

Национальный исследовательский  
Томский государственный университет  
Биологический институт  
Кафедра физиологии растений и биотехнологии  
МОО «Микробиологическое общество»  
Общество физиологов растений России

**БИОТЕХНОЛОГИЯ, БИОИНФОРМАТИКА И ГЕНОМИКА  
РАСТЕНИЙ И МИКРООРГАНИЗМОВ**

**Материалы Всероссийской молодежной  
научной конференции с международным участием  
26–28 апреля 2016 года**

*Под редакцией  
профессора О.В. Карначук*

Томск  
Издательский Дом Томского государственного университета  
2016

**ПОИСК В ГЕНОМЕ АЦИДОТОЛЕРАНТНОЙ  
СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩЕЙ БАКТЕРИИ  
*DESULFOVIBRIO SP.* ТОМС МЕХАНИЗМОВ  
УСТОЙЧИВОСТИ К ИОНАМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ  
И ВЫСОКОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ПРОТОНОВ В СРЕДЕ\***

**А.А. Захарова, О.В. Карначук**

Национальный исследовательский Томский  
государственный университет, Томск, Россия

Ацидотолерантные сульфатредуцирующие бактерии (СРБ) привлекают внимание исследователей как потенциальные агенты очистки различных сред, загрязненных тяжелыми металлами и сульфатами в условиях низких значений рН. Промышленная деятельность и естественное окисление металлических сульфидных руд являются причинами образования богатых сульфатами вод с низким рН и высоким содержанием тяжелых металлов. Такие отходы производства называют кислыми шахтными дренажами (КШД). Ацидотолерантные СРБ повышают щелочность среды, потребляя протоны при восстановлении  $SO_4^{2-}$  в сероводород, который реагирует с ионами тяжелых металлов с образованием нерастворимых сульфидов. Благоприятным сопутствующим фактором является редукция растворимых токсичных металлов до менее токсичных или менее растворимых форм.

Среди механизмов, позволяющих микроорганизмам выдерживать высокие концентрации протонов в среде, известны транспортеры калия, такие как системы калиевой АТФазы, и белки, транспортирующие ионы калия внутрь клетки. Такие белки могут участвовать в генерации положительного внутриклеточного потенциала для создания хемиосмотического барьера, предотвращающего приток протонов в клетку. Известно, что калий-транспортные АТФазы в больших количествах представлены в метагеномах из кислых сред (Mardanov et al., 2016). Несмотря на то что большинство описанных ацидотолерантных СРБ относятся к спо-

---

\* Работа выполнена при поддержке Минобрнауки (соглашение № 14.575.21.0067 от 07.08.2014 г. Уникальный идентификатор прикладных научных исследований (проекта) RFMEFI57514X0067).

рообразующим *Desulfosporosinus*, значительное число генов, кодирующих калиевые транспортеры, было обнаружено в геноме штамма *Desulfovibrio* sp.ТомС (Karnachuk et al., 2015). Кроме того, была найдена система устойчивости к низким рН, основанная на протон-поглощающей декарбоксиллазе.

Среди известных механизмов сопротивления металлическому стрессу, выделяют 3 основных системы: АТФазы Р-типа, RND-транспортеры и посредники диффузии катионов. Данные системы участвуют в транспорте ионов тяжелых металлов, что позволяет клеткам контролировать внутриклеточные концентрации металлов. Все штаммы *Desulfosporosinus*, чьи геномы были секвенированы, обладают гомологичными различными транспортерами металлов. Кроме того, есть данные об участии полифосфатов (PolyP) в детоксикации меди в штамме *Desulfosporosinus* sp.I2 (Mardanov et al., 2016).

Целью настоящего исследования является изучение механизмов устойчивости штамма *Desulfovibrio* sp.ТомС к ионам тяжелых металлов и высоким концентрациям протонов в среде.

Штамм *Desulfovibrio* sp.ТомС был выделен из отходов добычи золота рудника «Центральный» в центральной части Мартайги в Кузбассе (к востоку от г. Кемерово, Западная Сибирь). Культура Том С была выделена в 2012 г. из восстановленного слоя кислых осадков на стандартной среде Видделя с лактатом в качестве субстрата роста при начальном рН = 3,3, температуре культивирования 28°C и концентрации Cu(II) 25 мг/л (Karnachuk et al., 2015).

Для оценки устойчивости штамма определяли максимальные начальные концентрации ионов двухвалентных металлов, при которых возможен рост штамма. Максимальные концентрации составили: Cu(II) = 100 мг/л, Cd(II) = 50 мг/л, Ni(II) = 400 мг/л, Co(II) = 600 мг/л, Mo(II) = 100 мг/л.

Для изучения возможной геохимической деятельности *Desulfovibrio* sp.ТомС исследовали осадки, образованные чистой культурой на среде с добавлением кадмия (50 мг/л) и кобальта (100 мг/л, 500 мг/л). Образование сульфидов изучали в различные периоды времени, составлявшие 15, 28 и 77 сут. Осадки анализировали с использованием сканирующей электронной микроскопии и дифракционного анализа. Результаты экспе-

риментов показали, что штамм Том С образует сульфид кадмия, а сульфид кобальта образует только при концентрации 500 мг/л (рис. 1).

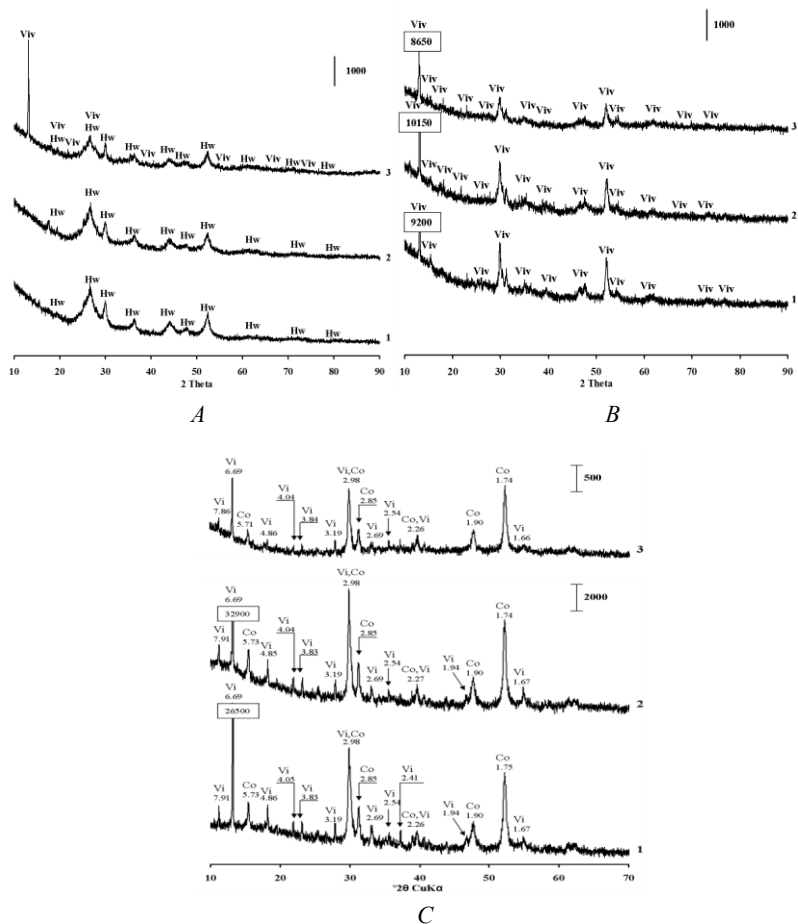


Рис. 1. Дифрактограммы осадков, образованных *Desulfovibrio* sp. ТомС: А – на среде с ионами кадмия (50 мг/л) в течение 15 (1), 28 (2) и 77 сут (3); В – на среде с кобальтом (100 мг/л) в течение 15 (1), 28 (2) и 77 сут (3); С – на среде с кобальтом (500 мг/л) в течение 15 (1), 28 (2) и 77 сут (3). Обозначения: Hw – сульфид кадмия, Viv – вивианит,  $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ , Co – кобальтпентландит,  $\text{Co}_9\text{S}_8$

*Desulfovibrio* sp.ТомС обладает несколькими механизмами устойчивости к высоким концентрациям протонов. В геноме штамма найден оперон, кодирующий KdpABC для К-транспортирующей АТФазы (NP94\_2127-2129) и регулирующий работу гистидинкиназы (NP94\_2131, NP94\_2132). Найдено значительное число генов, кодирующих калиевые транспортеры, в том числе TrkA (NP94\_0133), Kup (ген NP94\_1088) и Kef (NP94\_0927, NP94\_2739, NP94\_3049). Кроме того, в геноме *Desulfovibrio* sp.ТомС найдена система АТФаз Р-типа, транспортирующих ионы меди (WP\_043635960, WP\_043638568). Обнаружен молекулярный шаперон DnaJ, гомологичный CsoR (WP\_043638741). Данные белки характерны для многих штаммов *Desulfovibrio*, в том числе для ближайшего родственника *D. magneticus*.

### Литература

1. Karnachuk O.V., Mardanov A.V., Avakyan M.R., Kadnikov V.V., Vlasova M., Beletsky A.V., Gerasimchuk A.L., Ravin N.V. Draft genome sequence of the first acid-tolerant sulfate-reducing deltaproteobacterium *Desulfovibrio* sp.ТомС having potential for minewater treatment // FEMS MicrobiolLett. 2015. № 362 (4).
2. Mardanov A.V., Panova I.A., Beletsky A.V., Avakyan M.R., Kadnikov V.V., Antsiferov D.V., Banks D., Frank Y.A., Pimenov N.V., Ravin N.V., Karnachuk O.V. Genomic insights into a new acidophilic, copper-resistant *Desulfosporosinus* isolate from oxidized sediments of an abandoned gold mine site // FEMS MicrobiolLett (in print).

## БИОДЕСТРУКЦИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НИЗИННОГО ТОРФА АБОРИГЕННОЙ МИКРОФЛОРОЙ

Л.И. Сваровская<sup>1</sup>, Н.А. Рыбалова<sup>2</sup>, А.Г. Щербакова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт химии нефти СО РАН, Томск, Россия

<sup>2</sup> Национальный исследовательский Томский  
государственный университет, Томск, Россия

Формирование торфа является одним из важнейших процессов болотного почвообразования, оно может протекать в разнообразных гидроло-

гических условиях, создающих различный состав конечного продукта, его количество и объем [1]. Залежи торфа обычно связаны с богатой растительностью. Эффективность процессов торфообразования сравнительно низкая. Менее 10% отмерших растений или их частей аккумулируются в виде торфа, большая часть их разлагается, часть теряется в результате окисления. Отмершие растения сразу же подвергаются геохимическим и микробиологическим изменениям. Наибольшее влияние на направление почвообразовательного процесса оказывают живые организмы, при этом основную роль в глубоком и полном разрушении органических веществ играют бактерии и грибы. Субстратом для грибковых культур служат древесные ткани; бактерии избирательно разлагают углеводную и белковую части растительных клеток [2].

Объектами исследования служили образцы древесно-осокового торфа, отобранные на низинных, осушенных участках болота Тёмное, расположенного в южно-таежной подзоне Западной Сибири (Томская область) и входящего в состав крупной болотной системы верхового и низинного типов. Образцы торфа использовали для определения численности и разнообразия бактериального комплекса, а также для проведения модельного эксперимента по биодеструкции ОВ. Состав липидов ОВ торфа и бактерий анализировали методами ИК-спектрометрии и газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС).

Общая численность микрофлоры в отобранных пробах торфа на осушенных участках болота составила в среднем  $25,7 \cdot 10^6$  КОЕ/г. В составе бактериального сообщества аммонификаторов, усваивающих органический азот и активно участвующих в процессах деструкции и минерализации ОВ торфа, определены представители родов *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium* и *Pseudomonas*. Особым разнообразием характеризуется спорообразующий род *Bacillus*, насчитывающий 5 видов: *B. subtilis*, *B. mesentericus*, *B. polymyxa*, *B. micoides*, *B. Megatherium*, численность которых варьирует от  $8 \cdot 10^5$  до  $15,2 \cdot 10^6$  КОЕ/г. Грибковые культуры, выделенные из торфа, представлены следующими видами: *Penicillium sp.*, *Trichoderma sp.* и *Fusarium sp.* Их численность составила  $2,35 \cdot 10^6$  КОЕ/г.

Для оценки участия микрофлоры в процессах трансформации органического вещества в современных отложениях болот был проведен экспе-