

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

Исследовано изменение состава, свойств нефти и пластовой воды на опытных участках применения композиций МЕТКА® и ГАЛКА-НТ® для увеличения нефтеотдачи на Усинском месторождении высоковязкой нефти. Определено, что изменения физико-химических свойств исследуемой нефти и пластовой воды происходят за счет перераспределения фильтрационных потоков в пласте, вовлечения в разработку ранее непромытых зон, отмыва остаточной тяжелой нефти с породы пласта, а в отдельных скважинах – за счет участия пластового биоценоза, способствующего десорбции нефти с пористой породы. По результатам проведенных опытно-промысловых работ (ОПР) проведен анализ эффективности применения новых технологий, выданы рекомендации по их дальнейшему использованию.

### Литература

1. Алтунина Л.К., Сваровская Л.И., Филатов Д.А., Гэрэлмаа Т. Оценка степени биодеструкции нефти методами ИК- и ЯМР 1H-спектроскопии // Нефтехимия. 2009. Т. 49, № 2. С. 153–158.
2. Методы почвенной микробиологии и биохимии / под ред. Д.Г. Звягинцева. М. : Изд-во Моск. ун-та, 1991. 304 с.
3. Fonken G.S., Johnson R.A. Chemical oxidations with microorganisms. New York, 1972. 240 p.

## РАЗНООБРАЗИЕ ГЕНОВ 16S рРНК БАКТЕРИИ В РАЙОНЕ ДОБЫЧИ СУЛЬФАТА НАТРИЯ\*

**А.В. Игошин, А.Л. Герасимчук, О.В. Карначук**  
Национальный исследовательский Томский  
государственный университет, Томск, Россия

Соленые озера – это уникальные водные экосистемы, характеризующиеся высокой степенью минерализации. По мнению Г.А. Заварзина

---

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

(Заварзин Г.А. Проблемы доантропогенной эволюции биосферы. 1993), гиперсолевые водоемы являются экстремальными местообитаниями, сохраняющими реликтовое прокариотическое биоразнообразие, поскольку они не испытали на себе влияния высших форм жизни, которые развиваются на основе сбалансированной микробной системы. Таким образом, в данных условиях могут обитать представители ранее неизвестных видов, обладающие уникальными адаптационными механизмами. Поэтому исследовательский интерес изучения подобных местообитаний очевиден.

Озеро Кучукское, расположенное на территории Кулундинской равнины в Алтайском крае, представляет собой месторождение мирабилита – кристаллогидрата  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Общая минерализация рассола (рапы) озера превышает 300 г/л с концентрацией  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  около 80 г/л и  $\text{NaCl}$  – свыше 150 г/л (Баталин Ю.В. Горная энциклопедия. 1991). Вблизи озера функционирует крупное предприятие химической отрасли ОАО «Кучуксульфат», эксплуатирующее Кучукское месторождение бассейновым методом.

В настоящем исследовании проводилось изучение разнообразия бактериальных фило типов в пробах воды (№ 418) и почвы (№ 419) вблизи оз. Селитренное, представляющего собой бассейн для кристаллизации мирабилита из рапы, закачиваемой из оз. Кучукское. Отбор проб осуществляли в августе 2015 г. Проба № 418 была взята из высыхающего wetlands. Анализ химического состава, Eh и точное измерение pH не проводили, однако лакмусовый индикатор показал значение pH ~ 9, что согласуется с данными о слабощелочном (7,5–8,5) характере рассола оз. Кучукское (Евграфова В.И. Проблемы геологии и освоения недр : труды XVIII Международного симпозиума имени академика М.А. Усова студентов и молодых ученых. 2014). Вторая полученная проба № 419 представляет собой образец почвы с наносами мирабилита. Изучение филогенетического разнообразия проводили методом денатурирующего градиентного гель-электрофореза (ДГГЭ) ПЦР-амплифицированных фрагментов генов 16S рРНК.

Исследованное разнообразие домена *Bacteria* в пробах представлено фило типами классов *Actinobacteria*, *Betaproteobacteria* и филумов *Firmicutes* и *Bacteroidetes* (рис. 1). Наибольшим разнообразием характеризовалась проба № 418, фило типы которой родственны представителям

всех вышеуказанных таксонов. При этом доминировали представители *Firmicutes*. В пробе № 418 также обнаружено 5 филогенов, относительно удаленных (88–96%) от последовательностей их ближайших культивируемых родственников, что представляет интерес. Филогенов в пробе № 419 представлены филумами *Firmicutes* и *Bacteroidetes*. Ряд филогенов не удалось идентифицировать по причине низкого качества сиквенсов.

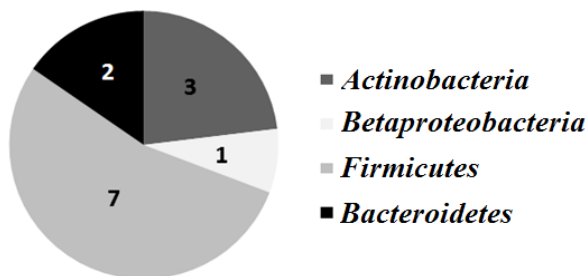


Рис. 1. Относительная филогенетическая представленность филогенов в пробе № 418

К представителям *Firmicutes*, обнаруженным в пробе № 418, относилось 7 филогенов из 13 проанализированных. При этом большинство филогенов *Firmicutes* показали родство (99–100% сходства последовательностей) с представителями *Exiguobacterium*. Многие представители этого рода галотолерантны, чем и объясняется их нахождение в описываемом местообитании (White III R.A. [et al.]. Genome Announc. 2013. Vol. 1 (4)).

Еще два филогена *Firmicutes* были близкородственны некультивируемому клону, но удалены от известных культивируемых микроорганизмов. Так, один филоген имел 88% гомологии с последовательностями *Bacillus pocheonensis* BJC15-D23 (номер доступа GeneBank JX483732), *Bacillus niacini* (HF558399) и *Bacillus ginsengisoli* штамм DCY53 (NR\_109068). Другой филоген имел 89% сходства со штаммом *Erysipelothrix rhusiopathiae* KG-BB1 (AB055909). Представители *Erysipelothrix rhusiopathiae* описаны как грамм-положительные неспорообразующие палочки, являющиеся патогенами человека и животных (Brooke C.J. [et al.]. J. Med. Microbiol. 1999. Vol. 48).

К обнаруженным представителям *Bacteroidetes* относились два филотипа, один из которых имел 96% гомологии с *Brumimicrobium mesophilum* YH207 класса *Flavobacteriia* (NR\_115845), выделенным из осадков Желтого моря и способным к росту в щелочных условиях pH (до 10) и до 7% NaCl (Yang S.H. [et al.]. Int J Syst Evol Microbiol. 2013. Vol. 63, pt. 3). Второй имел сходство с *Gracilimonas mengyeensis* YIM J14 (NR\_109748), которое составило 88%. Это умеренно галофильная бактерия, выделенная из соляной шахты (Wang Y.X. [et al.]. Int J Syst Evol Microbiol. 2013. Vol. 63, pt. 3).

Также в пробе воды обнаружены три филотипа, принадлежащих классу *Actinobacteria*. Один филотип показал 91% родства со штаммом железовосстанавливающей бактерии *Aciditerrimonas ferrireducens* IC-180 (NR\_112972), выделенным из грунта в районе серных источников-сульфатаров. Два филотипа относились к семейству почвенных бактерий *Microbacteriaceae* и имели сходство 98% со штаммами родов *Pontimonas*, *Amnibacterium*, *Leifsonia*, *Microcella* и других, выделенными из морской воды и разных типов почв.

К представителям класса *Betaproteobacteria* принадлежал единственный филотип, относящийся к порядку *Burkholderiales* семейства *Alcaligenaceae*. Среди его ближайших валидных родственников с 98% сходства находятся такие организмы, как *Bordetella bronchiseptica*, *Achromobacter insuavis*, *Kerstersia gyiorum* и *Kerstersia similis*. Представители этого семейства распространены в воде, почве, в организмах животных и человека (Garrity G.M. [et al.]. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2005. Vol. 2). Определённые виды, такие как *Bordetella bronchiseptica*, являются патогенными для человека и некоторых животных. Следует отметить, что среди *Achromobacter* существуют сероокисляющие представители (Banerjee M.R., Yesmin L. W.O. Pat. 2003057861-A2. 2003).

Другая проба, представляющая собой образец почвы, обогащенной  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , показала меньшее разнообразие филотипов, по сравнению с пробой воды. Два филотипа были родственны культивируемому штамму *Gillisia* sp.NP17 (EU196340) филума *Bacteroidetes* со сходством 99% и гетеротрофной аэробной галотолерантной бактерии, выделенной из морской воды *Gillisia mitskevichiae* (96% сходства). Еще один филотип при-

надлежал *Firmicutes* и имел 100% сходство с алкалофильной и галотолерантной бактерией *Exiguobacterium aurantiacum*.

Таким образом, наибольшим бактериальным разнообразием, изученным методом ДГГЭ-анализа, характеризовалась проба воды с территории месторождения сульфата. Большинство обнаруженных последовательностей принадлежало гало- и алкалотолерантным микроорганизмам. Некоторые исследованные филоциты могут представлять новые роды или виды, для валидного описания которых необходимо получение чистых культур. Несмотря на присутствие источника сульфата в исследуемой экосистеме, микроорганизмов цикла серы, кроме единственного филоцита, родственного *Achromobacter*, в пробах обнаружено не было. Отсутствие сульфатредуцирующих микроорганизмов в анализированных пробах, возможно, связано с тем, что процессы сульфидогенеза протекают в анаэробной зоне, а в исследовании были использованы пробы поверхностной воды и верхнего слоя почвы.

## **ОБРАЗОВАНИЕ СУЛЬФИДОВ ЖЕЛЕЗА НОВЫМИ ТЕРМОФИЛЬНЫМИ *THERMODESULFOVIBRIO* ИЗ ГЛУБИННОЙ БИОСФЕРЫ\***

**А.П. Лукина, Ю.А. Франк, О.П. Иккерт, О.В. Карначук**  
Национальный исследовательский Томский  
государственный университет, Томск, Россия

Микроорганизмы глубинной биосферы составляют значительную часть живой биомассы Земли (Kallmeyer et al., 2012; McMahon & Parnell, 2014). Однако наши знания о микроорганизмах глубоко залегающих слоев земной коры и водоносных горизонтов весьма ограничены. Во многом это объясняется сложностями получения культур аборигенных микроорганизмов (Colwell and D'Hondt, 2013). Вместе с тем разнообразные и ранее неохарактеризованные микроорганизмы глубинных экосистем могут

---

\* Исследование поддержано грантом Российского научного фонда (соглашение № 14-14-00427 от 14.07.2014 г.).