

## МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В РАЙОНЕ УЧАСТКА ВЕЧЕРНИЙ ОАЗИСА ХОЛМЫ ТАЛА (ВОСТОЧНАЯ АНТАРКТИДА)

В.Е. Мямин<sup>1</sup>, Л.В. Никитина<sup>1</sup>, М.И. Чернявская<sup>1</sup>, А.А. Занюк<sup>1</sup>, М.А. Титок<sup>1</sup>,  
С.К. Лозюк<sup>2</sup>, А.В. Сидоренко<sup>2</sup>, Л.Н. Валентович<sup>2</sup>, А.В. Долгих<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Институт микробиологии НАН Беларусь, Минск, Беларусь

<sup>3</sup>Институт географии РАН, Москва, Россия

*vladmiamin@mail.ru*



Мямин Владислав Евгеньевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии биологического факультета Белорусского государственного университета *vladmiamin@mail.ru*

Научные интересы в последнее время связаны с изучением микроорганизмов Антарктики.

### Введение

В последние десятилетия микробиота Антарктики стала предметом интенсивных исследований и рассматривается как источник выделения экстремофильных микроорганизмов, интересных для систематиков и экологов и в то же время перспективных для биотехнологии. В пробах антарктических почв, льда, водоемов найдены как виды – «универсалы», широко распространенные по всей территории планеты, так и представители новых таксонов – специфических обитателей этого континента. Психрофильные микроорганизмы являются продуцентами разнообразных ферментов – липаз, протеаз, эндонуклеаз рестрикции, фосфатаз, которые активны в более широком диапазоне температур и pH среды по сравнению с ферментами мезофильных микроорганизмов [1].

Участок Вечерний ( $S67^{\circ}39' E46^{\circ}10'$ ) оазиса Холмы Тала расположен в западной части Земли Эндерби. Площадь его  $6,7 \text{ км}^2$ , вытянут субширотно на  $6,8 \text{ км}$ , ширина до  $1,9 \text{ км}$ , находится в  $4 \text{ км}$  к востоку от участка Молодежный, где располагается станция «Молодежная». Основная часть территории – низкогорья горы Вечерней, сложенные докембрийскими гнейсами, эндербитами, кристаллическими сланцами, интрузивами гранитоидного состава [2].

Во время 5 Белорусской антарктической экспедиции (58 Российской антарктической экспедиции) в районе базирования белорусской полевой базы «Гора Вечерняя» в этом регионе был впервые проведен комплекс разнообразных микробиологических исследований, направленных как на решение ряда научных задач, так и проведения микробиологического мониторинга.

### Методы исследования

Для мониторинга санитарно-эпидемиологической ситуации в районе полевой базы «Гора Вечерняя» учитывали общее микробное число (ОМЧ) – общее число колоний, вырастающих в течение 24 часов при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  при посеве 1мл исследуемой воды или 1 г почвы на поверхность мясо-пептонного агара. Также определяли коли-индекс – количество клеток бактерий кишечной палочки в 1 л воды или 1 кг почвы. Этот показатель определялся при посеве бактерий на среду ЭНДО.

Выделение микроорганизмов из пресноводных водоемов проводили путем высева образцов на поверхность мясо-пептонного агара. Бактерии при выделении выращивали при температурах  $+5^{\circ}\text{C}$  и  $+20^{\circ}\text{C}$ . Чистые культуры микроорганизмов для длительного хранения подвергали криоконсервации при  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Для анализа количественных и морфометрических параметров бактериопланктона, а также эндолитных и гиполитных микробиальных сообществ применяли метод эпифлуоресцентной микроскопии на ядерных фильтрах с диаметром пор 0,2 мкм. Использовали инвертированный микроскоп «Axiovert 25» с телекамерой AxioCam MRc. Приготовленные препараты просматривали под иммерсионным объективом (100 x). Снимки делали в программе Axiovision Rel. 4.4 по 10 параллельных с каждого фильтра. Обработка полученных данных производилась в программе Image-Pro Plus.

Для выделения бактерий-деструкторов нефтепродуктов были использованы образцы антарктического грунта. Образцы грунта помещали в минеральную среду M9 с гексадеканом (0,1 %) в качестве единственного источника углерода. Из полученных накопительных культур выделяли чистые культуры. Для видовой идентификации чистых культур применяли молекулярно-генетический анализ (частичный сиквенс генов 16S рРНК, амплификации генов *rpoc*).

## Результаты и обсуждение

### Мониторинг санитарно-эпидемиологической ситуации

Во время полевого сезона 2012-2013 годов научно-экспедиционным составом 5 Белорусской антарктической экспедиции (58 Российской антарктической экспедиции) в районе полевой базы «Гора Вечерняя» были проведены исследования наличия санитарно-показательных микроорганизмов на территории и в помещениях полевой базы. Данные исследования проводились впервые и преследовали 2 цели:

1. Оценить санитарно-эпидемиологическое качество различных источников водозабора, используемых для нужд научно-экспедиционного состава.
2. Оценить влияние пребывания научно-экспедиционного состава (3 человека) на санитарно-эпидемиологическую ситуацию, складывающуюся на протяжении полевого сезона.

Исследования проводились в начале и конце полевого сезона. В качестве источников водозабора для нужд научно-экспедиционного состава рассматривались 2 временных водотока, проходящих по территории полевого лагеря. Кроме того в качестве источника водозабора использовалось озеро Нижнее. Контролю подвергались также начальные и конечные сегменты сточного ручья (место выброса бытовых отходов), русло основного сточного ручья (место выброса основных хозяйствственно-бытовых и фекальных отходов). Контролировались также микроозера и почва на территории полевой базы.

В результате проведенной работы в начале сезона (26.12.2012 г), один из временных водотоков, который использовался для водозабора, был непригоден по нормам для нужд водозабора. Превышение было зафиксировано как по общему микробному числу для питьевой воды, так и по показателям коли-индекса. Очевидно, что в данном случае имело место загрязнение водотока бытовыми и хозяйственными отходами, что действительно могло быть, поскольку временный водоток проходил по территории полевой базы. В связи с этим в начале полевого сезона 2012–2013 годов было решено заменить водозабор из временного водотока 1 на водозабор из временного водотока 2 и озера Нижнее, которые удовлетворяли микробиологическим нормам.

Следует отметить, что деятельность научно-экспедиционного состава практически не изменила санитарно-эпидемиологическую ситуацию, сложившуюся на протяжении полевого сезона, о чем свидетельствует микробиологический анализ сточных вод. Даже в конце сезона кишечной палочки не было обнаружено в почве и микроозерах на территории полевой базы. Она фиксировалась только в начале сточного ручья для выброса бытовых отходов и в первые

часы в русле основного сточного ручья (место выброса основных хозяйствственно-бытовых и фекальных отходов), но через 24 часа ситуация уже была в норме.

В то же время, проведенный микробиологический анализ воздуха помещений ЦУБа, в которых проживал научно-экспедиционный состав, не выявил наличия санитарно-показательных микроорганизмов и превышения общего микробного числа, как в начале полевого сезона, так и в его конце.

Таким образом, анализируя все вышеприведенные данные можно констатировать, что пребывание научно-экспедиционного состава в течение полевого сезона не оказывает вредного воздействия на санитарно-эпидемиологическую ситуацию, складывающуюся в районе базирования белорусской полевой базы «Гора Вечерняя».

#### ***Физиолого-биохимическая характеристика бактерий, изолированных из микроозер***

Всего для исследования было выбрано 11 пресноводных временных микроозер. В период декабря – января полевого сезона 2012–2013 годов температура в этих микроозерах достигала значительных величин (до +18°C), что создавало благоприятные условия для развития биологических объектов в этих водоемах. Для многих из этих микроозер было характерно цветение воды и довольно быстрое формирование интенсивных донных отложений.

Для этих микроозер были характерны различные значения pH и общей минерализации (TDS) (таблица 1), что делало каждое из них уникальным биоценозом с характерным только для него видовым составом обитающих организмов.

Таблица 1 – Физико-химические параметры в микроозерах и количество различных типов бактериальных колоний, образующихся при высеивании воды из микроозер

Обозначение микроозера	Физико-химические параметры		Количество различных типов бактериальных колоний
	pH	TDS (мг/л)	
T1	10,1	271	7
T2	9,8	631	7
T3	8,0	86	8
T4	9,6	19610	10
T5	10,0	458	8
T6	9,6	580	15
T7	9,9	1902	11
T8	9,5	159	6
T9	9,5	4470	5
T10	8,3	94000	2
T11	10,0	1640	13

Всего было выделено из пресноводных водоемов 92 штамма бактерий. Интересно, что некоторые из них были распространены во всех исследованных водоемах, а некоторые выделялись только из конкретных водоемов. Следует также отметить, что в процессе работы было выделено и несколько видов психрофильных микроорганизмов.

Из выделенных изолятов бактерий были отобраны 33 штамма, изолированных из различных источников и отличающихся по фенотипическим признакам (форма колоний, скорость роста). Для данных бактерий был определен температурный диапазон роста, проведён тест на каталазу, описана и сфотографирована форма образуемых колоний. Клетки всех штаммов были окрашены по Граму, микроскопированы и сфотографированы.

С целью сохранения штаммов, привезенных из Антарктиды, была отработана методика криоконсервации бактерий. Штаммы выращивались 6 дней в пробирках при +20 °C на скошенном полноценном агаре, затем клетки смывали и ресусцинировали в растворе для замораживания (1 часть LB-бульона : 1 часть 20% глицерина), помещали в пробирки типа

«эппендорф» и хранили при  $-80^{\circ}\text{C}$ . Через пять месяцев хранения все штаммы удалось успешно высевать на чашки с полноценным агаром.

На следующем этапе работы, из ряда штаммов были выделены нуклеиновые кислоты и амплифицирована 16S рДНК с помощью праймеров Bact 8F и 1492R [3]. Ампликоны клонированы в составе плазмидного вектора pJET1.2. В дальнейшем планируется клонировать 16S рДНК всех привезённых из Антарктиды бактерий и установить их нуклеотидную последовательность. Это позволит определить их систематическое положение и провести филогенетический анализ. Проводится скрининг выделенных бактериальных культур на наличие протеолитической, липолитической, ДНКазной, амилолитической активности с целью выявления перспективных производителей ферментов.

#### *Характеристика бактериопланктона пресноводных водоемов*

Всего пробы были взяты из 44 пресноводных водоемов, характеризующихся как большим, так и малым водозапасом. Некоторые из этих водоемов являлись постоянными, вскрывающимися полностью или частично в период антарктического лета (декабрь – февраль). Довольно много наблюдалось и небольших временных водоемов, фиксируемых только в этот период. Условно все исследованные водоемы были разделены на 3 группы: проточные (18), слабопроточные (4) и непроточные (22). Довольно большая часть проточных водоемов относилась к постоянным озерам с большим водозапасом, который поддерживался примерно на постоянном уровне за счет питающих эти водоемы снежников и ледников. В то же время непроточные водоемы характеризовались, как правило, небольшим водозапасом и образовывались на неровностях рельефа местности в результате таяния снега. Поскольку водозапас этих водоемов был невелик, часто мы наблюдали пересыхание таких водоемов в течение полевого сезона или полное их промерзание при понижении температуры. Сбор материала проводили в период декабрь – январь. Для исследуемых водоемов определяли некоторые физико-химические параметры, такие как pH, температура (T), общая минерализация (TDS).

Проточные и непроточные водоемы значительно отличались друг от друга по физико-химическим параметрам. Так, для воды проточных и слабопроточных водоемов были характерны значения pH в кислой или нейтральной области (6,5–7,6), а для воды большинства непроточных водоемов значения pH находились преимущественно в щелочной области (максимум 10,1). Средняя температура проточных водоемов была  $+3\text{--}4^{\circ}\text{C}$  (только в трех мелководных озерах была выше  $10^{\circ}\text{C}$ ), тогда как температура непроточных водоемов часто достигала значений в  $+12\text{--}15^{\circ}\text{C}$ . Значения общей минерализации (TDS) были низкими в проточных (6–35 ppm) и слабопроточных водоемах (20–66 ppm). В непроточных водоемах значения TDS были разнообразными, но чаще довольно высокими (86–9400 ppm).

В изучаемых пресноводных озерах были исследованы некоторые параметры бактериопланктона, такие как численность, биомасса и некоторые морфометрические параметры (таблицы 2–3).

Таблица 2 – Некоторые параметры проточных озер и бактериопланктона участка Вечерний оазиса Холмы Тала

Обозначение озера	Параметры бактериопланктона		Физико-химические параметры озер		
	численность, млн. кл / мл	биомасса, мг / л	pH	TDS, ppm	T, $^{\circ}\text{C}$
Нижнее	<0,01	0	6,5	13	+ 0,2
Верхнее 1	<0,01	0	6,7	16	+ 1,8
Верхнее 2	<0,01	0	6,8	17	+ 1,1
Верхнее 3	$0,02\pm0,02$	$0,007\pm0,008$	6,6	18	+ 4,1
Гнездовое	$0,07\pm0,02$	$0,022\pm0,013$	6,9	10	+ 1,5
Промежуточное	<0,01	0	7,0	15	+ 1,2

Продолжение таблицы 2					
Таялка 12	0,01±0,01	0,011±0,010	7,0	35	+ 2,1
Таялка 13	0,03±0,01	0,008±0,006	7,2	32	+ 3,8
Таялка 14	0,01±0,01	0,006±0,005	7,1	26	+ 3,3
Таялка 15	0,01±0,01	0,008±0,006	6,9	12	+ 4,5
Таялка 16	0,01±0,01	0,005±0,003	6,8	12	+ 5,5
Таялка 17	0,13±0,03	0,025±0,012	6,7	6	+ 6,0
Таялка 18	0,17±0,03	0,062±0,011	6,9	35	+ 3,5
Таялка 21	<0,01	0	6,6	7	+ 2,1
Таялка 22	0,01±0,01	0,004±0,006	6,6	10	+ 3,4
Таялка 23	0,03±0,01	0,008±0,003	6,6	9	+ 4,4
Таялка 24	0,13±0,03	0,029±0,014	7,1	28	+ 13,5
Таялка 25	0,05±0,01	0,012±0,006	6,7	21	+ 11,5
Таялка 31	0,28±0,03	0,066±0,030	7,6	45	+ 12,5
Таялка 33	0,09±0,02	0,041±0,021	7,4	24	+ 5,0
Таялка 38	0,32±0,04	0,074±0,026	6,7	66	+ 4,0
Таялка 39	0,68±0,09	0,312±0,047	6,6	20	+ 4,0

Таблица 3 – Некоторые параметры непроточных озер и бактериопланктона участка Вечерний оазиса Холмы Тала

Обозначение озера	Параметры бактериопланктона		Физико-химические параметры озер		
	численность, млн. кл / мл	биомасса, мг / л	pH	TDS, ppm	T, °C
Озеро 147	0,47±0,10	0,096±0,036	7,3	92	+ 7,8
Таялка 1	4,52±0,67	0,475±0,169	10,1	271	+ 13,0
Таялка 2	1,32±0,17	0,161±0,066	9,8	631	+ 14,0
Таялка 3	1,52±0,26	0,317±0,119	8,0	86	+ 16,0
Таялка 4	2,02±0,34	0,631±0,224	9,6	19610	+ 15,0
Таялка 5	3,01±0,36	0,269±0,119	10,0	458	+ 16,0
Таялка 6	0,95±0,12	0,151±0,034	9,6	580	+ 13,0
Таялка 7	2,82±0,41	0,506±0,137	9,9	1902	+ 13,0
Таялка 8	0,95±0,29	0,401±0,192	9,5	159	+ 15,0
Таялка 9	2,22±0,28	0,307±0,109	9,5	4470	+ 12,0
Таялка 10	4,46±0,40	0,939±0,280	8,3	94000	+ 12,0
Таялка 11	2,02±0,32	0,771±0,205	10,0	1640	+ 13,0
Таялка 19	0,49±0,10	0,069±0,027	7,6	432	+ 4,0
Таялка 20	0,24±0,03	0,048±0,015	7,0	107	+ 2,5
Таялка 26	0,71±0,14	0,130±0,054	9,3	195	+ 15,0
Таялка 27	1,47±0,23	0,274±0,090	9,4	410	+ 11,5
Таялка 28	0,49±0,16	0,176±0,159	8,0	1531	+ 6,0
Таялка 29	0,52±0,08	0,076±0,035	7,1	272	+ 12,5
Таялка 32	0,89±0,15	0,177±0,043	8,8	312	+ 4,0
Таялка 34	0,66±0,11	0,146±0,056	7,1	≥2000	+ 2,0
Таялка 36	0,60±0,09	0,139±0,059	6,3	151	+ 4,0
Таялка 37	0,22±0,06	0,046±0,018	6,6	156	+ 4,0

Как следует из данных, представленных в таблицах 2 и 3, общая численность бактериальных клеток в проточных водоемах была довольно низкой и находилась в пределах от 0,01±0,01 млн. кл/мл до 0,13±0,03 млн. кл/мл. А в пяти из 18 довольно крупных проточных

водоемов бактериопланктона вообще зафиксировано не было. Численность бактерий в слабопроточных водоемах была выше и находилась в диапазоне от  $0,17\pm0,03$  млн. кл/мл до  $0,68\pm0,09$  млн. кл/мл. В тоже время численные характеристики бактериопланктона непроточных водоемов колебались в широких пределах – от  $0,22\pm0,06$  млн. кл/мл до  $4,52\pm0,67$  млн. кл/мл.

Биомасса бактериопланктона проточных водоемов находилась в пределах  $0,004\pm0,006$ – $0,041\pm0,021$  мг/л. Биомасса бактериопланктона слабопроточных водоемов находилась в пределах  $0,062\pm0,011$ – $0,312\pm0,047$  мг/л, биомасса бактериопланктона непроточных водоемов находилась в пределах  $0,046\pm0,018$ – $0,939\pm0,280$  мг/л.

Среднее количество микробиальной биомассы, рассчитанное для проточных водоемов, составило  $0,011\pm0,010$  мг / л, для слабопроточных –  $0,128\pm0,076$  мг/л, для непроточных –  $0,287\pm0,095$  мг/л. Таким образом, можно сделать заключение, что биопродуктивность бактериопланктона в непроточных водоемах самая максимальная и более чем в 20 раз выше биопродуктивности бактериопланктона проточных водоемов. Слабопроточные водоемы тоже довольно продуктивны, но уступают по этому показателю непроточным водоемам в 2 раза.

Необходимо отметить, что вышесказанное правильно при расчете биомассы бактериопланктона на 1 литр воды водоема. Но необходимо учитывать и тот факт, что водозапас непроточных водоемов, как правило, довольно небольшой, так что в целом биопродуктивность такого водоема может быть низкой по сравнению с биопродуктивностью проточных водоемов, для большинства из которых характерен большой водозапас. Тем не менее, непроточные водоемы можно рассматривать как локальные сезонные центры интенсивного образования органического вещества.

#### ***Некоторые характеристики бактериальных эндолитных и гиполитных сообществ***

Большие площади скальных обнажений гранитоидов Восточной Антарктиды покрыто бурыми и красновато-бурыми пластинами, под которыми в десквамационных трещинах повсеместно встречаются эндолитные сообщества. Эти сообщества являются довольно сложными по структуре и представлены комплексом различных микроорганизмов, таких как лишайники, грибы, водоросли, архебактерии, эубактерии.

Во время полевого сезона 2012–2013 годов были отобраны два образца (А и В) микробиальных эндолитных сообществ и один образец (С) гиполитных сообществ. Исследуемые объекты расположены на прибрежном скалистом мысу высотой до 6,4 м у бухты Лазурная в восточной части участка Вечерний. Коренные массивно-кристаллические породы здесь представлены чарнокитовыми ортогнейсами (полевые шпаты, кварц, роговая обманка, биотит) с интрузиями пегматитов (полевые шпаты, кварц, биотит) шириной до 0,5–0,7 м.

Отобранные 3 образца мелкозема с микробиальными сообществами были наиболее характерны для данной прибрежной территории почвоподобных систем.

Образец А отобран из внутреннего 5–8 мм эндолитного горизонта под более мощными 6–10 мм десквамационными плитками на пегматитах кварц-полевошпатового с биотитом состава, где отдельные зерна кварца достигают размеров более 20 мм.

Образец В отобран из эндолитного органо-минерального горизонта мощностью 3–5 мм под десквамационной плиткой толщиной также 3–5 мм на чарнокитовых ортогнейсах, или эндербитах (полевые шпаты, кварц, гиперстен, диопсид, роговая обманка, биотит).

Образец С отобран из мелкоземистого субстрата, содержащего, по-видимому, переотложенные продукты выветривания окружающих эндолитных систем. Легкорастворимые соли и карбонаты в отобранных образцах обнаружены не были.

Анализ образцов позволил с большой точностью получить ряд параметров, необходимых для характеристики морфологических особенностей микроорганизмов,

проводить их количественный учет и рассчитать биомассу образцов с учетом размеров каждой бактериальной клетки (таблица 4).

Таблица 4 – Численность, биомасса и некоторые морфометрические параметры микробиальных эндолитных и гиполитных сообществ мыса у бухты Лазурная

Характеристика	X	Образец		
		A	B	C
Численность, клеток/грамм образца	X	$0,69 \times 10^9$	$0,47 \times 10^9$	$0,21 \times 10^9$
	SD	$\pm 0,16 \times 10^9$	$\pm 0,16 \times 10^9$	$\pm 0,09 \times 10^9$
Площадь клеток, $\mu\text{м}^2$	X	1,16	1,17	0,80
	SD	$\pm 0,16$	$\pm 0,20$	$\pm 0,29$
Длина клеток, $\mu\text{м}$	X	1,43	1,41	1,28
	SD	$\pm 0,11$	$\pm 0,11$	$\pm 0,29$
Ширина клеток, $\mu\text{м}$	X	1,02	1,04	0,80
	SD	$\pm 0,09$	$\pm 0,11$	$\pm 0,13$
Отношение длина/ширина	X	1,40	1,34	1,61
	SD	$\pm 0,12$	$\pm 0,07$	$\pm 0,25$
Диаметр клеток, $\mu\text{м}$	X	1,17	1,17	0,96
	SD	$\pm 0,08$	$\pm 0,10$	$\pm 0,19$
Периметр клеток, $\mu\text{м}$	X	4,33	4,30	3,75
	SD	$\pm 0,33$	$\pm 0,47$	$\pm 0,81$
Объем клеток, $\mu\text{м}^3$	X	0,76	0,77	0,45
	SD	$\pm 0,16$	$\pm 0,20$	$\pm 0,24$
Биомасса, мг/грамм образца	X	0,51	0,35	0,09
	SD	$\pm 0,14$	$\pm 0,11$	$\pm 0,05$

Примечание. X – среднее значение, SD – среднее отклонение

Анализируя данные таблицы 4, можно отметить некоторые интересные особенности. С одной стороны, по численности, морфометрическим параметрам, образуемой биомассе микроорганизмы эндолитных сообществ А и В практически не отличались друг от друга, но довольно сильно отличались от гиполитного сообщества С. Интересно, что численность, и особенно биомасса микроорганизмов эндолитных сообществ А и В была значительно выше, чем численность и биомасса гиполитного сообщества С мыса у бухты Лазурная. Так, эндолитное сообщество А превышало по биомассе гиполитное сообщество С более чем в 5 раз, то есть являлось значительно более продуктивным.

Необходимо учитывать и тот факт, что при данном способе учета микроорганизмов их численность могла быть значительно занижена, поскольку учету подвергались только те микроорганизмы, которые вымывались в виде отдельных клеток с поверхности мелкоземистых пород. Известно, что многие микроорганизмы эндолитных сообществ образуют биопленки и тесно ассоциированы с породами [4]. Но даже при таком способе учета количество микроорганизмов в эндолитных сообществах сравнимо с количеством микроорганизмов, встречаемых в разных типах почв умеренных широт. Так, в песчаных почвах количество микроорганизмов достигает  $(0,9-1,2) \times 10^9$  клеток/грамм почвы, а в черноземных почвах –  $2-5 \times 10^9$  клеток/грамм почвы [5]. Проведенные недавно исследования бактериальных комплексов почв влажных долин оазиса Ларсеман (Восточная Антарктида) позволяют сделать выводы, что в эндолитном органоминеральном горизонте численность микроорганизмов одна из самых высоких (примерно  $0,5 \times 10^9$  клеток/грамм) по сравнению с другими почвами оазиса [6]. Полученные нами данные по численности микроорганизмов в

изучаемых эндолитных сообществах (примерно  $0,47\text{--}0,69 \times 10^9$  клеток/грамм) хорошо соотносятся с этими данными и свидетельствуют об их высокой биопродуктивности.

**Выделение бактерий-деструкторов нефти из образцов антарктического грунта.** Для выделения бактерий-деструкторов были использованы образцы антарктического грунта, собранные в районе базирования белорусской полевой базы «Гора Вечерняя». Всего для работы использовали 9 образцов грунта. Из полученных накопительных культур было выделено 36 штаммов, в том числе 28 грамположительных и 8 грамотрицательных бактерий. Изолированные микроорганизмы нормально размножались при температурных режимах  $+4\text{--}42^\circ\text{C}$  (13 штаммов),  $+4\text{--}37^\circ\text{C}$  (10 штаммов),  $+4\text{--}28^\circ\text{C}$  (4 штаммов), а 6 штаммов не росли при температуре ниже  $+10^\circ\text{C}$ .

На основании анализа молекулярно-генетических маркеров (частичного сиквенса генов 16S рРНК, амплификации генов *rpoC*) были идентифицированы четыре штамма (таблица 5).

Таблица 5 – Идентификация бактерий-деструкторов нефти

Штамм	Ген	Способ идентификации	Размер анализируемого фрагмента, п.н.	Гомология с известными, в %
A2-6	16S рРНК	Сиквенс-анализ	841	<i>Deinococcus caeni</i> (выделен из активного ила), 81%. <i>Deinococcus</i> sp. (выделен с поверхности снега и льда Антарктиды), 81%
A2-h2	<i>rpoC</i>	ПЦР-анализ	1236	Присутствие специфического продукта ПЦР, характерного для бактерий рода <i>Rhodococcus</i>
A29-k1	<i>rpoC</i>	ПЦР-анализ	1236	Присутствие специфического продукта ПЦР, характерного для бактерий рода <i>Rhodococcus</i>
A31-2d	16S рРНК	Сиквенс-анализ	814	<i>Rhodococcus pyridinivorans</i> PDB9 (бактерии, утилизирующие пиридин), 97% <i>Rhodococcus pyridinivorans</i> R04 (бактерии, деградирующие бифенил), 97%

Установлено, что изолированные бактерии-деструкторы нефти A2-6 относятся к роду *Deinococcus*. Остальные исследованные штаммы деструкторы (A2-h2, A29-k1, A31-2d) принадлежат к бактериям рода *Rhodococcus*. Следует отметить, что обнаружение среди деструкторов нефти бактерий рода *Rhodococcus* является весьма закономерным, поскольку микроорганизмы этой таксономической группы широко распространены в природе и способны утилизировать широкий спектр органических субстратов, в том числе нефть [7, 8]. В тоже время, деградативные свойства бактерий рода *Deinococcus* (штамм A2-6) представляются весьма интересными, поскольку характерной особенностью представителей этой систематической группы является способность выдерживать высокие дозы радиации (например, *Deinococcus radiodurans* является самым радиорезистентным организмом в мире [9]).

### Выводы

Микробиологические исследования в районе участка Вечерний оазиса Холмы Тала являются довольно перспективными, особенно в свете того, что ранее никаких исследований подобного рода в это регионе не проводилось. В этой работе рассмотрены скорее направления исследований, толчок которым дала 5 Белорусская антарктическая экспедиция.

Проведены комплексные исследования, направленные на изучение санитарно-эпидемиологической ситуации, складывающейся в районе полевой базы «Гора Вечерняя» в результате сезонной работы научно-экспедиционного отряда. Установлено, что деятельность экспедиционного отряда практически не влияет на санитарно-эпидемиологическую ситуацию в районе полевой базы «Гора Вечерняя».

Также проведено выделение чистых культур и дана первичная физиологобиохимическая характеристика бактериям, выделенным из микроозер. Были отобраны 33 штамма, изолированных из различных источников и отличающихся по фенотипическим признакам (форма колоний, скорость роста). Для данных бактерий был определён температурный диапазон роста, проведён тест на каталазу, описана и сфотографирована форма образуемых колоний. Клетки всех штаммов были окрашены по Граму, микроскопированы и сфотографированы.

Получены некоторые количественные и качественные характеристики бактериопланктона из пресноводных водоемов. Установлено, что сами пресноводные озера довольно сильно различаются по физико-химическим свойствам (общая соленость, pH). Максимальным развитием биомассы бактериопланктона характеризовались небольшие непроточные водоемы, тогда как в проточных водоемах с большим водозапасом развитие бактериопланктона было значительно менее выражено.

Были исследованы 2 образца эндолитных микроорганизмов и 1 образец гиполитных микроорганизмов. Установлено, что эндолитное сообщество характеризовалось большим развитием биомассы по сравнению с гиполитным.

Проведено выделение бактерий-деструкторов нефти из образцов антарктического грунта, осуществлено выделение чистых культур. Осуществлена идентификация 4 из 36 штаммов. Установлено, что выделенные штаммы принадлежат к родам *Deinococcus* и *Rhodococcus*.

### **Список литературы**

1. Van den Burg, J. Extremophiles as a source for novel enzymes / J. Van den Burg // Curr. Opin. Microbiol. – 2003. – V. 6. – P. 213–218.
2. Александров, М. В. Ландшафтная структура и картирование оазисов Земли Эндерби / М.В. Александров. – Л.: Гидрометеоиздат, 1985. – 152 с.
3. Lane, D. J. 16S/23S rRNA sequencing / D. J. Lane [et al.] // Nucleic Acids Techniques in Bacterial Systematics. – 1991. – P. 115–147.
4. Rios, A. Ultrastructural and genetic characteristics of endolithic cyanobacterial biofilms colonizing Antarctic granite rocks / A. Rios [et al.] // FEMS Microbiol. Ecol. – 2007. – V. 59. – P. 386–395.
5. Громов, Б. В. Экология бактерий / Б. В. Громов, Г. В. Павленко. – Л.: Изд. ЛГУ, 1989. – 248 с.
6. Соина, В. С. Бактериальные комплексы в почвах влажных долин оазиса Ларсеманн (Восточная Антарктида) / В. С. Соина, А. Г. Газимуллина, Н. С. Мергелов, Н. В. Лысак, Е. В. Лапыгина // Альманах современной науки и образования. – 2012. – Т. 64, № 9 – С. 195–200.
7. Microbiology Monographs: Biology of *Rhodococcus*. V. 16. / Ed. H.M. Alvarez // Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010. – 365 p.
8. Larkin, M.J. Biodegradation and *Rhodococcus* – masters of catabolic versatility / M.J. Larkin, L.A. Kulakov, Ch.C.R. Allen // Current Opinion in Biotechnology. – 2005. – N 16. – P. 282–290.
9. Makarova, K.S. Genome of the extremely radiation-resistant bacterium *Deinococcus radiodurans* viewed from the perspective of comparative genomics / K.S. Makarova, L. Aravind, Y.I. Wolf, R.L. Tatusov, K.W. Minton, E.V. Koonin, M.J. Daly // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 2001. – Vol. 65, N 1. – P. 44–79.

**MICROBIOLOGY INVESTIGATIONS IN THE VECHERNYY REGION,  
TALA HILLS (EAST ANTARCTICA)**

**V.E. Miamin<sup>1</sup>, L.V. Nikitina<sup>1</sup>, M.I. Charniauskaya<sup>1</sup>, A.A. Zaniuk<sup>1</sup>, M.A. Titok<sup>1</sup>, S.K. Laziuk<sup>2</sup>,  
A.V. Sidarenka<sup>2</sup>, L.N. Valentovich<sup>2</sup>, A.V. Dolgikh<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Belarus State University, Minsk

<sup>2</sup> Institute of Microbiology, NASB, Minsk

<sup>3</sup> Institute of Geography RAS, Moscow

In this study, a sanitary-epidemiological quality of different water intake sources in the area of «Mount Vechernyaya» Antarctic field camp (Eastern Antarctica, Tala Hills, Enerby Land, Vecherny district) used for the needs of scientific expedition group of the 5<sup>th</sup> Belarus Antarctic Expedition (58 Russian Antarctic Expedition, field season 2012–2013) was assessed. These sources included waste-water, soil and micro-lakes that are located in the territory of the field camp. It was determined that the scientific expedition group's stay during the field season doesn't have any negative impact on the sanitary-epidemiological situation in the area of "Mount Vechernyaa" field camp.

33 bacterial strains were isolated from temporary limnetic micro-lakes with different pH values and total dissolved substances (TDS). Being isolated from different micro-lakes, these strains differ in their phenotypic features such as colony morphology and growth rate. Growth temperature range, cell morphology, type of cell wall (gram-positive or gram-negative) and catalase activity of each strain was determined. The methodology for long-time cryopreservation of Antarctic bacterial strains was optimized. Further studies are necessary for molecular genetic identification of isolated bacteria and their enzymatic activity determination.

Some parameters and bioefficiency of bioplankton samples taken from 44 freshwater bodies in the Vecherny Region. The studied water bodies were conventionally divided into 3 groups: flow (18), weakly running (4) and non-flow (22) water bodies. These ponds differed significantly in physical and chemical parameters. Thus, flow and weakly running water bodies were characterized by neutral and acidic pH, but most of non-flowing ponds had alkaline pH (some of them had pH above 10,0). Flow water bodies' average temperature was +3–4°C, while non-flow water bodies' average temperature often reached +12–15°C. Total dissolved solids (TDS) values were low in flow ponds (not exceeding 35 ppm) and high in non-flow ponds (max. 94000). The number of bacterial cells in flow water bodies was rather low with no bacterial cells detected in 5 ponds. The maximum of bacterial cells' number was 0,13±0,03 million cfu/ml, 0,68±0,09 million cfu/ml, 4,52±0,67 million cfu/ml for flow, weakly running and non-flow water bodies, respectively. Average amount of microbial biomass calculated for flow ponds was 0,011±0,010 mg/l; it was higher in weakly running ponds (0,128±0,076 mg/ml), and the highest amount of average biomass was calculated for non-flow water bodies (0,287±0,095 mg/ml).

Two samples (A and B) of microbial endolytic communities and one sample (C) of microbial hypolytic community were taken from the coastal headland of the Azure Bay. The article provides geological description of the samples and the region from which they were taken. In every sample, abundance, biomass and some morphometric parameters of the microbial endolytic and hypolytic communities were studied. It was determined that endolytic communities were characterized by a greater number of cells and productivity in comparison with hypolytic communities. The data obtained in this study is correlated with earlier studies on endolytic communities of wet valleys of Larseman Hills, East Antarctica.

Thirty six bacterial strains were isolated from nine ground samples from Antarctica. Five strains (A2-6, A2-h2, A29-k1, A31-2-d, A34-3) were able to degrade crude oil; three of them (A2-h2, A29-k1, A31-2-d) used toluene and one used naphthalene (A31-2-d) as a sole carbon source. The strains A2-6, and A2-h2, A29-k1, A31-2-d were identified as *Deinococcus* and *Rhodococcus* respectively.