

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

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.).

обладать новыми свойствами и активно участвовать в биогеохимическом круговороте веществ (Orcutt et al., 2013).

Среди типов анаэробного дыхания восстановление соединений серы сульфатредуцирующими бактериями (СРБ) является одним из самых геохимически значимых, потому что приводит к образованию в качестве конечного продукта сероводорода ( $H_2S$ ), связывающего металлы в нерастворимые сульфиды. Железо, четвертый в списке наиболее распространенных элементов земной коры, участвует в метаболических процессах практически всех живых организмов (Enning et al., 2012). В подземных экосистемах биогенный сероводород, образуемый СРБ, является основным агентом, связывающим железо в сульфиды.

Целью исследования было выделение чистых культур термофильных СРБ из глубинных подземных экосистем Томской области и изучение образования ими нерастворимых сульфидов железа. Объектом исследований являлась подземная термальная вода из нефтепоисковых скважин, пробуренных в 1950-х гг. на глубину более 2,5 км и вскрывающих нижнемеловые отложения. Отбор проб, полевые исследования и химический анализ воды проводили в августе 2013 г. (для скважины 1-Р) и в сентябре 2015 г. (для скважины 5-Р). Некоторые физико-химические параметры воды представлены в табл. 1.

Таблица 1

**Некоторые физико-химические параметры воды скважин 1-Р (п. Белый Яр, Верхнекетский район) (Banks et al., 2014) и 5-Р (Колпашевский район)**

Параметры	1-Р	5-Р
Глубина скважины, м	2563	2797
pH	7,92–8,25	7,56–7,60
T, °C	40,2–44,8	20,4– 0,8
Eh, мВ	–279 ... –341	–314 ... –680
$H_2S$ , мг/л	$0,88 \pm 0,23$	$53,38 \pm 6,23$
Сульфат ( $SO_4^{2-}$ ), мг/л	5,15	$23,28 \pm 2,93$
Железо (Fe), мг/л	0,112	0,94
Кобальт (Co), мг/л	0,013	$0,00091 \pm 0,00016$

Параметры	1-Р	5-Р
Никель (Ni), мг/л	< 0,018	0,0140 ± 0,0020
Цинк (Zn), мг/л	0,00077	< 0,002
Мышьяк (As), мг/л	0,00049	0,0295 ± 0,0040
Молибден (Mo), мг/л	0,0033	0,00402
Кадмий (Cd), мг/л	0,013	< 0,0001

Два новых термофильных микроорганизма были выделены в чистые культуры. Штамм N1 выделен из подземной термальной воды скважины 1-Р. Штамм V2 выделен из воды глубинной скважины 5-Р. Оба штамма представлены неспорообразующими подвижными вибрионами (рис. 1). Анализ последовательностей гена 16S рРНК выделенных микроорганизмов показал их принадлежность к *Thermodesulfovibrio* (Nitrospirae) с 97–98% гомологии с ближайшими валидно описанными видами.

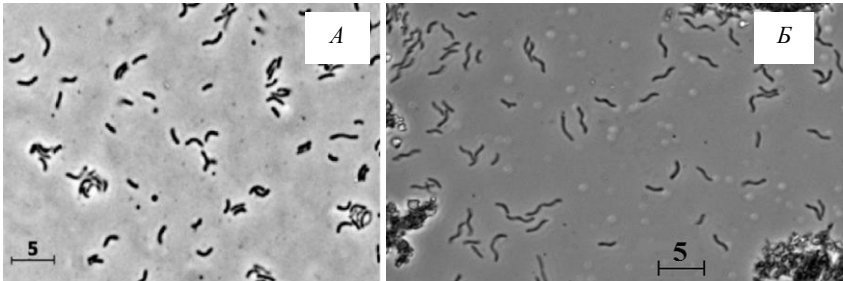


Рис. 1. Микрофотографии клеток *Thermodesulfovibrio* sp.N1 (А) и *Thermodesulfovibrio* sp.V2 (Б), фазовый контраст. Указан размер линейки в мкм

Устойчивость представителей рода *Thermodesulfovibrio* к ионам металлов и металлоидов до сих пор не исследовали. Известно только, что *T. hydrogeniphilus* может использовать 1 мМ арсенат натрия в качестве акцептора электрона в отсутствие сульфата (Naoari et al., 2008). Нами определена возможность роста обоих штаммов в присутствии ионов двухвалентного железа и роста штамма N1 в присутствии ионов никеля, кобальта, меди, кадмия и мышьяка.

Для исследования возможной геохимической деятельности *Thermodesulfovibrio* sp.N1 исследовали осадки, образованные чистой культурой на среде с добавлением раствора сульфата железа ( $\text{FeSO}_4$ ) в концентрации 100 мг/л. Образование сульфидов железа при температуре 70°C исследовали в различные временные отрезки: 16 и 26 сут. Для анализа образованных минералов был применен дифракционный анализ (XRD).

Микробная сульфатредукция в наземных экосистемах связана с выведением металлов из круговорота веществ за счет образования сульфидов с низкой растворимостью, тогда как сульфидные минералы в глубинных экосистемах могут быть образованы как в результате микробной сульфатредукции, так и за счет гидротермальных процессов. Результаты дифракционного анализа осадков, полученных в контрольных условиях при 70°C, позволили исключить образование кристаллических сульфидов железа химическим путем.

При анализе биогенных осадков, полученных в ходе первичного эксперимента с культурой *Thermodesulfovibrio* sp.N1, неадаптированной к двухвалентному железу, сульфиды железа не найдены. Единственной кристаллической фазой был мелантерит ( $\text{Fe}(\text{SO}_4)(\text{H}_2\text{O})_7$ ). Возможно, это связано с низкой продукцией  $\text{H}_2\text{S}$  в присутствии металла. Для селекции устойчивых клеток штаммов N1 и V2 начальная концентрация ионов железа в культуральной жидкости была постепенно доведена до 1000 и 300 мг/л соответственно. При пересеве адаптированных клеток на экспериментальную среду, содержащую 100 мг/л двухвалентного железа, наблюдался активный рост обоих штаммов и продукция  $\text{H}_2\text{S}$ . Осадки, полученные в эксперименте с адаптированными культурами, будут проанализированы методами электронной сканирующей микроскопии с энергодисперсионным анализом (SEM-EDS) и дифракционного анализа (XRD).

### Литература

1. Colwell F.S., D'Hondt S. Nature and extent of the deep biosphere // Rev. Mineral. Geochem. 2013. Vol. 75. P. 547–574.
2. Kallmeyer J., Pockalny R., Adhikari R.R., Smith D.C., D'Hondt S. Global distribution of microbial abundance and biomass in sub-seafloor sediment // Proc. Natl. Acad. Sci. 2012. Vol. 109. P. 16213–16216.

3. McMahon S., Parnell J. Weighing the deep continental biosphere // FEMS Microbiol Ecol. 2014. Vol. 87. P. 113–120.

4. Orcutt B.N. [et al.]. Microbial activity in the marine deep biosphere: progress and prospects // Frontiers in microbiology. 2013. Vol. 4.

5. Enning D. [et al.]. Marine sulfate-reducing bacteria cause serious corrosion of iron under electroconductive biogenic mineral crust // Environmental Microbiology. 2012. Vol. 14 (7). P. 1772–1787.

6. Haouari O. [et al.]. *Thermodesulfovibrio hydrogeniphilus* sp. nov., a new thermophilic sulphate-reducing bacterium isolated from a Tunisian hot spring // System. Appl. Microbiol. 2008. Vol. 31. P. 38–42.

## **ДОМИНИРУЮЩИЕ ФИЛОТИПЫ EUKARYOTA В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ АЛТАЯ И КУЗБАССА \***

**А.С. Сопыряева, Ю.А. Франк, А.Л. Герасимчук, О.В. Карначук**

Национальный исследовательский Томский  
государственный университет, Томск, Россия

Разнообразие представителей Bacteria и Archaea в экстремальных экосистемах хорошо изучено путем амплификации и разделения фрагментов гена 16S рРНК, пиросеквенирования и протеомики. Гораздо меньше данных об эукариотической составляющей экосистем, связанных с экстремальными факторами, такими как кислые шахтные дренажные воды или высокотемпературная глубинная биосфера. Однако результаты отдельных исследований, проведенных с помощью молекулярных методов, подтверждают присутствие разнообразных видов и метаболическую активность Eukaryota в кислых ( $\text{pH} \leq 2$ ) экосистемах, связанных с высокими концентрациями металлов (Amaral Zettler et al., 2002; Baker et al., 2004; Baker et al., 2009; Dasgupta et al., 2012). Представители Nematoda и микроскопические грибы не так давно обнаружены в глубинных подземных водах (Borgonie et al., 2011; Sohlberg et al., 2015).

---

\* Исследование поддержано грантом РФФИ № 16-04-01619 А (соглашение № 16-04-01619/16 от 19.02.2016 г.).