



Биол. журн. Армении, 3 (60), 2008

ТЕРМОФИЛЬНЫЕ БАЦИЛЛЫ ТЕРМАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ АРМЕНИИ

Օ.Ա. ԲԱՆՕՅԱՆ

*Երևանский государственный университет, биологический факультет,
кафедра микробиологии, биотехнологии микроорганизмов и растений,
E-mail:physiol@ysu.am*

Изучены распространение и видовой состав термофильных бацилл теплых и горячих минеральных источников Армении. Установлено, что таксономическая структура термофильных бацилл в термальных источниках разнообразна. Во всех изученных термальных источниках обнаружены представители вида *Bac. licheniformis*.

Термальные источники – термофил - Bacillus

Ուսումնասիրվել է Հայաստանի տաք և ջերմային հանքային աղբյուրների թերմոֆիլ բացիլների տարածվածությունը և տեսակային կազմը: Պարզվել է, որ թերմոֆիլ բացիլների տաքսոնոմիական կառուցվածքը տաք հանքային աղբյուրներում տարատեսակ է: Ուսումնասիրված բոլոր տաք հանքային աղբյուրներում *Bac. licheniformis* տեսակի ներկայացուցիչների հայտնաբերումը օրինաչափ է:

Հանքային աղբյուրներ - թերմոֆիլ - Bacillus

The distribution and taxonomic diversity of thermophilic bacilli of warm and hot mineral springs on the territory of Armenia have been studied. The variety of taxonomic structure of thermophilic bacilli in thermal springs was shown. In all studied thermal mineral springs representatives of *Bac. licheniformis* were detected.

Thermal springs – thermophil- Bacillus

Исследование экстремофильных, в том числе термофильных, микроорганизмов является одной из важных задач современной экологической микробиологии [10, 15, 16,]. Одним из естественных природных местобитаний термофилов являются наземные термальные источники вулканического происхождения, которые создают уникальные по своим характеристикам ниши для формирования специфических биоценозов термофильных эу- и архебактерий различных физиологических групп [9, 10, 15].

Сообщества термофильных микроорганизмов, развивающиеся в районах современной вулканической активности, рассматриваются как аналоги древнейших биоценозов Земли. Они являются также природными банками уникальных микроорганизмов и, соответственно генов, кодирующих термостабильные белки с широкими возможностями практического применения [11, 12].

Термальные минеральные воды в ряду природных богатств Армении занимают одно из главенствующих мест. В настоящее время довольно детально исследованы генезис и химический состав минеральных источников страны [2]. В научной литературе имеются сведения о первичных продуцентах (фото- и хемосинтезирующие прокариоты) в некоторых теплых и горячих источниках Армении, синтезирующих автохтонное органическое вещество этих экосистем [1, 6]. Однако распространенность и экологические особенности вторичных термофильных микроорганизмов, в том числе бацилл, которые в таких экосистемах выступают в роли консументов (основные деструкторы), остаются слабоизученными.

Изучение и исследование распространения и биоразнообразия термофильных бацилл теплых и горячих минеральных источников Армении представляет научный и практический интерес.

Материал и методика. Для выделения термофильных бактерий служили образцы ила и воды, отобранные из 9 горячих источников, расположенных на территории Армении. При взятии образцов в полевых условиях определяли температуру, pH и минерализацию с помощью pH-метра WTW-320 и кондуктометра WTW-LF-95. Аэробные хемоорганотрофные неспороносные и спороносные бактерии выделяли при непосредственном высеве почвенных проб воды и ила или их десятикратных разведений на мясопептонный агар (МПА). Термофильные микроорганизмы выделяли путем получения накопительных культур, инкубируя аликвоты образцов в жидких питательных средах при температуре 60⁰, с последующим выделением из культуральной жидкости чистых культур уже на плотных средах (пептонно-дрожжевой агар) [5]. Для выделения бациллярных форм воду и водные смеси ила пастеризовали в течение 10 мин при 80⁰ в водяной бане [7, 8]. Высеянные термофильные бактерии инкубировали при 56⁰.

Определение численности жизнеспособных культивируемых форм аэробных хемоорганотрофных бактерий проводили методом Коха [7]. Результаты количественного определения микроорганизмов выражали в условных колониобразующих единицах (КОЕ).

Изучение морфокультуральных и физиолого-биохимических особенностей для диагностики культур осуществляли методами, описанными в [8, 14]. Штаммы идентифицировали до вида с помощью диагностических ключей определителя Берге [4, 13] и с учетом характеристик термофильных бацилл в первоисточниках [5].

Результаты и обсуждение. На территории Армении зарегистрированы до 700 минеральных источников и скважин, фонтанирующих минеральной водой. Температура их колеблется в широких пределах: от 4⁰ (Гридзор) до 64⁰ (Джермук). Сложные геолого-структурные условия Армении, в которых сохраняются следы проявления недавних мощных вулканических процессов, привели к чрезвычайному обилию гидрокарбонатных и углекислых термальных минеральных вод с многообразными условиями циркуляции. Ограниченно представлены углекисло-сероводородные воды

и воды с большим содержанием азота. Отдельные минеральные воды (Арзни, Сисиан, Арарат, Татев и др.) имеют температуру в пределах 20-37⁰ и только Анкаванские и Арзаканские воды (42⁰-44⁰) и Джермукские (64⁰) относятся по-настоящему к термальным [2].

Нами исследованы образцы ила и воды, отобранные из 9 горячих источников, расположенных на территории Армении (Арзни, Сисиан, Арарат, Бжни, Татев, Анкаван, Арзакан, Ширак и Джермук). Классификация и физико-химические параметры исследованных нами основных типов теплых и горячих минеральных источников представлены в табл. 1.

Таблица 1. Классификация и физико-химические параметры основных теплых и горячих минеральных вод Армении

Источ- ник	Класс минерального источника по Н.И. Делуханову [2]	Компоненты, составляющие >20% состава анионов и >20% состава катионов		Общая минера- лизация, г/л	pH	T, °C
Арзни Анкаван	Хлоридно- гидрокарбонатные натриево- кальциевые	Cl- HCO ₃	Na-Ca	10-30 5-10	7,0-7,2	37-42 42-44
Арзакан	Гидрокарбонатно- натриевые	HCO ₃	Na	5-10	6,2-6,8	>42
Бжни	Гидрокарбонатно- хлоридные натриево- кальциево- магниевые	HCO ₃ - Cl	Na-Ca-Mg	5-10	6,2-7,0	30-37
Сисиан	Гидрокарбонатные натриево- магниевые- кальциевые	HCO ₃	Na-Mg-Ca	1-3	7,0-7,2	37-40
Татев, Арарат	Гидрокарбонатные кальциевые	HCO ₃	Ca	1-3	6,6-6,8	20-37 37-40
Джермук	Гидрокарбонатно- сульфатные- натриевые	HCO ₃ - SO ₄	Na	5-10	6,4-7,0	64
Ширак	Гидрокарбонатно- сульфатные натриево- магниевые	HCO ₃ - SO ₄	Na-Mg	4-5,9	7,0-7,2	20-37

В качестве экологической оценки мы использовали частоту встречаемости рода или вида, доминирование того или иного вида и видовое разнообразие вторичных термофильных бактерий.

Бактериальное население исследованных теплых и горячих источников характеризуется четко выраженной пространственной и таксономической структурой. Относительное постоянство температуры воды в каждой точке источника является важным экологическим фактором. По мере удаления от места выхода источника вода остужается, и создается определенный градиент температуры, в пределах которого развиваются раз-

личные микроорганизмы. Низкая растворимость кислорода при высоких температурах и преобладание восстановительных условий обуславливают весьма невысокие числа экологических ниш, пригодных для развития аэробных микроорганизмов. В наземных источниках это так называемая "дневная поверхность гидротерм", т.е. область контакта гидротермального раствора с воздухом. Наилучшие условия для роста аэробных термофильных прокариот создаются в мелких горячих ручьях, где в протоке воды при свободном доступе к атмосферному кислороду можно наблюдать развитие микробных обрастаний. Результаты изучения распространенности культивируемых термофильных аэробных гетеротрофных бактерий в этих образцах представлены в табл. 2.

Таблица 2. Распространение культивируемых аэробных термофильных гетеротрофных бактерий рода *Bacillus* в термальных источниках Армении (КОЕ/мл).

Источник	Общее число микроорганизмов	Бациллы	Доминирующие виды
Арзни	$2,32 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$	<i>B. licheniformis</i> , <i>B. mesentericus</i>
Анкаван	$5,58 \times 10^3$	$4,3 \times 10^3$	<i>B. licheniformis</i> , <i>B. subtilis</i>
Арзакан	$8,2 \times 10^3$	$6,1 \times 10^3$	<i>B. licheniformis</i> , <i>B. mesentericus</i>
Бжни	$6,3 \times 10^2$	$5,0 \times 10^2$	<i>B. mesentericus</i> , <i>B. licheniformis</i>
Сисиан	$3,34 \times 10^3$	$2,6 \times 10^2$	<i>B. stearothermophilus</i> <i>B. licheniformis</i> , <i>B. subtilis</i>
Татев	$5,23 \times 10^3$	$4,1 \times 10^3$	<i>B. licheniformis</i> , <i>B. stearothermophilus</i>
Арагат	$7,8 \times 10^3$	$6,3 \times 10^3$	<i>B. licheniformis</i> , <i>B. megaterium</i>
Ширак	$2,3 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$	<i>B. licheniformis</i> , <i>B. subtilis</i>
Джермук	$6,25 \times 10^3$	$5,3 \times 10^3$	<i>B. stearothermophilus</i> , <i>B. licheniformis</i>

Субстратами для развития хемоорганотрофных микроорганизмов в таких условиях служат соединения, содержащиеся в поступающей из глубин источника, а также органические вещества экзогенного происхождения. Автохтонное органическое вещество способно синтезировать первичные продуценты - фотосинтезирующие и хемосинтезирующие прокариоты. Как видно из табл., таксономическая структура аэробных термофильных хемоорганотрофных бактерий в термальных источниках Армении в основном представлена спороносными бактериями рода *Bacillus* (70-80%). Имея широкий метаболический потенциал, эта группа микроорганизмов осуществляет основные деструкционные процессы в термальных источниках и является главным компонентом сапротрофного бактериального комплекса. Термофильные бациллы представлены в основном

видами *B. stearothermophilus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. mesentericus* и *B. megaterium*. Наряду с термотолерантными и факультативными термофилами, выявлено наличие облигатных форм бацилл (*B. stearothermophilus*), температурный оптимум которых колеблется в пределах 60-70⁰. По количественному соотношению и видовому составу микрофлора исследованных источников различна, что определяется рядом экологических и географических факторов. Так, химический состав вод термальных источников варьирует в зависимости от типа скальной породы, поэтому состав микробных сообществ в вытекающих из них ручьях может быть различным.

Одним из последствий стрессового воздействия высокой температуры и концентрации солей на микроорганизмы является ингибирование дыхания даже при доступности молекулярного кислорода и переход на менее зависимые от молекулярного кислорода способы снабжения метаболических процессов энергией [3]. Такой вывод подтверждается, к примеру, тем фактом, что во всех изученных термальных источниках Армении обнаружены представители вида *B. licheniformis*. Учитывая большой спектр потребляемых ими субстратов, обладание широкими метаболическими возможностями (факультативные аэробы), способность расти в широком интервале температур (35-70⁰) и соленость (до 100г/л), их обнаружение представляется вполне закономерным.

Таким образом, таксономическая структура термофильных бацилл термальных источников Армении разнообразна. Наряду с другими микроорганизмами, бациллы играют значительную роль в формировании биоценоза и состава минеральных вод, способствуют нормальному функционированию геохимических циклов в термальных источниках в условиях высокой температуры.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Варданян Н.С.* Автореферат дисс. на соис. докт. биол. наук. Ереван, 2007.
 2. Геология Армянской ССР, IX. Минеральные воды. Ереван, Изд. АН Арм. ССР, 521, 1969.
 3. Жизнь микробов в экстремальных условиях. Под ред. *Д. Кашиера*. М.: Мир, 519, 1981.
 4. Краткий определитель бактерий Берге. Под ред. *Дж.М. Хоулота*. М.: Мир, 495, 1980.
 5. *Логонова Л.Г., Головачева Р.С., Егорова Л.А.* Жизнь микроорганизмов при высоких температурах. М.: Наука, 240, 1966.
 6. *Паронян А.Х.* Биолог. журн. Армении, 54, 1-2, 91-98, 2002.
 7. Практикум по микробиологии. Под ред. *Нетрусова А.И.* М.: Изд-во АН РФ, 603, 2005.
 8. *Смайберт Р., Криг Н.* Общая характеристика. В кн. "Методы общей бактериологии". Под ред. Ф. Герхардта и др. 3. М.: Мир, 8-97, 1984.
 9. Современная микробиология. Прокариоты. Под редакцией *Й. Ленгелер, Г. Древис и Г. Шлегеля*. Москва. 2, Мир, 493, 2005.
- О.А. ПАНОСЯН
10. Экология микроорганизмов. Под ред. *А.И. Нетрусова*, М.: Издательский центр "Академия", 272. 2004.

-
11. Access to Biodiversity and New Genes from Thermophiles by Special Enrichment Methods. PhD thesis *Cedric F.V. Hobel*, University of Iceland, Reykjavik, 2004.
 12. *Atlas R.M., Bartha R.* Microbial ecology, fundamentals and applications, 3-rd edn. Mento Park, Calif: Bebjamin/cummings. 1993
 13. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Eds. *Sneath P.H.A, Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J.G.* Baltimore: The Williams and Willkins Co., 2, 1104–1139, 1986.
 14. *Gordon R.E., Haynes W.C., Pang C.H.W.* The Genus *Bacillus*. Agricult. Handbook. Washington: D.C., 1973.
 15. *Prescott L.M. Harley S.R. Klein D.R.* Microbiology. 5th edition. The McGraw-Hill Companies, 1147, 2002.
 16. Thermophiles Life in the Hot Line. 9th International Conference on Thermophiles Research. Bergen, Norway, 2007.

Поступила 13.06.08