

## ТЕРМОФИЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ В КУЛЬДУРСКИХ ГОРЯЧИХ ИСТОЧНИКАХ

*Фишер Н. К. \*, Компаниченко В. Н. \*\**

*\* Институт водных и экологических проблем ДВО РАН, г. Хабаровск*

*\*\* Институт комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН, г. Биробиджан*

Кульдурское термальное поле располагается в северо-западной части Еврейской автономной области. Вскрытые несколькими скважинами горячие воды (температура до 72 градусов) имеют щелочной состав и относятся к азотно-кремнистому типу. Благодаря их хорошим бальнеологическим свойствам они используются для лечения населения в санаториях Кульдур, Военный, Санус и Горняк, расположенных в этом районе. Несмотря на многолетние режимные наблюдения за температурой и химическим составом термальных вод, изучение населяющих их термофильных бактерий ранее не проводилось. Приводимые в этой работе данные являются первой информацией о микроорганизмах горячих вод Кульдурских источников. В качестве объектов исследования использовали микробные комплексы Кульдурских термальных источников: скважина 1-87 (72 °С, проточная), скважина 2-87 (72 °С, проточная), скважина 3-87 (54-58 °С, непроточная), скважина 3-51 (54-58 °С, непроточная).

Методом иницированных сообществ проведены исследования по выявлению активности термофильных микробсообществ по отношению к органическим веществам различного генезиса, конечные концентрации которых были равны: глюкозы 0,2 %, пептона 0,2 %, триптона 0,1 % с дрожжевым экстрактом 0,1 %, триптона 0,2 % с дрожжевым экстрактом 0,2 %, азотнокислого аммония 0,1 %, фенола 0,1 %, нафталина 0,1%, фенантрена 0,1 %, бензола 0,1 %, гексана 0,1 %, дизтоплива 0,1 %. Эксперименты с пептоном, триптоном и дрожжевым экстрактом проводили в двух вариантах: с добавлением субстратов в природную воду, и с добавлением 1 мл природной воды и субстратов в 10 мл минерального фона М9. Активность микробных комплексов (МК) оценивали по изменению оптической плотности через 7 дней. Культивирование проводилось в термостате при 65 °С. Для проб воды из скважин 1-87 и 3-51 дополнительно проводилось культивирование при 22-25 °С.

Проведен бактериологический посев микроорганизмов на среды РПА:10 (рыбо-пептонный агар, разбавленный в 10 раз), РПА (рыбо-пептонный агар), КАА (крахмал-аммиачный агар) и Мф+Ф (минеральный фон с 0,1 % фенола) с добавлением 2 % и 4% агара для определения общей численности бактерий, численности аммонифицирующих, нитрифицирующих и фенолрезистентных бактерий соответственно. Также был проведён бактериологический посев исходной воды на четыре среды, в состав которых входили: 1) триптон 0,1 %, дрожжевой экстракт 0,1 %, минеральный фон М9, агар 4 %; 2) сухой питательный агар, разбавленный в 3 раза, агар 4 %; 3) рыбопептонный агар, разбавленный в

5 раз, пептон 0,1 %, NaCl 0,05 %, дрожжевой экстракт 0,1 %, агар 4 %; 4) азотнокислый аммоний 0,1 %, дрожжевой экстракт 0,1 %, М9, агар 4 %. Культивирование проводилось в термостате при 65 °С.

По отношению к фенолу, нафталину, фенантрону, гексану, бензолу, дизельному топливу и азотнокислому аммонийно активности МК не отмечено, что говорит об отсутствии данных веществ в пробах воды. По отношению к глюкозе отмечена лишь слабая активность микробоценозов из скважины № 3-51 после недели культивирования при комнатной температуре. Возможно, это связано с небольшим присутствием мезофильных (предпочитающих средние температуры) форм, утилизирующих углеводы, которые попали в источник из внешней среды. Отмечено, что МК активно развиваются на азотсодержащих органических веществах, таких как пептон и триптон, но не развиваются на азотнокислом аммонии. Наиболее активно утилизируют 0,2 % пептон МК из источника 3-87. Интенсивность утилизации триптона и дрожжевого экстракта при 0,1 % концентрации примерно одинакова во всех источниках, при 0,2 % в скважинах 1-87, 2-82 и 3-87 рост биомассы одинаковый и интенсивнее в 1,5 раз, но из скважины 3-51 рост намного меньше. Возможно в данной скважине содержится наименьшее количество азотсодержащих органических веществ из всех скважин.

При комнатной температуре развитие микробоценозов из скважин 1-87 и 3-51 на пептоне в первые недели культивирования происходит значительно слабее и без образования цветных продуктов. Микробные комплексы из скважины 1-87 при 22-25 °С более интенсивно набирают биомассу, чем из 3-51. Таким образом, можно сделать вывод о том, что в скважине № 3-51 присутствуют в основном облигатно-термофильные формы (строгие термофилы), а в скважине 1-87 содержатся факультативные экстремальные термофилы (не строгие термофилы), которые образуют оранжевые пигменты при комнатной температуре, но только через месяц культивирования, что связано с длительной адаптацией к оптимальным температурам.

Отмечено, что микробоценозы при развитии на пептоне, триптоне и дрожжевом экстракте образуют жёлтые пигменты. Известно, что культуры рода *Thermus aquaticus* имеют желтую или оранжевую окраску, что указывает на наличие в их клетках каротиноидных пигментов [1]. В скважинах с проточной водой микробные комплексы более интенсивно образуют желтые пигменты.

МК из скважин 1-87, 2-87 и 3-87 более активно развиваются при внесении инокулята в природную воду, а МК из скважины 3-51 более активно развиваются на М9 с добавлением 1 мл природной воды. Это может быть связано с тем, что в данной скважине кроме

азотсодержащих органических веществ содержатся минеральные вещества. Возможно, состав воды в скважине 3-51 отличается более высоким содержанием минеральных веществ.

Из рис. 1 видно что микробоценозы из скважин с проточной водой 1-87 и 2-87 не развиваются на М9, а из скважин с непроточной водой на минеральном фоне происходит интенсивное развитие микробоценозов. МК из скважины 3-87 развиваются на М9 менее интенсивно, чем на природной воде, а из скважины 3-51 более интенсивно. Факт развития МК из непроточных скважин на М9 и отсутствие роста из проточных скважин говорит о том, что в непроточных скважинах формируются специфические микробные комплексы при застаивании воды, способные активно развиваться в присутствии дополнительных минеральных веществ.

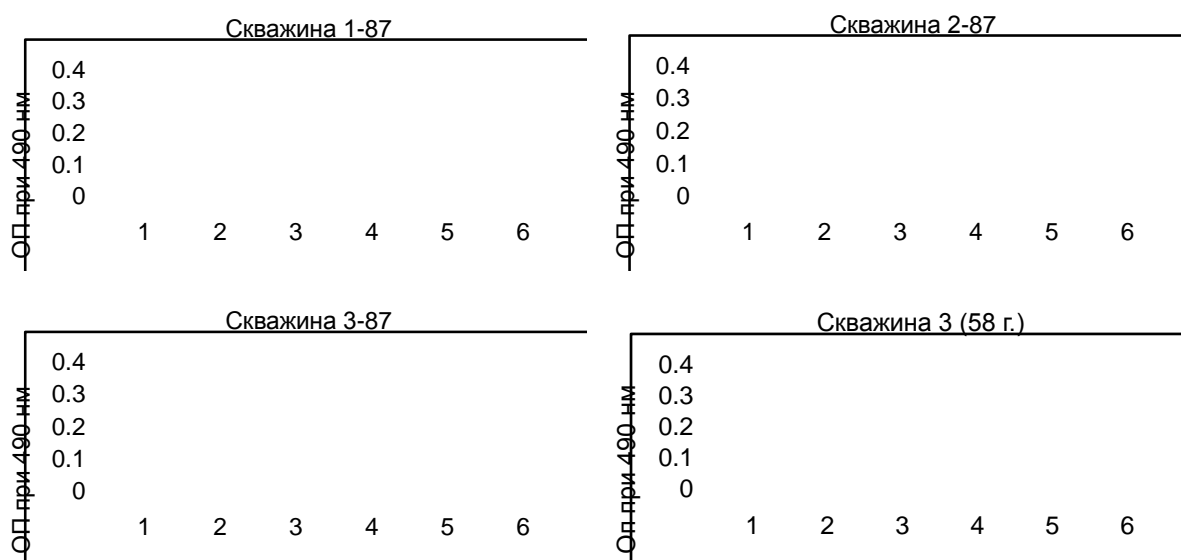


Рис.1. Активность термофильных микробоценозов Кульдурских горячих источников (ОП – оптическая плотность; 1 – природная вода (ПВ) с 0,2 % пептона, 2 – М9 с 1 мл ПВ и с 0,2 % пептона, 3 - ПВ с 0,1 % триптона и 0,1 % дрожжевого экстракта, 4 – М9 с 1 мл ПВ и 0,1 % триптона и 0,1 % дрожжевого экстракта, 5 – ПВ 0,2 % триптона и 0,2 % дрожжевого экстракта, 6 – М9 с 1 мл ПВ и 0,2 % триптона и 0,2 % дрожжевого экстракта).

Способность МК из непроточной скважины 3-51 при комнатной температуре утилизировать глюкозу (показатель наличия углеводов в воде), а также высокая активность на минеральном фоне возможно говорит о том, что в данную скважину могут попадать загрязнители извне. Несмотря на высокую активность на минеральном фоне и способность утилизировать глюкозу при температуре 22-25 °С, микробоценозы из скважины 3-51 неспособны развиваться при высоких концентрациях азотсодержащих органических веществ.

Таким образом, можно сделать вывод, что в проточных скважинах сохраняется природный фон воды, а в непроточных при застаивании воды и попадании небольшого

количества загрязнителей извне происходит образование микробного сообщества, неспецифичного для данных источников.

В результате посева 0,1 мл природной воды на твердые среды было отмечено, что микробоценозы не образуют колоний, что может быть связано либо с их очень низкой численностью, либо со спецификой микробных комплексов из данных гидротерм, неспособных развиваться на твердых питательных средах.

После недели культивирования на жидких средах в термостате при 65 °С был проведен посев микроорганизмов на твердые среды, содержащие рыбо-пептонный агар и рыбо-пептонный агар, разбавленный в 10 раз. Уже через сутки культивирования при 65 °С появился активный рост колоний. Отмечено, что происходит развитие только одного морфотипа микроорганизма, который на среде РПА:10 образует колонии размером 1-3 мм молочного цвета с полупрозрачными краями, а на среде РПА светло-палевые колонии с полупрозрачными краями. Только из непроточной скважины 3-51 на РПА развиваются три морфотипа микроорганизмов. Таким образом, можно сделать вывод о том, что в Кульдурских гидротермах присутствует только 1 морфотип, способный развиваться на твердых питательных средах. Выявлено, что после культивирования на природной воде с 0,2 % пептона микроорганизмы не образуют колоний, несмотря на активный рост биомассы на жидких средах.

Отмечено, что в первые дни культивирования активность микробоценозов проявляется в виде роста биомассы, а через 5-10 дней появляется жёлтый пигмент в осадке и в толще культуральной жидкости. На 7-10 сутки рост биомассы останавливается, но выделение пигментов становится интенсивнее

Таким образом, результаты наших исследований микробных сообществ гидротерм Кульдура указывают на возможное присутствие в этих экосистемах микроорганизмов рода *Thermus aquaticus*, которые утилизируют азотсодержащие органические вещества в достаточно высоких концентрациях, несмотря на очень низкую численность. Высокая активность микробоценозов по отношению к пептону и триптонну и отсутствие активности к другим органическим веществам при 65 °С говорит о том, что в данных термальных водах могут содержаться либо только аминокислоты, либо азотсодержащие органические вещества.

#### Список литературы

1. Логинова Л. Г., Егорова Л. А. Новые формы термофильных бактерий. М.: Наука, 1977. - 175 с.