенного методами качественных реакций, тонкослойной хроматографии, высокоэффективной жидкостной хроматографии, газовой хроматографии и масс-спектрометрии. Материалы, представленные в базе данных, свидетельствуют о том, что обнаруженные метаболиты широкого спектра действия штамма *S. sagraticus* RCAM04697 влияют на способность стрептомицетов к хорошей выживаемости и высокой конкурентоспособности в различных экологических нишах – почве, растениях и семенах. База данных предназначена для преподавателей, аспирантов и студентов биологических и аграрных факультетов вузов, а также для лиц, заинтересованных в биотехнологии. Ведется постоянное пополнение базы данных. Тип ЭВМ: IBM PC - совмест. ПК. ОС: Windows XP/Vista/7/10, Linux.

Вид и версия системы управления базой данных: MySQL

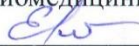
Объем базы данных: 0,21875 ГБ

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«АСТРАХАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Биологический факультет

УТВЕРЖДАЮ

декан биологического факультета;  
профессор кафедры физиологии, морфологии,  
генетики и биомедицины; д.б.н., профессор  
 Е.И. Кондратенко

«25» марта 2021г.


**Инструкция по применению экспериментальных образцов  
биопрепаратов на основе штаммов бактерий  
*Streptomyces carpaticus* RCAM04697, *Nocardioopsis umidischolae* RCAM04882,  
*Nocardioopsis umidischolae* RCAM04883, обладающих фитостимулирующими,  
противовирусными, фунгицидными  
и антиоксидантными свойствами**

РАЗРАБОТАНО

ассистент кафедры биотехнологии,  
зоологии и аквакультуры

 Л.Н. Григорян

доцент кафедры биотехнологии,  
зоологии и аквакультуры,  
доцент, к.б.н

 Ю.В. Батаева



г. Астрахань

«11» сентября 2017 г.

«УТВЕРЖДАЮ»  
И.о. ректора ФГБОУ ВО  
«Астраханский государственный университет»



А.П. Луцев

«УТВЕРЖДАЮ»  
Руководитель филиала ФГБУ  
«Российский сельскохозяйственный центр» по  
Астраханской области



В.А. Шляхов

«УТВЕРЖДАЮ»  
Индивидуальный предприниматель  
Глава Крестьянского (фермерского) Хозяйства  
Умхаджиев Саид Лом-Алиевич



Л. Умхаджиев

### А К Т

#### испытаний биологической эффективности экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 в полевом опыте на картофеле

Комиссия в составе: представителей Астраханского государственного университета - д.б.н., зав. кафедрой биотехнологии, зоологии и аквакультуры Егорова М.А.; к.б.н., доцента кафедры биотехнологии, зоологии и аквакультуры Батаевой Ю.В.; аспиранта кафедры биотехнологии, зоологии и аквакультуры Л.Н. Григорьян; представителей филиала ФГБУ «Российский\_сельскохозяйственный центр» по Астраханской области - к.с.-х.н., руководителя В.А. Шляхова, начальника отдела защиты растений А.Е. Тальшкиной, начальника Енотаевского районного отдела А.М. Нестерова; представителя Индивидуального предпринимателя Главы Крестьянского (фермерского) Хозяйства Умхаджиева Саида Лом-Алиевича - главы ИП ГКФХ С.Л. Умхаджиева.

Целью исследования явилось изучение биологической эффективности экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697, в качестве основы потенциального биопрепарата с фитостимулирующими и противовирусными свойствами для повышения

г. Астрахань

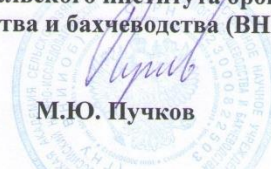
17.12.2013 г.

«УТВЕРЖДАЮ»  
Ректор ФГБОУ ВПО  
Астраханский государственный  
университет



А.П. Лунев

«УТВЕРЖДАЮ»  
Директор ГНУ Всероссийского научно-  
исследовательского института брошаемого  
овощеводства и бахчеводства (ВНИИОБ)



М.Ю. Пучков

## А К Т

испытаний фитостимулирующих свойств циано-бактериальных сообществ

Комиссия в составе: представителей Астраханского государственного университета - д.б.н., профессор, зав. кафедрой биотехнологии и биоэкологии АГУ Егорова М.А.; к.б.н., с.н.с. лаборатории биотехнологии АГУ Магзановой Д.К.; к.б.н., с.н.с. лаборатории биотехнологий АГУ Батаевой Ю.В.; и представителей ВНИИОБа - зав. отделом селекции и технологии возделывания хлопчатника к.с.-х.н. Токаревой Н.Д., в.н.с. отдела селекции и технологии возделывания хлопчатника, д.б.н. Шахмедовой Г.С.

Целью исследования явилось изучение фитостимулирующих свойств циано-бактериальных сообществ в лабораторном и полевом опыте с хлопчатником сорта АС-1.

Проведены исследования влияния циано-бактериальных сообществ на рост и развитие хлопчатника. Оценка эффективности обработки семян и растений исследуемыми сообществами показала увеличение всхожести, высоты растений, площади листовой поверхности и количества листьев, длины корня, урожайности хлопчатника, по сравнению с контролем (без обработки семян). Установлено увеличение урожайности на 10% и 12%, по сравнению с контролем и обработкой растений минеральными удобрениями. При обработке растений цианобактериями получены максимальные показатели длины волокна хлопка, в сравнении с обработкой бактериями рода *Bacillus*, эпибрасинолидом, минеральными удобрениями и контролем, что является дополнительным резервом увеличения продуктивности семеноводческих посевов и повышения качества выращиваемой продукции.

Для интенсификации роста и повышения качества волокна хлопчатника целесообразно рекомендовать разработанные биологические удобрения на основе цианобактерий.

Представители  
Астраханского государственного  
университета:


 д.б.н., профессор М.А. Егоров

 к.б.н., с.н.с. Ю.В. Батаева

 к.б.н., с.н.с. Д.К. Магзанова

Представители  
ВНИИОБ:

 к.с.-х.н. Н.Д. Токарева

 д.б.н. Г.С. Шахмедова



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
«ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА  
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ТОКСИКОЛОГИИ И ГИГИЕНИЧЕСКОЙ РЕКЛАМЕНТАЦИИ БИОПРЕПАРАТОВ»  
ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
«ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА  
(НИЦ ТБП - филиал ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России)

142253 Рязань, Мухомовская область, Серпуховский район, пос. Большевик, ул. Ленина 102А, тел./факс: +7(4967)706238, E-mail: tboxc@online.stack.net

#### УТВЕРЖДАЮ

И.о. директора НИЦ ТБП – филиала ФГБУ «ГНЦ  
Институт иммунологии» ФМБА России



С.И. Рыбалкин

12 2021 г.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

о патогенности (вирулентности, токсичности, токсигенности, диссеминации) *Streptomyces carpaticus K-11* для теплокровных животных.

В соответствии с методическими указаниями Минздрава СССР № 4263-87, № 2620 – 82, методическими рекомендациями РГМУ «Критерии оценки патогенных свойств штаммов-продуцентов, предлагаемых для использования в промышленности микробиологического синтеза» (1992г.) и с учетом рекомендаций ВОЗ (бюлл. ВОЗ, 1981, №6, стр.20-27) изучена патогенность (вирулентность, токсичность, токсигенность, диссеминация) для теплокровных животных штамма *Streptomyces carpaticus K-11*.

**Вирулентность** изучали при однократном внутрижелудочном и внутрибрюшинном введении суспензии клеток *Streptomyces carpaticus K-11* в физиологическом растворе. Белым крысам и белым мышам внутрибрюшинно вводили по  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$ ; внутрижелудочно - по  $10^7$ ,  $10^8$  и  $10^9$  клеток на животное. Контрольным животным вводили стерильный физиологический раствор. В опыте использовали по 6 животных на дозу при каждом введении. В период наблюдения (15 суток) клинических симптомов заболевания у животных не наблюдалось, гибель отсутствовала.

Таким образом, ЛД<sub>50</sub> для крыс и мышей при внутрижелудочном введении превышает  $10^9$  клеток, при внутрибрюшинном введении превышает  $10^8$  клеток. Следовательно, испытанный штамм *Streptomyces carpaticus K-11* не вирулентен.

Для изучения диссеминации через 30 суток после внутрижелудочного и внутрибрюшинного введения белым мышам бактериальной суспензии в тех же дозах, что при изучении вирулентности, делали посев методом отпечатков срезов внутренних органов животных (сердца, легких, печени, почек и селезенки) на соответствующие



**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«АСТРАХАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Биологический факультет

УТВЕРЖДАЮ

Декан биологического факультета,  
д.б.н., профессор  
Е.М. Кондратенко

Подпись заверено в \_\_\_\_\_ 2022г.

направленной в  
№ 46 Астрахань  
2022

**Справка о внедрении результатов  
диссертации в учебный процесс**

Результаты диссертационной работы Батаевой Ю.В. на тему «Особенности микробных комплексов аридной зоны в условиях агро- и техногенеза и их биотехнологическая значимость» используются в учебном процессе при преподавании дисциплин: «Сельскохозяйственная биотехнология», «Экология микроорганизмов», «Промышленные микроорганизмы», «Промышленная биотехнология» студентам бакалаврских и магистерских программ направлений 06.03.01 и 06.04.01 «Биология».

**Выдержки из рабочих программ:**

**1. Дисциплина «Сельскохозяйственная биотехнология»**

Направление подготовки / специальность 06.04.01 Биология

Направленность (профиль) - ОПОП Биотехнология

Квалификация (степень) - магистр

Форма обучения - очная

Группа БХ 25

Темы из рабочей программы дисциплины (модуля), в которых использовались материалы диссертационной работы:

- Механизмы воздействия на растения микробиологических удобрений.
- Биопрепараты на основе водорослей, бактерий.
- Производство и применение микробиологических удобрений.
- Фунгицидные биопрепараты.
- Микробиологические инсектициды.

**2. Дисциплина «Экология микроорганизмов»**

Направление подготовки / специальность 06.03.01 Биология

Направленность (профиль) - ОПОП Экология, Биоинженерия и биотехнология

УТВЕРЖДАЮ:



Руководитель филиала  
ФГБУ «Россельхозцентр»  
по Астраханской области

*В.А. Шляхов*  
02. сентября 2022г.

## АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов научных исследований, полученных в ходе выполнения  
диссертационной работы Батаевой Юлии Викторовны на тему:  
«Особенности микробных комплексов аридной зоны в условиях агро- и  
техногенеза и их биотехнологическая значимость»

**Наименование предложения для внедрения:** технология применения  
экспериментальных образцов препаратов на основе штаммов *N. umidischolae*  
RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883, *S. carpaticus* RCAM04697.

**Где внедрено:** филиал ФГБУ «Россельхозцентр» по Астраханской  
области (г. Астрахань, ул. 5-я Котельная, 9).

**Эффективность внедрения:** разработанная технология применения  
экспериментальных образцов препаратов на основе штаммов *N. umidischolae*  
RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883, *S. carpaticus* RCAM04697  
внедрена в интегрированную систему защиты растений (картофеля и  
томатов) на испытательных демонстрационных участках филиала.  
Технология показала высокую биологическую эффективность.

Зам. руководителя

А.Е. Тальшкіна

Руководитель испытательной  
лаборатории

М.Р. Аббасова

Общество с ограниченной ответственностью

«ФитоБиоГарант»

(ООО «ФБГ»)

### АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Технология получения экспериментальных образцов препаратов на основе штаммов *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883, *S. carpaticus* RCAM04697, разработанная Батаевой Юлией Викторовной в рамках диссертационной работы на тему: «Особенности микробных комплексов аридной зоны в условиях агро- и техногенеза и их биотехнологическая значимость» позволяет получать указанные образцы в жидкой препаративной форме. С января 2021 произведено 260 литров экспериментальных образцов биопрепаратов.

Директор ООО «ФитоБиоГарант»

Л.Н. Григорян



## СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи в реферируемых журналах

1. **Батаева, Ю.В.** Особенности микроорганизмов техногенных водоемов Нижней Волги // Экол. Сист. и Приб. – 2009. - №12. - С. 32-34. ИФ=0,360.
2. **Батаева, Ю.В.** Биоразнообразие цианобактерий в почвах Астраханской области / **Ю.В. Батаева, И.С. Держинская, Мвале Камуквамба** // Юг России: Экол., Разв. - 2010. - № 4. - С. 76-78. ИФ=0,423. Цит 8.
3. **Батаева, Ю.В.** Исследование ростстимулирующей и фунгицидной активности циано-бактериальных сообществ из экосистем Астраханской области // Ест. науки. - 2011. - № 3 (36). – С. 81-86. ИФ=0,197. Цит. 4.
4. Чан, М. К. Исследование фунгицидной активности бактерий рода *Bacillus*, выделенных из клубеньков *Vigna cylindrica* / Чан Минь Куан, **Ю.В. Батаева, М.А. Егоров** // Труды Кубан. Гос. Агр. Универ. - 2011. № 12 (33), С. 93-96. ИФ=0,379.
5. **Батаева, Ю.В.** Скрининг циано-бактериальных сообществ из экосистем Нижнего Поволжья, обладающих ростстимулирующими свойствами / **Ю.В. Батаева, И.С. Держинская, Чан Минь Куан, Мвале Камуквамба** // Вестн. Алт. Гос. Агр. Универ. – 2012. - № 2 (88). - С. 46-49. ИФ=0,241. Цит. 3.
6. Чан, М. К. Ростстимулирующий эффект штамма *Bacillus megaterium* в вегетационном опыте / Чан Минь Куан, М.А. Егоров, **Ю.В. Батаева** // Вестн. Алт. Гос. Агр. Универ. – 2012. - № 3 (89). - С. 46-49. ИФ=0,241. Цит. 3.
7. Шадманова, Т.Х. Микробиологические показатели почв территорий г. Астрахань / Т.Х. Шадманова, Ю.С. Чуйков, М.А. Егоров, **Ю.В. Батаева** // Ест. науки. - 2014. - №1 (46). - С. 33-40. ИФ=0,197. Цит. 1.
8. **Батаева, Ю.В.** Хромато-масс-спектрометрическое исследование экзогенных метаболитов альго-бактериальных сообществ в накопительной культуре / **Ю.В. Батаева, Е.А. Курашов, Ю.В. Крылова** // Вода: Хим. и Экол. - 2014. - №9 (75). - С. 59-68. ИФ=0,349. Цит. 6.

9. **Батаева, Ю.В.** Исследование колонизации ризопланы растений семейства пасленовые (*Solanaceae*) цианобактериями / **Ю.В. Батаева**, М.Д. Фомина // Вестн. Алт. Гос. Агр. Универ. - 2014. - №11 (121). – С. 77-82. ИФ=0,241. Цит. 1.
10. **Батаева, Ю.В.** Оценка некоторых фенологических показателей рода *Gossypium hirsutum (malvaceae)* при воздействии биостимуляторов разной природы / **Ю.В. Батаева**, Д.К. Магзанова, О.В. Астафьева, М.Д. Фомина // Вестн. Алт. Гос. Агр. Универ. - 2015. - №1 (123). - С. 70-76. ИФ=0,241. Цит. 2.
11. Астафьева, О.В. Исследование антибактериальных свойств стимулятора роста растений «Эпин-экстра» с целью получения экологически чистой продукции / О.В. Астафьева, Д.Д. Вилкова, **Ю.В. Батаева**, Д.К. Магзанова, М.А. Егоров // Вестн. Алт. Гос. Агр. Универ. - 2015. - №8 (130). - С. 81-85. ИФ=0,241. Цит. 7.
12. **Батаева, Ю.В.** Исследование процесса интенсификации очистки сточных вод рыбоперерабатывающей промышленности циано-бактериальными консорциумами / **Ю.В. Батаева**, М.С. Саткалиева // Экол. Сист. и приоб. - 2015. - №8 - С. 10-16. ИФ=0,360. Цит. 1.
13. **Bataeva, Y.V.** Composition of phototrophs in different soil types of Astrakhan oblast / **Y.V. Bataeva**, I.S. Dzerzhinskaya, L.V. Yakovleva // Euras. Soil Sci. – 2017. – Vol. 50, N 8. – P. 943-951. ИФ=2,810, WoS, Scopus, Q2. CrossRef. Цит. 3.
14. Astafyeva, O. Chemical composition and antibacterial properties of *Achillea micrantha* / O. Astafyeva, L. Sukhenko, M. Egorov, **Y. Bataeva**, A. Baimukhambetova, E. Kurashov, J. Krylova // Ind. J. Pharm. Sci. - 2018. - Vol. 80, N 3. - P. 434-441. Scopus, Q2, IF=1,035.
15. **Bataeva, Yu.V.** Study of antioxidant activity and composition of cyanobacteria metabolites by TLC, HPTLC, and HPLC for the search of environmentally safe cleaning agents / **Yu.V. Bataeva**, M.S. Satkalieva, S.V. Antonova, M.A. Sinetova, A.Yu. Kozlova, O.V. Astafyeva and A.S. Baimuhambetova // Rus. J. of Gen. Chem. – 2018. - Vol. 88. – №. 13. - P 2898-2902. ИФ=0,716, Web of Science, Scopus, Q3. CrossRef. Цит. 1.

16. Григорян, Л.Н. Оценка биологической эффективности бактерий *Streptomyces* sp., выделенных из засоленных почв аридной зоны, в отношении возбудителей вирусных болезней картофеля / Л.Н. Григорян, **Ю.В. Батаева**, В.А. Шляхов, Е.Д. Андреева, М.А. Егоров // Совр. наука: Акт. Пробл. Теор. и Практ. Серия «Естественные и технические науки». – 2018. - № 12. - С. 14-22. РИНЦ, ИФ=0,164. Цит. 1.
17. Григорян, Л.Н. Микробиологический состав засоленных почв аридных территорий / Л.Н. Григорян, **Ю.В. Батаева**, Л.В. Яковлева, В.А. Шляхов // Совр. наука: Акт. Пробл. Теор. и Практ. Серия «Ест. и Техн. науки». - 2018. - № 12. - С. 6-14. РИНЦ, ИФ=0,164. Цит. 5.
18. Григорян, Л.Н. Фитотоксичность и инсектоакарицидная активность актиномицетов, выделенных из засоленных почв аридной территории / Л.Н. Григорян, **Ю.В. Батаева**, В.А. Шляхов, Д.К. Магзанова, А.С. Баймухамбетова // Юг России: Экол., Разв. - 2020. – Т. 15. - № 2. - С. 103-112. РИНЦ, ИФ=0,423, Scopus, Q4. Цит. 1.
19. Grigoryan, L.N. Study of the component structure of the metabolites of bacteria *Nocardiosis umidischolae* in the search for eco-friendly plant protection agents / L.N. Grigoryan, **Y.V. Bataeva**, E.D. Andreeva, D.Kh. Zakar'yaeva, Z.O. Turaeva // Rus. J. of Gen. Chem. – 2020. - № 90 (13). - P. 2531–2541. ИФ=0,716, Web of Science, Scopus, Q3. CrossRef. Цит. 4.
20. Григорян, Л.Н. Влияние штамма бактерий *Streptomyces carpaticus* РСАМ 04697 на фитостимуляцию, фитовирусы томата и насекомых-вредителей в лабораторных условиях / Л.Н. Григорян, **Ю.В. Батаева**, В.А. Шляхов // Ест. и Техн. науки. - 2020. - № 6 (144). - С. 58-61. РИНЦ. ИФ=0,194. Цит. 2.
21. Григорян, Л.Н. Биологическое обоснование применения суспензии штамма *Streptomyces carpaticus* РСАМ 04697 для защиты томата от насекомых – вредителей и фитопатогенов в открытом грунте / Л.Н. Григорян, **Ю.В. Батаева**, В.А. Шляхов // Ест. и Техн. науки. - 2020. - № 6 (144). - С. 54-57. РИНЦ. ИФ=0,194. Цит. 1.

22. Prokopchuk, T.M. Evaluation of the mutagenic and antimutagenic potentials of plant raw materials for functional and food purposes / T.M. Prokopchuk, E.I. Kondratenko, **U.V. Bataeva** // IOP Conf. Series: Earth and Envir. Science. 839. – 2021. - 042029. P. 1-6. Scopus.

23. **Батаева, Ю.В.** Изучение метаболитов *Streptomyces carpaticus* RCAM04697 для создания экологически безопасных средств защиты растений / **Ю.В. Батаева**, Л.Н. Григорян, Е.А. Курашов, Ю.В. Крылова, Е.В. Федорова, Е.Я. Явид, В.В. Ходонович, Л.В. Яковлева // Теор. и Прикл. Экол. - 2021. С. №. 3. P. 172-178. РИНЦ, ИФ=0,679, Web of Science, Scopus, Q2. CrossRef. Цит 1.

#### **Авторские свидетельства и патенты**

24. База данных РФ № 2013620692, от 10 июня 2013г. Цианобактерии техногенных водоемов Каспийского бассейна / **Ю.В. Батаева**, И.С. Держинская, М.А. Егоров – Правообладатели: ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет».

25. Пат. № 2634387 С2 Российская Федерация, МПК А01N 63/02. Способ стимуляции роста и развития растений, повышения урожайности и защиты от фитопатогенных грибов в Аридной зоне / **Ю.В. Батаева**, И.С. Держинская; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет». - № 2015143855; заявл. 19.04.2017; опубл. 26.10.2017; Бюл. № 11.

26. Пат. на полезную модель № 189062, Российская Федерация, МПК С02F 1/00. Устройство для доочистки сточных вод пищевой промышленности / **Ю.В. Батаева**, М.С. Саткалиева, С.В. Золотокопова; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет». - № 2018121163; заявл. 07.06.2018; опубл. 07.05.2019; Бюл. № 13.

27. Пат. №2709308 С1 Российская Федерация, МПК С02F 1/50 Альгицид для подавления развития цианобактерий и зеленых водорослей на основе метаболитов – аллелохемиков водных растений / Е.А. Курашов, Ю.В. Крылова, **Ю.В. Батаева**, А.Г. Русанов, Л.Т. Сухенко; заявитель и патентообладатель ООО

«МЕТА-АКВА». - № 2019104959; заявл. 21.02.2019; опубл. 17.12.2019; Бюл. № 35.

28. Пат. № 2695157 Российская Федерация, МПК C12N1/20, A01N63/02, C12R1/465. Штамм *Streptomyces carpaticus* для защиты от насекомых-вредителей, грибных, вирусных болезней и стимуляции роста томатов / Л.Н. Григорян, **Ю.В. Батаева**, В.А. Шляхов, И.С. Держинская; заявитель и патентообладатель Л.Н. Григорян, **Ю.В. Батаева**, В.А. Шляхов. – № 2018113688; заявл. 13.04.2018; опубл. 22.07.2019; Бюл. № 21.

29. База данных РФ № 2020620186, от 30.01.2020. Влияние штаммов актиномицетов на вирусные болезни овощебахчевых культур и картофеля в аридной зоне Северного Прикаспия / Л.Н. Григорян, **Ю.В. Батаева** – Правообладатели: Л.Н. Григорян, **Ю.В. Батаева**.

30. База данных РФ № 2022620218, от 24.01.2022. Компонентный состав метаболитов бактерий рода *Streptomyces* с полифункциональными свойствами, выделенных из почв Астраханской области / Л.Н. Григорян, **Ю.В. Батаева** - Правообладатели: ООО «Фитобиогарант».

#### Публикации в других изданиях

31. **Батаева, Ю.В.** Влияние экстремальных гидрохимических условий на видовой состав цианобактерий в водоемах Нижней Волги / **Ю.В. Батаева**, И.С. Держинская // Электронный журнал "Исследовано в России". 2006. – 168. - С. 1566-1573. <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2006/168.pdf>

32. **Батаева, Ю.В.** Микробиологический пейзаж высокоминерализованного техногенного озера на территории Баскунчакской котловины / **Ю.В. Батаева**, И.С. Держинская, Р.Г. Габитов // Вестник АГТУ. Сер. Экология. – 2006. - № 3. – С. 183-187. Цит. 2.

33. Держинская, И.С. Перспектива использования цианобактерий в биоремедиации территорий нефтегазового комплекса / И.С. Держинская, О.Б. Сопрунова, **Ю.В. Батаева**, Е.В. Петровичева, Г.Ю. Райская // Защ. Окр. Ср. в



Нефтегаз. Компл. Научно-технический журнал. - 2008. - № 5. - С.51-54. РИНЦ, ИФ=221. Цит. 2.

34. **Батаева, Ю.В.** Галофильные микроорганизмы для очистки высокоминерализованных сточных вод / **Батаева Ю.В.**, Габитов Р.Г. // Экология и Пром. Росс. - 2010. - № 10. - С. 29-31. ИФ=0,575.

35. **Батаева, Ю.В.** Биологическое разнообразие цианобактерий и водорослей почв Астраханской области / **Ю.В. Батаева**, И.С. Держинская, Мвале Камуквамба // Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах. Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 100-летию со дня рождения профессора Эмилии Адриановны Штиной. – г. Киров / 2010. - С. 46-49.

36. Kurashov, E.A. Low-molecular weight metabolites in *Spirodela polyrhiza* (L.) scheiden from northwest Russia in the middle of the growing season / E.A. Kurashov, J.V. Krylova, G.G. Mitrukova, D.G. Aleshina, **Y.V. Bataeva**, O.V. Astafyeva // PONTE Int. Sci. Res. J. - 2016. - Vol. 72. – №. 10. - P. 10-22.

37. **Батаева, Ю.В.** Роль цианобактерий в техногенных экосистемах юга России / **Ю.В. Батаева**, И.С. Держинская // VI Московский международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития», материалы VI международного конгресса, часть 1. – г. Москва / ЗАО «Экспо-биохим-технологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2011. - С. 156-157.

38. **Bataeva, Y.** Growth-Promoting and Fungicide Characteristics of Cyanobacterial Communities from Ecosystems of the Astrakhan / **Y. Bataeva**, I. Dzerzhinskaya, M. Egorov, D. Magzanova, O. Astafyeva // J. of Agricul. and Food Techn. (JAFT). - 2012. - 2(12). - P. 184-187.

39. **Bataeva, Y.** Study of growthpromoting and fungicidal properties of cyanobacterial communities of Astrakhan region // V съезд микробиологов Узбекистана. - Ташкент, Узбекистан / 2012. - С. 3.

40. **Батаева, Ю.В.** Влияние цианобактерий на бактеризацию семян при определении всхожести томатов // The Materials of III International Scientific

Conference on Innovation Problems of Modern Biology for Young Scientists devoted to 90 anniversary of outstanding ophthalmologist, akad. Zarifa Aliyeva. – Baku / 2013. – P. 63 — 66.

41. **Батаева, Ю.В.** Влияние цианобактерий на рост и развитие растений в условиях аридного климата // Водоросли: проблемы таксономии, экологии и использование в мониторинге. Сборник материалов докладов III Международной научной конференции. - Ярославль / Институт биологии внутренних вод им. Папанина. Филигрань, 2014. - С. 122-123.

42. **Батаева, Ю.В.** Исследование химического состава экзогенных метаболитов циано-бактериальных сообществ в накопительной культуре / **Ю.В. Батаева, Е.А. Курашов, Ю.В. Крылова** // Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов: Всероссийский симпозиум с международным участием. – Москва / МГУ имени М.В. Ломоносова. МАКС Пресс, 2014. - С. 31.

43. **Bataeva, Y.** Investigation of properties of fito-stimulate cyano-bacterial communities obtained from Lower Volga // *Life Chem. Res.: Biological Systems*, Apple Academic Press Inc. Available. - 2015. - P. 125-130. DOI: 10.1201/b18527.

44. **Bataeva, Y.V.** Investigation of specific microorganisms in the salt lakes of Southern Russia / **Y.V. Bataeva, I.S. Dzerzhinskaya, O.V. Astafyeva, M.C. Satkalieva, L.V. Yakovleva, E.I. Kondratenko, D.K. Magzanova, A.S. Vaimuhambetova** // *African J. of microb. Res.* - 2015. - Vol.9. - (38). - P. 2051-2056. Цит. 2.

45. Курашов, Е.А. Изучение состава низкомолекулярных метаболитов цианобактерий и микроводорослей в накопительной культуре и оценка перспектив их применения в борьбе с "цветением" воды / Е.А. Курашов, **Ю.В. Батаева, Ю.В. Крылова, М.С. Саткалиева** // В сборнике: Цианопрокариоты/цианобактерии: систематика, экология, распространение. Материалы докладов II Международной научной школы-конференции. – Сыктывкар / 2019. - С. 175-180.

46. **Батаева, Ю. В.** Особенности развития томатов при инокуляции циано-бактериальными сообществами / **Ю.В. Батаева, Л.Н. Григорян, Л.В. Яковлева,**

Д.К. Магзанова, А.С. Баймухамбетова, Е.Д. Андреева // АгроЭкоИнфо. - 2020. - № 2 (40). [http://agroecoinfo.narod.ru/journal/СТАТУИ/2020/2/st\\_219.pdf](http://agroecoinfo.narod.ru/journal/СТАТУИ/2020/2/st_219.pdf).

47. Григорян, Л.Н. Оценка эффективности применения почвенных актинобактерий на томатах в аридной зоне / Л.Н. Григорян, **Ю.В. Батаева** // Пробл. Агротех. и экол. – 2021. - № 1. - С. 27-31. РИНЦ, ИФ=0,303. Цит. 1.

#### **Методические и учебные пособия и глава в книге**

48. **Батаева, Ю.В.** Методические указания по люминесцентной микроскопии для студентов специальности 012400 «Микробиология», [Текст]: методические указания / Сост.: Ю.В. Батаева – Астрахань: Астраханский гостехуниверситет», 2004. – 36с.

49. **Батаева, Ю.В.** Методы выделения и исследования цианобактерий / Методическое пособие // Сост.: Ю.В. Батаева – Астрахань: Астраханский гостехуниверситет», 2008. – 71 с.

50. Микроорганизмы в процессах деструкции и биоремедиации Курапов А.А., Сопрунова О.Б., Куликова И.Ю., Еремеева С.В., **Батаева Ю.В.**, Миталев В.И. Проблемные лекции: учебное пособие для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению 020200 "Биология" и специальностям 020803 "Биоэкология" / Астраханский гос. технический ун-т, НИИ проблем Каспийского моря. Астрахань, 2009. (Гриф УМО по классическому университетскому образованию). Цит. 5.

51. **Батаева, Ю.В.** Методические указания к лабораторным работам по дисциплине «Частная микробиология и систематика микроорганизмов» для студентов специальности 020209.65 «Микробиология» и направления 020200.62 «Биология», [Текст]: методические указания / Сост.: Ю.В. Батаева – Астрахань: Астраханский гостехуниверситет», 2009. – 104 с.

52. **Батаева, Ю.В.** Отбор проб на микробиологические исследования из природной и производственной сред для самостоятельной работы студентов. Учебно-методическое пособие // Сост.: Батаева Ю.В., Держинская И.С. – Астрахань: Издательский дом «Астраханский университет», 2015. – 111 с.

53. **Батаева Ю.В.** Противомикробная активность и определение чувствительности микроорганизмов: учебно-методическое пособие / АГУ им. В.Н. Татищева; Сост.: Ю.В. Батаева, Д.Д. Вилкова, Л.Н. Григорян, Т.М. Прокопчук, Е.И. Кондратенко, С.С Астафьева. – Астрахань: Изд.: Сорокин Р.В., 2022. – 104 с.