

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

**СОВРЕМЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ  
И БИОТЕХНОЛОГИЯ  
ГЛАЗАМИ МОЛОДЫХ ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ**

Материалы Всероссийской научной конференции  
2–4 апреля 2014 г.

*Конференция организована при финансовой поддержке  
Российского фонда фундаментальных исследований  
(грант № 14-04-06806 мол\_г\_1)*

Томск  
Издательский Дом  
Томского государственного университета  
2014

pine over a range of wet to dry climates // *Oecologia*, 2003. - V. 17. - P. 515-521.

4. Козубов Г.М. Некоторые особенности адаптации хвойных к экстремальным условиям Севера // *Вопросы адаптации растений к экстремальным условиям Севера*. – Петрозаводск, 1975. - С. 85 -104.

5. Sheue C.-R., Yang Y.-P., Kuo-Huang L.-L. Altitudinal variation of resin ducts in *Pinus taiwanensis* Hayata (*Pinacea*) needle // *Bot. Bull. Acad. Sin*, 2003. - V. 44. - P. 305-313.

6. Мамаев С.А. Формы внутривидовой изменчивости древесных растений. - Москва: Наука. 1972. 284 с.

7. Правдин Л.Ф. Сосна обыкновенная. - М.: Наука, 1964. - 191 с.

8. Видякин А.Н. Изменчивость анатомо-морфологического строения хвой сосны в географических культурах Кировской области // *Лесоведение*, 1981. - С. 18-25.

9. Колгова Н.Ф. Географические прививочные плантации сосны и кедра в Красноярской лесостепи // *Географические культуры и плантации хвойных в Сибири*. - Новосибирск: Наука, 1977. - С. 154-166.

10. Бендер О.Г., Зотикова А.П., Велисевич С.Н. Экофизиологические особенности хвои кедра сибирского (*Pinus sibirica* Du Tour) в горах Северо-Восточного Алтая // *Эколого-географические аспекты лесообразовательного процесса: Материалы Всероссийской конференции с участием иностранных ученых*. Красноярск, 23-25 сентября 2009. – Красноярск: Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, 2009. – С. 282-284.

## **АЦИДОФИЛЬНЫЕ МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА В КИСЛЫХ ОТХОДАХ ДОБЫЧИ МЕТАЛЛОВ**

**А.Л. Герасимчук, О.В. Карначук**

Кафедра физиологии растений и биотехнологии,  
Томский государственный университет, Томск

Структура микробных сообществ в природных местообитаниях зависит от многих геохимических показателей среды, значений рН, ОВП, температуры, источников углерода, а также доноров и акцепторов электрона для роста. Наибольший интерес с точки зрения исследования биоразнообразия представляют собой экстремальные местообитания, для которых характерны пограничные значения физико-химических показателей среды. Кислые экосистемы помимо экстремальных значений

pH часто характеризуются повышенными концентрациями тяжелых металлов и представляют местообитания уникальных форм микроорганизмов. Примером таких экосистем являются кислые шахтные дренажные воды (КШД), образующиеся в местах хранения отходов сульфидных руд. Метаболическая активность микробных сообществ в таких экосистемах может приводить к выщелачиванию или осаждению металлов, изменению значений pH и окислительно-восстановительных условий.

Сообщества микроорганизмов КШД в основном представлены железом- и сероокисляющими ацидофильными бактериями и археями. Также в экосистемах КШД обнаруживают сульфатредуцирующих бактерий (СРБ), которые наряду с металл-восстанавливающими бактериями обладают способностью снижать концентрации растворенных металлов и сульфатов путем осаждения малорастворимых сульфидов.

Мы провели исследование биоразнообразия микробных сообществ в различных типах отходов. Объектами исследований явились окисленные осадки нескольких хвостохранилищ добычи золота (месторождения Кузбасса «Берикуль», «Центральный», «Комсомольский»), КШД и осадки хвостохранилищ вольфрамомолибденового месторождения «Бом-Горхон», Забайкальский Край, и полисульфидного месторождения «Шерловая Гора», Читинская область. Отбор проб проводили в течение нескольких полевых сезонов, в период с 2006 по 2013 годы.

Большая часть мест отбора проб характеризовалась кислыми значениями pH (от 1.96 до 2.99) и высокими концентрациями растворенных металлов и сульфата (до 22,8  $\text{SO}_4^{2-}$  г/л в Кузбассе). В некоторых из проб обнаружены экстремально высокие концентрации некоторых металлов. Например, измеренные концентрации As составили в пробах Ха116 и ШГ4 1.9 г/л и 2.9 г/л, Fe - 9.1 г/л и 18.3 г/л, Zn - 351 мг/л и 2,7 г/л, соответственно. Максимальные концентрации растворенной меди (2.08 г/л) содержались в КШД месторождения «Шерловая Гора». Там же обнаружены значимые концентрации урана (9.16 мг/л).

Наиболее детально изучены микробные сообщества хвостохранилищ Кузбасса (Карначук и др., 2009; Карначук и др., неопубликованные данные). Исследованное методами денатурирующего градиентного гель-электрофореза (ДГГЭ) и молекулярного клонирования генов 16S рРНК биоразнообразие представлено следующими бактериальными таксонами: *Alfa-*, *Beta-*, *Gamma-* и *Deltaproteobacteria*,

*Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Nitrospirae* и *Bacteroidetes*. ДГГЭ-анализ образцов ДНК из хвостохранилища Бом-Горхон выявил представителей классов *Gammaproteobacteria*, *Nitrospirae* и отдела *Firmicutes* (Герасимчук и др., 2013). Бактериальное сообщество из осадков месторождения Шерловая Гора, также исследованное методом ДГГЭ-анализа, представлено фило типами *Alfa-*, *Delta* и *Gammaproteobacteria*, и *Nitrospirae*. Наши данные и анализ литературы свидетельствуют, что в КШД обнаруживают представителей всех крупных классов/отделов бактерий, однако присутствие конкретной группы микроорганизмов, а также ее видовой состав зависит от конкретного местообитания. На примере исследованных сайтов из хвостохранилищ Кузбасса можно предположить, что анализ большого количества проб осадков с использованием разных молекулярных методов исследований позволяет обнаружить наибольшее филогенетическое разнообразие микроорганизмов с доминированием нескольких основных представителей, характерных для кислых экосистем, и присутствием большого количества минорных компонентов микробных сообществ. Минорные компоненты, так называемая «редкая биосфера», могут играть важную геохимическую роль.

Во всех исследованных сайтах нами выявлены традиционные для сообществ КШД ацидофильные железо- и сероокисляющие организмы, родственные *Acidithiobacillus*, *Acidiphillum*, *Ferrimicrobium* и *Leptospirillum* и др. Процесс окисления этими микроорганизмами твердых сульфид-содержащих отходов служит источником сульфата в образующихся КШД, который, в свою очередь, является акцептором электрона для СРБ, представители которых также обнаруживаются в кислых осадках.

Присутствие микроорганизмов, родственных спорообразующим СРБ *Desulfotomaculum* и *Desulfosporosinus* выявлены нами в кислых осадках хвостохранилищ Кузбасса и Забайкальского Края молекулярными и культуральными методами (Карначук и др., 2009; Герасимчук и др., 2013). Преимущества спорообразующих микроорганизмов очевидны в экосистемах с экстремально низким рН среды и высокой концентрацией ионов металлов. Однако некоторые исследователи сообщают об обнаружении спорных СРБ в КШД только с помощью культивирования и не обнаруживают их молекулярными методами.

Помимо спорообразующих СРБ, в кислых осадках хвостохранилищ «Комсомольское», «Берикуль» (Кузбасс) и «Шерловая Гора» (Читинская область) обнаружены фило типы *Deltaproteobacteria*,

ближайшими родственниками которых были СРБ. При этом филоциты из территориально удаленных друг от друга сайтов кластеризуются с группой клонов из кислых шахтных дренажей из экстремально кислой экосистемы реки Рио Тинто. Следует отметить, что полученные нами филоциты и родственные им клоны из кислых шахтных дренажей формируют малочисленную группу последовательностей некультивируемых организмов, образующую отдельную ветвь на филогенетическом дереве класса *Deltaproteobacteria*. Ближайшим культивируемым родственником оказалась галофильная сульфатредуцирующая бактерия (СРБ) *Desulfocella halophila* порядка *Desulfobacterales*. Уровень сходства не превышал 86%. Такой невысокий процент сходства с культивируемыми формами не позволяет достаточно подробно предсказать фенотип данных микроорганизмов, однако можно предположить их вовлеченность в цикл серы по аналогии с *Desulfobacterales*.

Таким образом, исследованное нами биоразнообразие представителей домена *Bacteria* в кислых осадках хвостохранилищ месторождений сульфидов меди (Кузбасс), вольфрама (Забайкальский край) и олова (Читинская обл.) обнаружило многокомпонентное и функционально разнообразное сообщество бактерий. Наряду с традиционными для КШД железо- и сероокисляющими бактериями выявлено присутствие уникальных бактериальных последовательностей, родственных СРБ класса *Deltaproteobacteria* и отдела *Firmicutes*. Полученные нами результаты свидетельствуют о потенциальных возможностях аборигенного микробного сообщества восстанавливать окисленные металлы и образовывать нерастворимые сульфиды. Полученные результаты могут быть использованы при проведении работ по выделению биотехнологически значимых культур из исследованных проб осадков.

#### Литература

1. Карначук О. В., А. Л. Герасимчук, Д. Бэнкс, Б. Френгстадт, Г. А. Стыкон, З. Л. Тихонова, А. Х. Каксонен, Я. А. Пухакка, А. С. Яненко, Н. В. Пименов. (2009) Бактерии цикла серы в осадках хвостохранилища добычи золота в Кузбассе. Микробиология. Т. 78. № 4. с. 483-491.

2. Герасимчук А.Л., И.А. Курганская, Ю.А. Франк, О.П. Иккерт, П.А. Бухтиярова, Ю.М. Лопушняк, Э.В. Данилова. (2013) Изучение физико-химических характеристик кислых отходов добычи сульфидов металлов и поиск сульфидогенных бактерий, перспективных для осаждения металлов. Проблемы региональной экологии. № 6. С. 112-119.