

На правах рукописи

МИТЫШОВА Татьяна Николаевна

**РАЗНООБРАЗИЕ АЭРОБНЫХ И ФАКУЛЬТАТИВНО-
АНАЭРОБНЫХ ОРГАНОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ
СОДОВО-СОЛЕННЫХ ОЗЕР ЗАБАЙКАЛЬЯ И
МОНГОЛИИ**

**03.00.16 – экология
03.00.07 – микробиология**

**АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Улан-Удэ, 2007

Работа выполнена в Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН

Научный руководитель: кандидат биологических наук
Козырева Людмила Павловна

Научный консультант: доктор биологических наук,
Вайнштейн Михаил Борисович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Ивановский Руслан Николаевич

кандидат биологических наук
Брянская Алла Викторовна

Ведущая организация: Восточно-Сибирский государственный
технологический университет

Защита состоится «15» мая 2007 г. в 16.00 часов на заседании
Диссертационного совета Д 212.022.03 при Бурятском
государственном университете по адресу: 670000, Улан-Удэ, ул.
Смолина, 24а, биолого-географический факультет, конференц-зал
Факс: (3012) 211593
e-mail: d21202203@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Бурятского
государственного университета.

Автореферат разослан «12» апреля 2007 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Шорноева Н.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы.

Содовые и содово-соленые озера широко распространены в аридных зонах. Они представляют собой уникальные экосистемы, в которых экстремально высокие значения рН сочетаются с высокими концентрациями солей вплоть до насыщающих (Sadler et al., 1980; Vreeland et al, 1987).

Исследование разнообразия микробных сообществ представляет значительный интерес для понимания функционирования содовых озер как отдельного типа экосистем.

В настоящее время в содовых озерах мира выявлены и описаны представители основных функциональных групп, принципиально различающихся в отношении использования органического вещества (ОВ) и свободного кислорода:

- продуцентов – цианобактерий и пурпурных бактерий (Дубинин и др., 1995; Герасименко и др, 1996; Брянцева и др. 1999, 2000);
- деструкторов (консументов), включающих аэробных и анаэробных органотрофных бактерий (Tindall, 1988; Jones et al, 1998; Заварзин и др., 1999);
- вторичных анаэробов, замыкающих циклы углерода и серы (Жилина и др., 1998);
- бактерий «аэробного фильтра», окисляющих газы биогенного и абиогенного происхождения (Сорокин и др., 2001; Калужная и др., 1998).

В содовых озерах Забайкалья и Монголии в течение последних 10 лет исследуются биоразнообразие и функционирование микробных сообществ (Намсараев и др., 1999; Горленко и др., 1999; Банзаракцаева, 2002. Sorokin et al., 2003). В деструкции ОВ предполагается важная роль аэробных процессов, о чем свидетельствуют высокая численность аэробных органотрофов 10^5 - 10^6 кл/мл и значительная скорость аэробной деструкции в донных отложениях озер Забайкалья. Из проб воды, микробных матов и донных осадков выделены новые роды и виды представителей высокоспециализированных групп бактерий: пурпурных, метанотрофных, сероокисляющих, а также анаэробных алкалофилов (Сорокин и др., 2001; Ешинимаев и др., 2001; Жилина и др., 2004). Вместе с этим таксономическое разнообразие бактерий, выполняющих деструкцию органического вещества в аэробных зонах содово-соленых озер Забайкалья, практически не изучено.

Целью работы явилось определение разнообразия доминирующих аэробных и факультативно-анаэробных органотрофных алкало- и галофильных бактерий в донных осадках содовых и содово-соленых озер Забайкалья и Монголии.

Задачи исследования:

1. Изучить физико-химические условия обитания бактерий в исследуемых озерах;
2. Определить численность аэробных и анаэробных бактерий-деструкторов органического вещества;
3. Выделить доминирующих при культивировании представителей бактерий, осуществляющих разложение органического вещества в аэробных условиях, исследовать экофизиологические и физиолого-биохимические свойства;
4. Определить таксономическое положение выделенных бактерий;
5. Установить роль выделенных доминирующих и новых бактерий в функционировании микробного сообщества.

Научная новизна и практическая значимость.

Впервые изучено таксономическое разнообразие аэробных и факультативно-анаэробных бактерий содовых озер Забайкалья. Показано, что выделенные штаммы являются гало- и алкалофильными/толерантными организмами, способными осуществлять деструкцию органического вещества при смене экологических условий в экосистеме: распреснении или концентрировании солей, изменении pH, смене окислительно-восстановительной обстановки.

Специфичность исследованных водных экосистем по микробиоте подтверждается наличием новых форм выделенных микроорганизмов. Впервые из содовых озер выделены в культуру и описаны облигатно аэробные алкалотолерантные и галотолерантные представители семейства Flexibacteriaceae, определенные как новые роды и виды с предложенными названиями "*Lyalikoviella elongate*" gen. nov., sp. nov. и "*Sanguinoglea alkalitolerans*" gen. nov., sp. nov.

Полученные результаты расширяют представления о разнообразии и экологическом значении бактерий в экстремальных природных экосистемах. Выделенные штаммы представляют интерес для биотехнологии, как продуценты ферментов, устойчивых к высоким значениям pH и минерализации.

Апробация работы. Материалы диссертации были апробированы в виде докладов на Межрегиональной научно-практической конференции «Биоразнообразие микроорганизмов Восточно-Сибирского региона и их научно-практическое использование» (Иркутск, 2004), научно-практической конференции «Научный и инновационный потенциал Байкальского региона глазами молодежи» (Улан-Удэ, 2004, 2005 гг.), Всероссийской конференции с международным участием «Биоразнообразие экосистем Внутренней Азии» (Улан-Удэ, 2006).

Публикации. По результатам исследований опубликовано 14 научных работ.

Объем и структура диссертации. Материалы диссертации изложены настраницах машинописного текста и включает ... рисунков и таблиц. Диссертация состоит из разделов: «Введение», «Обзор литературы», «Экспериментальная часть», «Выводы», «Заключение», «Список литературы», включающий в себя ... отечественных и зарубежных источников и «Приложение».

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность за общее научное руководство научному руководителю к.б.н. Л.П. Козыревой, научному консультанту д.б.н., проф. М.Б. Вайнштейну.

Автор выражает благодарность заведующему лабораторией «Экологии и геохимической деятельности микроорганизмов» ИНМИ РАН д.б.н. В.М. Горленко и сотрудникам данной лаборатории к.б.н. З.Б. Намсараеву за советы и помощь в освоении методик, Е.Н. Болдаревой за предоставление штамма Ni, сотрудникам ИНМИ РАН к.б.н. А.М. Лысенко, Г.А. Осипову, Е.С. Бариновой за помощь на отдельных этапах работы, к.б.н. В.Н. Акимову (ИБФМ РАН), а также заведующему лабораторией микробиологии ИОЭБ СО РАН д.б.н., проф. Б.Б. Намсараеву и сотрудникам данной лаборатории за помощь в работе и поддержке.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Президиума РАН «Происхождение и эволюция биосферы», Президиума СО РАН № 24, УрО и СО РАН «Микробные сообщества экстремальных экосистем», Минобразования науки РНП. 2.1.1.4566, Минобразования РФ E02-6.0-294, Президиума СО РАН № 170 и Минобразования РФ УрО 07.01.474.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты исследования.

Объектами исследования явились содовые озера Забайкалья и Монголии: Соленое, Нухэ-Нур, Безымянное, Алгинское (Бурятия),



Хилганта, Горбунка (Агинский Бурятский автономный округ), Долоон Давст Нуур (Монголия) (рис. 1).

Микробиологические и гидрохимические исследования проведены с 2003 по 2006 гг.

Рис.1. Карта-схема расположения исследуемых содово-соленых озер

Забайкалья и Монголии:

- 1- Онон-Борзинская группа, АБАО: Хилганта, Горбунка;
- 2- Баргузинская группа: Нухэ-Нур, Алгинское, Безьямное;
- 3 - Селенгинская группа, Бурятия: Соленое;
- 4- Центрально-Монгольская группа: Долоон Давст Нуур

Методы исследования.

Физико-химические и лимнологические характеристики изучаемых озер определяли стандартными методами (Намсараев и др., 2006).

В толще донных отложений содового оз. Соленое содержание ОВ и его компонентов (белка и углеводов) изучали в: 1) ранний летний период – 4-5 июня 2004 г.; 2) середине лета – 10-12 июля 2005 г.; 3) ранний осенний период – 10-11 сентября 2004 г. Колонки высотой 10, 15 и 20 см отбирали с глубины 0,5 м. Определение содержания Сорг и его компонентов проводили по горизонтам с шагом 1, 2 и 5 см.

Естественное распределение и разнообразие микроценозов в микрокосмах и *in situ* было изучено методом стекол обрастания по Холодному (Методы изучения почвенных микроорганизмов, 1966).

Для определения численности, выделения и культивирования бактерий использовали *среду 1*, состава (г/л): KH_2PO_4 – 0,2; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; NH_4Cl – 0,5; KCl – 0,2; дрожжевой экстракт – 0,05, раствор микроэлементов по Витману – 1мл/л. В качестве субстратов вносили (в %): (*а*) для протеолитиков – пептон (1,5); (*б*) для амилолитиков – крахмал (1,5); (*в*) для целлюлолитиков – полоску фильтровальной бумаги (1); (*г*) для липолитиков – твин-40 (1,5); для бродильщиков – глюкозу (1,5). Для культивирования сульфатредуцирующих бактерий к вышеописанной среде добавляли (г/л): $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ – 3; $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ – 0,05; лактат, ацетат в концентрации 3 г/л. Сапрофитные бактерии определяли на среде РПА (2,5 %) (*д*). Значения рН и минерализации, соответствующие гидрохимии озер, устанавливали с помощью NaHCO_3 , Na_2CO_3 и NaCl . Посевы инкубировали в термостате при 30°C. Статистическую обработку при определении численности бактерий проводили по таблице Мак-Креди (Большой практикум по микробиологии, 2005).

Чистые штаммы органотрофных бактерий выделяли: I- из изолированных колоний на агаризованной среде при определении численности бактерий, II - после предварительного культивирования проб донных осадков озер со смесью комплексных органических субстратов на *среде 2* состава (г/л): KH_2PO_4 – 1,0; $\text{MgCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,2; Na_2CO_3 – 10; глюкоза – 10; пептон – 5; дрожжевой экстракт (ДЭ) – 5. рН среды устанавливали равной 9,5, концентрацию NaCl – (*а*) 40, (*б*) 120, (*в*) 300 г/л. Пробы культивировали аэробно на качалке со скоростью 180 об/мин (в таблице 3 отмечено *) и стационарно в течение 2 суток при температуре

30°C. Из обогащенных культур проводили посев на агаризованную среду аналогичного состава.

Культура Nu выделена на минеральной *среде 3* состава (г/л): NH_4Cl – 0,4; KH_2PO_4 – 0,5; NaNO_3 – 0,4; MgCl_2 – 0,2; Na_2SO_4 – 0,5; ДЭ– 1; Na ацетат – 1; Na пируват – 1; NaCl – 10; $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 1; KCl – 0,5; B_{12} – 10 мкг; раствор микроэлементов – 1мл, NaHCO_3 – 10, Na_2CO_3 – 5; pH 9,0-9,5.

Чистые культуры поддерживали на *среде 1* (pH 9,0-9,5, NaCl – 10 г/л) с дрожжевым экстрактом (5 г/л).

Зависимость роста штаммов от наличия карбонатов изучали на *среде 1*, исключив буферные карбонатные растворы, pH устанавливали подтитровкой 10% NaOH . Зависимость роста от ионов натрия изучали в *среде 1* без NaCl , pH устанавливали подтитровкой 10% KOH .

Морфотипы бактерий, размеры, подвижность и спорообразование изучали микроскопированием образцов с помощью светового микроскопа Axio Star Plus (Karl Zeiss) в фазовом контрасте и на окрашенных препаратах (увеличение 1000 раз).

Эколого-физиологические, биохимические характеристики и ферментативную активность выделенных штаммов исследовали по стандартным методикам (Методы общей бактериологии, 1984).

Состав оснований ДНК определен на основании анализа кривых плавления ДНК в ИНМИ РАН (г. Москва). Секвенирование генов 16S-РНК проведено в ИБФМ РАН (г. Пушино) и ЛИИ СО РАН (г. Иркутск). Для сравнительного анализа полученных последовательностей с известными в GENBANK использовали пакет программ BLAST ([http:// www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). Построение филогенетического дерева проводили с помощью программы TREECONW.

Определение состава жирных кислот клеточной стенки выполнено Г.А. Осиповым (г. Москва).

Результаты исследования и их обсуждение

Физико-химические условия среды обитания микроорганизмов

Исследованные содовые озера являются мелководными и имеют относительно малую площадь. В период исследований оз. Хилганта пересохло. Отбор проб донных отложений производили из-под корок высохшего мата. Выбранные объекты исследований различались по степени минерализации (5,6 - 320 г/л), pH (7,7 – 9,9) и ионному составу воды (табл.1).

Таблица 1.

Основные характеристики исследуемых озер

Озеро	Глубина, м	Площадь, км ²	pH	t°C	ОМ, г/л	Еh, мВ	O ₂ , мг/л	CO ₃ ²⁻ , г/л	HCO ₃ ⁻ , г/л	SO ₄ ²⁻ , г/л	СГ, мг/л
1	2,5-3	0,36	9,9	22	5,6	+177	4,48	1,04	2,4	0,35	201,4
2	2,0	0,13	9,84	27	5,7	+59	6,2	3,24	4,56	0,58	137,7
3	1,6	2,1	9,13	23	10,0	+97	5,3	0,3	2,5	0,1	150
4	н.о.	н.о.	9,5	25	20	н.о.	н.о.	3,19	8,1	н.о.	399
5	0,3*	0,5*	9,5*	25*	40,0*	+70*	6,2*	2,45	1,37	12,2	13800
6	1,3	1,04	9,62	26	45-50	н.о.	н.о.	3,0	4,76	25,69	34,43
7	0,5	1,6	7,7	26	320	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.

Примечания:

1.- Соленое; 2.- Нухэ-Нур; 3.- Горбунка; 4.- Безымянное; 5.- Хилганта; 6.- Алгинское; 7.- Долон Давст Нуур ; ОМ –общая минерализация; «н.о.» – не определено; «*»– данные, взятые из ранее проведенных исследований лаборатории.

Преобладающим катионом в водах озер является ион натрия. Его максимальное значение достигало 13,6 г/л, ионы магния и кальция присутствовали в количестве 2,14-181,0 и 0,16-102,2 мг/л соответственно. Кислород в воде озер распространялся до придонных слоев. Таким образом, исследовались озера рядов: 1) высокий pH и низкая минерализация (Соленое, Нухэ-Нур, Горбунка), 2) высокий pH и минерализация 20-50 г/л (Безымянное, Хилганта, Алгинское) и 3) нейтральный pH и высокая минерализация (Долон Давст Нуур).

В колонках донных отложений оз. Соленое определено содержание ОВ и биополимеров. Максимальное содержание ОВ (10,0-15,4 %) выявлено в поверхностных и подповерхностных слоях осадка в июне 2004 г. В нижележащих слоях содержание Сорг снижалось и варьировало в пределах 1,2-3,2 %. Содержание белка и углеводов по глубине донных осадков варьировало в пределах 0,07-1,08 мг/мл и 0,6-5,46 мг/мл, соответственно.

Увеличение концентрации ОВ отмечено в поздне-весенний и ранне-осенний периоды. По-видимому, это связано с высокой интенсивностью процессов продукции и последующего накопления органических веществ. Высокая концентрация ОВ в июне обусловлена увеличением биомассы фитопланктона в весенний период и его осаднением. Снижение концентрации ОВ и его компонентов в середине лета обусловлено активной деятельностью бактерий-деструкторов. Осенью увеличение содержания ОВ происходит не только в результате продукционных процессов, осуществляемых в озере, но также вследствие поступления растительного опада с береговой зоны.

Распространение бактерий-деструкторов в донных осадках содовых озер

Численность основных физиологических групп бактерий, участвующих в аэробной и анаэробной деструкции органического вещества была определена в донных отложениях 6 содовых озер: Соленом, Хилганте, Горбунке, Долон Давст Нуур, Нухэ-Нур и Алгинском (табл. 2).

Таблица 2.

Распространение аэробных и анаэробных бактерий-деструкторов в донных осадках

Озеро	Численность микроорганизмов (клеток/мл)								
	Протеолитики		Липолитики		ЦРБ		Ами лоли тики	Бро диль щики	СРБ
	аэробы	анаэ робы	аэробы	анаэробы	аэробы	анаэ робы			
1	$>10^8$	10^6	$2,15 \cdot 10^7$	$1,35 \cdot 10^6$	10^3	10^6	$1,35 \cdot 10^6$	10^8	10^7
2	10^5	10^5	$1,5 \cdot 10^5$	$2,04 \cdot 10^3$	10^3	10^6	н.о.	10^5	10^7
3	10^6	10^6	$1,75 \cdot 10^7$	$1,7 \cdot 10^6$	10^2	10^2	$1,7 \cdot 10^6$	10^7	10^6
4	10^7	10^6	$0,5 \cdot 10^5$	$0,1 \cdot 10^3$	10^2	10^3	$0,8 \cdot 10^4$	10^5	10^5
5	$2,5 \cdot 10^6$	$0,85 \cdot 10^6$	$0,23 \cdot 10^6$	$1,4 \cdot 10^5$	$0,17 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^3$	$0,3 \cdot 10^6$	н.о.	н.о.
6	$4,5 \cdot 10^4$	$0,85 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^5$	$0,5 \cdot 10^4$	$0,25 \cdot 10^2$	$0,17 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^5$	н.о.	10^6

Примечания:

1.– Соленое; 2.– Хилганта; 3.– Горбунка; 4.– Долон Давст Нуур; 5.– Нухэ-Нур; 6.– Алгинское.
«ЦРБ»–целлюлозоразлагающие бактерии, «СРБ»–сульфатредуцирующие бактерии.

Наибольшая численность всех групп бактерий была отмечена в пробах донных отложений оз. Соленое, Нухэ-Нур и Горбунка. Во всех озерах велика численность аэробных бактерий.

На примере оз. Соленое изучено вертикальное распределение бактерий– деструкторов ОВ в колонке донных отложений (рис.2). Показано, что в поверхностных и подповерхностных слоях донных отложений, содержащих наибольшее количество органического вещества, содержится максимальное количество как аэробных, так и анаэробных бактерий деструкторов. Количество аэробных и анаэробных бактерий вниз по колонке изменялось незначительно.

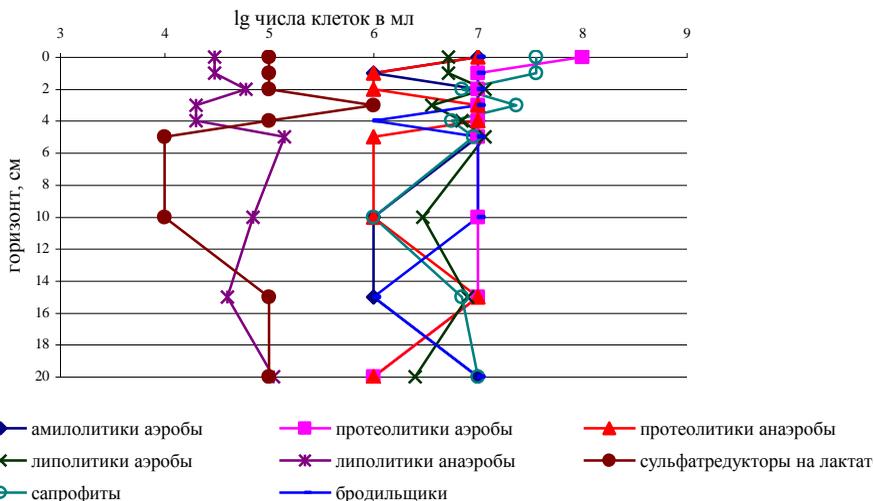


Рис. 2. Численность бактерий-деструкторов органического вещества в колонке донных осадков оз. Соленое (июль 2005).

Изучение микробного пейзажа в микрокосмах озер и *in situ*

Изучение морфологического разнообразия клеток микроорганизмов было проведено в микрокосмах содовых озер.

В сформировавшихся микробных сообществах, инкубированных в течение 2,5 месяцев, визуально различались 3 зоны: 1) водная; 2) зона окисленного ила от 1 до 5 мм; 3) зона восстановленного ила.

Изучение микроскопической картины выявило особенности микроценозов. Микробные сообщества озер Хилганта и Долон Давст Нуур на стеклах обрастания были представлены небольшим количеством прикрепившихся клеток и бедным морфологическим разнообразием бактерий. По разнообразию морфотипов бактерий и количеству прикрепившихся клеток на стеклах обрастания наибольший интерес представляли микробные сообщества озер Горбунка и Соленое. В поверхностных слоях воды (0-10 мм) преобладали мелкие клетки бактерий, крупные округлые клетки, колонии микрококков, споровые клетки, длинные нитевидные формы, изредка изогнутые клетки. Трихомные цианобактерии и диатомовые водоросли обнаруживались в воде (от 5 мм и ниже) и поверхностных слоях ила. Отличительной чертой микрокосма оз. Горбунка было выявление спирихет в анаэробном илу с растительными остатками. В микрокосме оз. Соленое между зонами окисленного и восстановленного илов находился прослой пурпурных бактерий. В нижних горизонтах ила оз. Соленое присутствовали

однородные длинные и короткие бактериальные клетки. В илу оз. Горбунка выявлены вибрионы и крупные кокки. Во всех случаях бактериальные сообщества были представлены как грамположительными, так и грамотрицательными прокариотами.

На стеклах обрастания, инкубированных в течение суток *in situ* в экосистеме оз. Соленое, выявлено большое количество и разнообразие фототрофных организмов: цианобактерий родов *Phormidium*, *Arthrospira*, *Oscillatoria*, *Gloeocapsa*, диатомей, клеток серных пурпурных бактерий. Они обнаруживались в большом количестве в придонной воде, на поверхности и в верхнем слое донных осадков. Бактериальные клетки были представлены преимущественно разнообразными палочками, включая споровые. С глубиной донных осадков морфологическое разнообразие микроорганизмов снижалось.

Таким образом, наибольшее морфологическое разнообразие бактериальных клеток выявлено в модельных экосистемах низко минерализованных содовых озер. На поверхности и в верхних слоях донных осадков присутствуют клетки окислительных фототрофных организмов. Образующий ими кислород может использоваться в процессах аэробной деструкции ОВ.

Выделение и характеристика чистых культур бактерий-деструкторов

Из проб донных отложений содовых озер были изолированы 50 штаммов органотрофных бактерий, доминировавших при выделении:

- из накопительных культур, полученных в условиях интенсивной аэрации;
- из накопительных культур, полученных при стационарном культивировании;
- при посеве проб на комплексную агаризованную среду (РПА), либо на среду, содержащую единственное органическое соединение, в качестве источника углерода и энергии.

Исследования были проведены с 31 штаммами, отобранными с учетом: 1) доминирующего роста на агаризованных средах; 2) пигментации колоний; 3) физиологических свойств (алкало- и галофилии) (табл. 3). Таким образом, среди отобранных штаммов оказалось 14 изолятов из оз. Соленое, 3 – из оз. Алгинское, 3 – из оз. Горбунка, 2 – из оз. Нухэ-Нур, 2 – из оз. Безымянное, 4 – из оз. Долон Давст Нуур и 3 – из оз. Хилганта.

Таблица 3.

Некоторые характеристики выделенных культур

Куль-тура	Озеро	Условия выделения	Пределы/Оптимум рН	Пределы/Оптимум NaCl/г/л	Структура клетокной цепи	Содержание ПЦ в ДНК, мол%	Морфология клеток	Размеры клеток, мкм
A1	Алгинское рН 9.6 ОМ 45-50 г/л	Среда 2б	8,6-10/9	0-100/0	-	н.о.	палочки	0,29 x 1,57-2,7 спора = 0,57
A3		Среда 2а	6,5-11/9-10	0-200/75	-	н.о.	овальные палочки	0,86-1 x 1,14-1,7 споровые
A4		Среда 2а	8-11/9,5	0-200/30-100	-	н.о.	палочки	0,71-0,86 x 2,43
D1	Долон Давст Нуур рН 7.7 ОМ 320 г/л	Среда 2б	6-10/8	0-100/30	-	н.о.	палочки	0,43 x 2,14
D2		Среда 2а	5,5-10,5/8	0-140/30-50	+	н.о.	палочки	0,71 x 3,2-3,5 споровые
D3		Среда 2а	7-9,5/8,8	0-75/30	+	36,1	палочки	0,43 x 1,86-2 спора = 0,57 x 0,86
D4		Среда 2а	7-9,5/8,8	5-180/50	+	н.о.	палочки	0,57 x 1,7-2,85 споровые
X1	Хилганга рН 9.5 ОМ 40 г/л	Среда 2а	7-9,5/8,7	0-100/5-50 (15)	+	31,5	палочки	0,43 x 1,7 споровые
X3		Среда 2а	7-11/8,5-9,5	0-100/30	+	н.о.	палочки	0,43 x 1,43-2,14 споровые
X4		Среда 2а*	7,5-10/9	0-100/100	-	50,4	кокки	d = 0,86
K1	Соленое рН 9.9 ОМ 5.6	Среда 2б	7,5-10/8,7	5-180/75-100	+	н.о.	палочки	0,43 x 1,14-1,43
K3		Среда 2а	6,5-10,5/8,8	0-200/50	+	36,5	кокки	d = 1,29
K4		Среда 2а	7,5-10/8,8	0-180/100	+	37,5	палочки	0,43 x 1,43-1,7
K5		Среда 2б	6,5-11/10	0-200/30-75	+	н.о.	кокки	d = 1-1,14
K6		Среда 2а*	5,8-11/8,5	0-200/75-100	-	н.о.	овальные палочки	0,71-0,86 x 1,43-1,86
K7		Среда 2б*	7,5-11/9,5	0-180/30	-	н.о.	кокки	d = 1
K8		Среда 2б*	6,5-11/9	0-200/50-75	-	н.о.	кокки	d = 0,76- 0,86
17п		Среда 1а	7-10,5/8,8	0-100/75	-	н.о.	овальные палочки	0,86-1,14 x 1,86-3,43
C1K		Среда 1д	7,5-10,5/8,6	0-100/30-50	+	44,4	палочки	0,71 x 2,85
C2K		Среда 1д	6,5-9,5/7,5	0-200/30	+	70,4	кокки	d = 1
C4K		Среда 1д	6-10/8-8,5	0-200/15	+	43,4	кокки	d = 0,76-0,86
SK1	Среда 1д	6,5-11/7,7	0-75/30	-	29,8	палочки	0,29-0,43 x 1,71-3,86	
Ц3	Среда 1в				40,3	палочки	0,86 x 2,14 - 4 спора = 0,57 x 0,86	
Л1К	Среда 1г					н.о.	изогнутые палочки	0,57 x 2,57; 3,14; 5
2а	Горбунка рН 9.1 ОМ 10 г/л	Среда 1б	7,5-10,5/9,2	0-160/50-75	+	н.о.	палочки	0,57 x 2,71 спора = 0,71x1
8а		Среда 1б	7-10/9,3	0-100/15-50	+	н.о.	овальные палочки	1,14 x 1,57-1,86 споровые
10а		Среда 1б	6-10,5/9,3	0-100/15-50	+	н.о.	палочки	0,71 x 2,43 спора = 0,86 x 1,14
N2	Нухэ-Нур рН 9.8, ОМ 5.7 г/л	Среда 2а*	6-10/8,5-9	0-100/0-50	+		кокки	d = 0,7
Nu		Среда №3	6,5-10/7,6	0-7,5/0,5-1,5	-	42,7	палочки	0,4-0,5 x 1,1-1,7
32	Безымянное рН 9,5, ОМ 20 г/л	Среда 2в	7,5-11/9,5-10	0-200/15-30	-	н.о.	кокки	d = 0,86-1
34		Среда 2б	7-10/8,5-9	0-100/50	-	37,2	палочки	0,57-3,6 спора = 1x1,14

Примечание: * – культивирование в аэробных условиях на качалке.

На агаризованных средах штаммы образовывали круглые, реже концентрические или амёбовидные неокрашенные или пигментированные колонии светло-желтого, желтого, розового, оранжевого и ярко-красного цветов. Размеры колоний варьировали от 1 до 5-6 мм, за исключением штаммов Д4 и Х3, образующих колонии диаметром 12 и 17 мм, соответственно. Клетки 18 штаммов представлены палочками, 9 – кокками, 4 - овальными клетками и одного штамма – изогнутыми палочками. У 12 штаммов выявлено спорообразование.

Физиологическая характеристика штаммов

Штаммы растут в широком диапазоне рН и NaCl (табл.3). Два штамма - А1 и А4 являются облигатными алкалофилами (pH_{\min} = 8-8,6; pH_{opt} = 9-9,5; pH_{\max} = 10-11). Штаммы С2К, Sk1 и Nu растут при рН 6,5-9,5/10/11, pH_{opt} = 7,5-7,7. Остальные штаммы росли в диапазоне рН 5,5 - 11, но при этом имели разные pH_{opt} (8-10), что позволило отнести их к группе алкалотолерантных организмов.

По отношению к NaCl выделенные штаммы проявляли следующие свойства. Два штамма - Д4 и К1 являются галофилами. Они растут при содержании NaCl от 5 до 100 г/л, $NaCl_{\text{opt}}$ 50-100 г/л. Большинство культур растут в диапазоне NaCl от 0 до 200 г/л, с оптимумами при 15-30 г/л, являясь галотолерантными организмами.

Независимо от условий выделения культур, все, за исключением А1, имеющей оптимальный рост в среде без NaCl, но толерантной к концентрации NaCl до 100 г/л, оказались устойчивыми к высоким концентрациям соли, и имели $NaCl_{\text{opt}}$ выше, чем в местах обитания.

Штаммы А1, Д3, Д4, К6, 17п, 32 и Sk1 показали облигатную зависимость роста от присутствия карбонат – ионов в среде; у штаммов А4, Д1, 2а, К1, К4 и С2К в отсутствие карбонат – ионов наблюдался более слабый рост. Наличие карбонат – ионов в среде не влияло на рост штаммов Х1, Х3, Х4, А3, К3, К5, К7, К8, 8а, 10а, Д2, 34, N2, С1К и С4К.

Штаммы А1, Д1, Д2, Д3, Д4, К5, 10а, 32 и Sk1 не росли или росли слабо в отсутствие ионов Na^+ в среде.

По отношению к температуре выделенные микроорганизмы являются мезофилами с оптимальным ростом в пределах 25-40°C, за исключением А1, рост которого был отмечен до 55°C.

Выделенные штаммы являются факультативно-анаэробными бактериями, за исключением строгих аэробов Sk1 и Nu. Большинство штаммов являются оксидазо- и каталазо-положительными (А3, А4, Д1, Д3, К6, К7, К8, Х1, Х3, Х4, 17П, 8а, 10а, 32). Только оксидаза выявлена у Д2, Д4, 34, Nu, Sk1; только каталаза - у К3, К5, 2а, С1К, С2К, С4К, N2.

Биохимическая характеристика культур

Все штаммы хорошо росли на среде с комплексными субстратами, внесенными в качестве единственных источников углерода и энергии - дрожжевом экстракте и пептоне (за исключением А1). Спектр соединений, утилизируемых штаммами в аэробных и анаэробных условиях, представлен в таблице 4. Изоляты используют для роста арабинозу, рамнозу, рафинозу, маннит, фруктозу, глюкозу, инозит, лактозу, сорбит и дульцит. Слабый рост отмечен на ксилозе, сахарозе, маннозе, инозите. У всех культур рост отсутствовал на галактозе.

Таблица 4.

Рост культур на различных субстратах

Культура	Аминокислоты			ЛЖК		Пентозы		Гексозы							Дезоксигексозы
	Аспарагин	Глутамат	Цистеин	Ацетат	Лактат	Арабиноза	Ксилоза	Фруктоза	Манноза	Глюкоза	Маннит	Лактоза	Сахароза	Сорбит	
А1	⊥	-	-	-/-	-/-	+/+ к	+/-	+/- _к	+/+ к	+/+ к	+/+ к	+/+ к	+/+ к	+/-	+/-
А3	+	++	+	+/-	++/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
А4	+	+	+	++/+	++/+	+/+	+/+	+/-	+/+ к	+/-	+/+	+/+	+/+ к	+/-	+/-
Д1	+	-	⊥	-/-	+/-	+/-	+/+ к	+/+ к	+/+ к	+/+ г. к	+/-	+/-	+/+ к	+/+ к	+/-
Д2	⊥	+	⊥	⊥/-	⊥/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Д3	-	-	-	-/-	⊥/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Д4	+	-	-	-/-	-/-	⊥/-	⊥/-	-/+	-/+ к	+/-	⊥/-	-/-	+/-	-/-	-/-
К1	-	-	-	+/-	+/-	+/- _к	+/-	+/+ к	+/+ к	+/+ к	+/-	-/-	+/-	+/-	-/-
К3	+	+	⊥	+/-	+/-	+/+	+/+ к	+/+ к	+/+ к	+/+ к	+/+	+/- _к	+/+ к	+/-	-/-
К4	-	-	-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	⊥/-	⊥/- _к	⊥/-	⊥/-	⊥/- _к	-/-	-/-
К5	+	+	⊥	⊥/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-	-/-
К6	++	++	-	+/-	++/+	+/+	+/-	+/+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
К7	+	+	+	+/+	+/+	+/-	+/-	-/-	⊥/-	-/-	-/-	-/-	-/+ к	-/-	-/-
К8	++	++	++	+/+	+/+	+/-	+/-	+/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+ к	+/+	+/+
Х1	+	⊥	-	-/-	+/-	+/-	+/+ г.к	+/+ г.к	+/+ к	+/+ г.к	+/+ к	-/-	+/+ г.к	+/+ к	+/-
Х3	+	+	-	-/-	-/-	+ к/+ г.к	-/-	+/+ к	+/+ г.к	+ к/+ к	+/+ к	-/- _к	+ к/+ г.к	+/+ к	-/-
Х4	-	+	⊥	⊥/-	-/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	⊥/-	⊥/-	+/-	+/-
17п	+	++	+	+/+	+/+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/+	+/-	+/-
2а	+	⊥	-	-/-	+/-	-/-	-/-	+/+	+/+ к	+/- _к	+/-	-/-	+/- _к	+/-	-/-
8а	+	+	⊥	+/-	+/-	-/-	-/-	+/+ г.к	+/-	+/-	+/-	-/-	+/+	+/-	-/-
10а	+	+	⊥	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	⊥/-	-/-	-/-	-/-	-/-
С1К	+	+	-	-/-	-/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/+ к	+/-	-/-	+/-	-/-	+/-
С2К	+	+	+	+/+	+/-	+/-	+/-	+/+	+/-	+/+	+/+	+/-	+/+	+/+	+/+
С4К	+	+	+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
32	+	+	+	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-
34	-	-	-	-/-	-/-	+/+ к	+/+ к	+/-	+/+ к	+/+ к	+/+ к	-/-	+/+ г.к	+/+ к	+/-
SK1	+	⊥	-	+/-	-/-	-/-	⊥/-	⊥/-	⊥/-	⊥/-	-/-	-/-	+/-	-/-	+/-
Nu	+	н.о.	-	+/-	-/-	+/-	н.о.	н.о.	н.о.	+/-	-/-	+/-	+/-	-/-	+/-
N2	+	+	⊥	⊥/-	+/-	+/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/-	+/+	+/+	+/+

Примечание: данные в числителе – рост в аэробных условиях, в знаменателе – рост в анаэробных условиях; г. – газообразование; к. – кислотообразование; ЛЖК – летучие жирные кислоты; «+» - положительный рост; «-» - отрицательный рост; «⊥» - слабый рост.

Большинство штаммов газ и кислоту из сахаров в анаэробных условиях не образуют, но у ряда штаммов (А1, А4, Д1, К1, К3, К4, К7, К8, Х1, Х3, 2а, 8а, С1К и 34) наблюдалось кислотообразование. Из вышеперечисленных штаммов у Д1, Х1, Х3, 8а и 34 выявлено газообразование.

17 штаммов проявляли способность к фиксации молекулярного азота. 9 штаммов образуют аммиак. Сероводород из белок-содержащих субстратов образуют только 11 культур. Индол не образуют.

Определено наличие активности гидролитических ферментов – амилазы, эндоцеллюлазы, казеиназы, желатиназы и липазы. У 17 штаммов (А1, А4, Д2, Д4, К1, К3, К4, Х1, Х3, 8а, 10а, С1К, 32, 34, SK1, Nu, Ц3) выявлена амилазная активность; у 3 штаммов (Д2, Х1, Х3) выявлена активность эндоцеллюлазы; 5 штаммов (Х1, Х3, 2а, 8а, Ц3) проявляли казеиназную активность; Х4, 2а, 8а, 10а, С1К способны разжижать желатину; активность липазы выявлена у 6 штаммов (Х1, Х3, 2а, С1К, 34 и Л1К). У штаммов А3, Д1, Д3, К5, К6, К7, К8, 17П, С2К, С4К и N2 протестированные активности не были выявлены. В то же время штаммы из оз. Хилганта Х1 и Х3 обладают активными амилазой, эндоцеллюлазой, казеиназой и липазой.

Генотипическая характеристика культур

Для ряда штаммов, представляющихся наиболее интересными с точки зрения описания новых видов или биотехнологических перспектив, были выполнены определение нуклеотидного состава ДНК (табл. 3) и секвенирование генов 16S р-РНК.

Содержание Г+Ц в ДНК для большинства протестированных штаммов варьировало от 36,1 мол% до 50,4 мол%. Два штамма – Х1 и SK1 имеют низкое содержание Г+Ц (31,5 и 29,8 мол%). С2К, имеющий в составе ДНК 70,4 мол% Г+Ц представляет отдельную группу.

Неполный сиквенс генов 16S р-РНК показал сходство ряда штаммов с валидно описанными представителями алкалофильных и галофильных бактерий, выделенными как из щелочной окружающей обстановки, так и других мест обитания (морские экосистемы, сточные воды, почва, лед, микробные маты). Штамм К5 и Ц3 показали 100 % гомологию с известными алкало- и галофильными видами р. *Bacillus*: *B. saliphilus* и *B. krulwichiae*. Наибольшее сходство у штамма Д1 выявлено с *Oceanobacillus iheyensis* (98,9%). У штамма К6 обнаружено 99 % сходство с *Halomonas axialensis*. Гомология на уровне 96,3 % штамма 17п на с *Halomonas desiderata* позволяет рассматривать его как новый вид.

Штаммы SK1 и Nu обнаружили сходство с близкородственными последовательностями на уровне 92% (*Algoriphagus* sp.10.1) (SK1), и 89% (*Hongiella mannitolivorans*) (Nu). Между собой штаммы имеют менее 90 % гомологии. Содержание Г+Ц в ДНК у SK1 и Nu составляет 29.8 мол.% и 42.7 мол.% соответственно, что демонстрирует большую разницу между

двумя штаммами. По результатам анализа последовательностей гена 16S р-РНК штаммы SK1 и Nu принадлежат группе *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides*, семейства Flexibactericeae, образуя отдельные ветви родового уровня.

Характеристика новых родов аэробных бактерий группы CFB (Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides)

Культуры SK1 и Nu предложены для описания в качестве представителей новых видов и родов.

Культура SK1 выделена из проб донных осадков озера Соленое, Nu – из пробы воды озера Нухэ-Нур. Культуры образуют на агаризованных органо-минеральных средах колонии красного цвета. Этанольные экстракты пигментов имели спектр поглощения в каротиноидной области (484 нм).

Морфологически клетки представляют подвижные неспоровые грамотрицательные палочки, различающиеся размерами (рис.3).

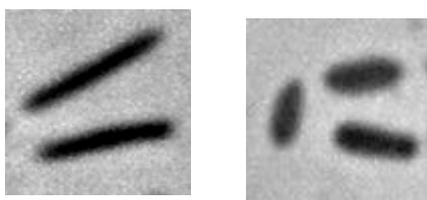


Рис. 3. Фотографии культур: а) Sk1; б) Nu; масштабный отрезок - 5 мкм

а) б)

Культуры являются алкало- и галотолерантными, мезофильными организмами (рис.4). Различия между культурами представлены в таблице 5. Филогенетическое дерево последовательностей штаммов Nu и Sk1 в системе семейства Flexibacteriaceae представлено на рисунке 5.

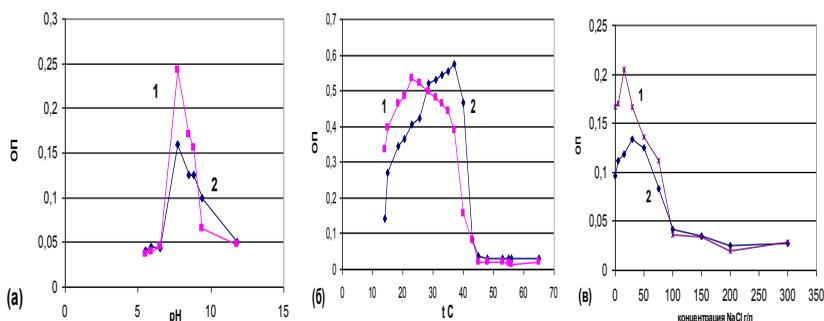


Рис. 4. Влияние pH (а), температуры (б) и концентраций NaCl (в) на рост штаммов: 1) Nu, 2) Sk1

Описание «*Lyalikoviella elongate*» gen. nov., sp. nov.

Клетки размером 0,3-0,4 x 1,7-2,8 μm, подвижные. Споры не образуют. Колонии ярко-красного цвета, округлые, каплевидные, блестящие, гладкие диаметром 5-6 мм. Грамотрицательные, оксидазо-положительные и каталазо-отрицательные клетки. Строгий аэроб, гало-, алкалотолерантный и мезофильный организм. Рост отмечен в диапазоне концентраций NaCl от 0 до 7,5 %, с оптимумом 3 %, pH 6,5–11, оптимумом 7,7 и температуры 13 - 42 °C с оптимумом 37°C. Не отмечен рост в анаэробных условиях. Не продуцирует кислоту из D-глюкозы. Не редуцирует нитрат до нитрита. В качестве субстратов использует глицерин, D-глюкозу, сахарозу, рамнозу, глутамат, пептон, дрожжевой экстракт, крахмал, L-аспарагин, L-орнитин, пируват, ацетат, гидролизат казеина и РПА. Не утилизирует цистеин, L-лизин, гликолят, цитрат, лактат, метанол, сукцинат, тартрат, D-маннит, D-сорбит и углеводороды. Доминирующие жирные кислоты iso 15:0 (56,3 %); 10 Me16 (11,5%); iso 15:1 (7,8%); 16:1w7 (4,3%); 15:0 iso 2-OH (2,8%). Содержание ГЦ в ДНК 29,8 мол. %.

Типовой штамм *Sk1* депонирован в коллекции культур DSZM под номером DSM 18439. Местообитание и выделение: донные осадки содового оз. Соленое (Южное Забайкалье).

Таблица 5.

Отличительные признаки у выделенных штаммов *Sk1* и *Nu*

Признаки	Размер клеток (мкм)	Содержание ГЦ в ДНК (mol %)	pH		NaCl (%)		t°C		L-орнитин	D-рибоза	L-арабиноза	Лактоза	Каприлат	Целлюлоза	Доминирующие жирные кислоты (%):			
			lim	opt	lim	opt	lim	opt							15:0 iso	10 Me16	16:1w7c/15:0 iso 2-OH	15:0 ante iso
SK1	0,3-0,4x1,7-2,8	29,8	6,5-11	7,7	0-7,5	3	13-42	37	+	+	-	-	-	+	56,34	11,51	7,08	0,9
Nu	0,4-0,5x1,1-1,7	42,7	6,5-10	7,6	0-7,5	0,5-1,5	13-42	25	+	-	+	+	+	-	49,73	9,36	8,24	3,5

Описание «*Sanguinolea alkalitolerans*» gen. nov., sp. nov.

Клетки размером 0,4-0,5x1,1-1,7 μm, подвижные, споры не образуют. Колонии красного цвета, округлые, блестящие, выпуклые, гладкие, диаметром 4-5 мм. Грамотрицательные, оксидазо-положительные и каталазо-отрицательные клетки. Строгий аэроб, гало-, алкалотолерантный и мезофильный организм. Рост отмечен в диапазоне NaCl от 0 до 7,5 %, с оптимумом 0,5-1,5%, pH 6,5–10 с оптимумом pH 7,6, и температуры 13–42 °C, с оптимумом 25 °C. В анаэробных условиях рост не наблюдается. Не продуцирует кислоту из D-глюкозы. Не редуцирует нитрат до нитрита. Используемыми субстратами являются глицерин, D-глюкоза, сахароза, рамноза, глутамат, каприлат, L-арабиноза, лактоза, пептон, дрожжевой экстракт, крахмал, L-аспарагин, L-орнитин, пируват, ацетат, гидролизат

казеина и РПА. Не утилизирует цистеин, L-лизин, гликолят, цитрат, лактат, метанол, сукцинат, тартрат, D-маннит, D-сорбит и углеводороды. Доминирующие жирные кислоты iso 15:0 (48,7 %); 10Me16 (9,4%); iso 15:1 (7,09%); 16:1w5 (4,09%); а 15 (3,5%); а 17:1 (3,3%). Содержание ГЦ в ДНК 42,7 мол. %.

Типовой штамм *Nu* депонирован в коллекции культур DSZM под номером DSM 18440. Местообитание и выделение: донные осадки содового оз. Нухэ-Нур.

Предложенные новые таксоны и их названия в настоящее время еще не утверждены, так как проходят стадию, необходимую для официальной валидации.

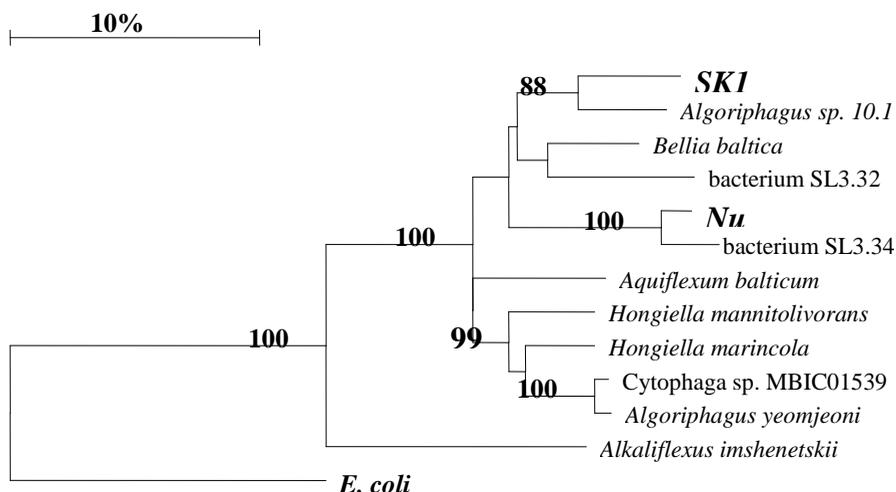


Рис. 5. Филогенетическое дерево последовательностей штаммов *Nu* и *Sk1* в системе семейства Flexibacteriaceae. Построено на основе анализа фрагмента гена 16S рНК с помощью метода объединения ближайших соседей (NJ). Вероятностная поддержка отдельных узлов оценивалась с помощью бутстрэп-анализа, приведены значения выше 80%. Шкала соответствует 0,1 нуклеотидных замен на сайт.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В галоалкалофильном микробном сообществе стадия деструкции органического вещества осуществляется как в анаэробных, так и аэробных условиях. Высокая численность аэробных и анаэробных бактерий-деструкторов выявлена нами в иловых отложениях содовых озер. В момент исследований наибольшее содержание органического вещества и

наибольшая численность бактерий наблюдались в поверхностных и подповерхностных слоях донных отложений.

Микробные сообщества исследованных щелочных озер с невысокой степенью минерализации оказались более разнообразны по морфологии бактерий, чем высоко минерализованные озера.

Среди выделенных нами как в условиях интенсивной аэрации, так и культивированных в стационарном состоянии бактерий-деструкторов большая часть оказалась факультативными анаэробами. По-видимому, возможность переключения метаболизма с аэробного на анаэробный дает им преимущество в сообществе при смене экологических условий. Бактерии отличаются широкой метаболической активностью в отношении используемых субстратов и в микробном сообществе донных отложений исследуемых озер являются активными участниками деструкции органического вещества.

Среди определенных с помощью молекулярно-генетических методов бактерий выявлены представители космополитного р. *Bacillus* и р. *Halomonas*, характерного как для соленых, так и для щелочных мест обитания.

Бациллы функционально являются группой, способной в микробном сообществе содовых озер осуществлять гидролиз различных органических соединений (белка, сахаров, липидов). Галомонады, обладая универсальным метаболизмом, используют низкие концентрации органических соединений. Ферментативная активность штаммов Д1, К5, К6, 17п, определенная в отношении ряда субстратов, ограничена использованием углеводов и аминокислот. Таким образом, эти культуры в сообществе занимают функциональное положение диссипотрофов, использующих низкомолекулярные вещества.

Впервые из содовых озер выделены алкало- и галотолерантные аэробные представители бактерий группы *Cytofaga-Flexibacteria-Bacteroides*, хотя наличие бактерий этой группы неоднократно подтверждалось при изучении микробных сообществ содовых озер молекулярно-генетическими методами (содовые озера Кении (Rees et al., 2004), нуклеотидные последовательности из Моно Лэйк (Калифорния), гиперсоленые озера на Гавайях, и др., зарегистрированные в GENBANK), а анаэробный представитель - *Alkaliflexus imshenetskii* - был получен в культуре ранее (Zhilina et al., 2004). Выделенные нами чистые культуры бактерий этой группы представляют новые роды и виды семейства Flexibacteriaceae, с предложенными названиями «*Lyalikoviella elongate*» gen. nov., sp. nov. и «*Sanguinoglea alkalitolerans*» gen. nov., sp. nov.

Выводы:

1. В исследованных содово-соленых озерах Забайкалья с минерализацией воды от 5,6 до 320 г/л и рН воды 7,7-10 создаются благоприятные условия для развития функционально разнообразного микробного сообщества алкало- и галотолерантных / -фильных организмов.
2. Количество аэробных органотрофных бактерий в донных отложениях содово-соленых озер варьирует от 10 тыс. до 100 млн. кл/мл и анаэробных органотрофных бактерий – от 10 тыс. до 10 млн. кл/мл, что свидетельствует об активном участии микробного сообщества в процессе деструкции органического вещества.
3. Среди выделенных в аэробных условиях в чистые культуры бактерий-деструкторов различных физиологических групп большая часть относится к факультативно-анаэробным, что позволяет им осуществлять деструкцию органического вещества при смене экологических условий в экосистеме.
4. Сиквенс генов 16S р-РНК штаммов, отобранных по принципу доминирующих видов и пигментации, показал сходство на уровне 96-100% с уже описанными видами р. *Bacillus*, *Halomonas*, *Oceanobacillus*.
5. Из содово-соленых озер Соленое и Нухэ Нур выделены два строго аэробных алкало- и галотолерантных штамма, отнесенных нами к новым родам и видам семейства Flexibacteriaceae, к группе Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides, с предложенными названиями «*Lyalikovella elongate*» gen. nov., sp. nov. и «*Sanguinoglea alkalitolerans*» gen. nov., sp. nov.
6. Выделенные как доминирующие при изоляции и новые штаммы факультативно-анаэробных бактерий-деструкторов отличаются высокой метаболической активностью в отношении используемых субстратов и обладают широким спектром гидролитических ферментов.

Список работ, опубликованных по материалам диссертации:

1. Чагдурова Т.Н. (Митыпова) Функциональное разнообразие бактерий-деструкторов органического вещества в донных осадках содово-соленых озер Забайкалья / Т.Н. Чагдурова, Л.П. Козырева // Биология – наука XXI века. 8-я Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых.– Пущино, 2004. – С. 165

2. Чагдурова Т.Н. Микробное сообщество содовых и содово-соленых озер Забайкалья / Т.Н. Чагдурова, Л.П. Козырева // Материалы 4-й региональной научной конференции «Научный и инновационный потенциал байкальского региона глазами молодежи», Улан-Удэ: Изд-во БГУ, 2004. – С.76-78
3. Чагдурова Т.Н. Амилолитические бактерии в донных отложениях содово-соленых озер Забайкалья / Т.Н. Чагдурова, Л.П. Козырева // Материалы межрегиональной научно-практической конференции «Биология микроорганизмов и их научно-практическое использование», Иркутск: изд-во ИГУ, 2004. – С. 180-181
4. Чагдурова Т.Н. Структура и функциональная активность микробного сообщества содово-соленого озера Соленое (Южное Забайкалье) // Материалы VIII Международной школы-конференции студентов и молодых ученых 24-27 ноября «Экология Южной Сибири и сопредельных территорий», Абакан: изд-во Хакасского государственного университета им. Н.Ф. Катанова, 2004. – Т.1. – С. 147-148
5. Митыпова Т.Н. Аэробные и анаэробные бактерии-деструкторы органического вещества в донных осадках содово-соленых озер Забайкалья / Т.Н. Митыпова, Л.П. Козырева, Б.Б. Намсараев // Вестник Бурятского университета. Серия. 2: Биология. Выпуск 7. – Улан-Удэ: Изд-во БГУ, 2005. – С. 190-193
6. Митыпова Т.Н. Функциональная активность целлюлозоразлагающих бактерий в донных осадках содово-соленого оз. Соленое (Южное Забайкалье) / Т.Н. Митыпова, Л.П. Козырева // Биология – наука XXI века. 9-я Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых.– Пущино, 2005. – С. 18-19
7. Митыпова Т.Н. Гидрохимическая и микробиологическая характеристика оз. Соленое (Южное Забайкалье) / Т.Н. Митыпова, Л.П. Козырева // Материалы 5-й региональной научно-практической конференции 27 апреля «Научный и инновационный потенциал байкальского региона глазами молодежи», Улан-Удэ: изд-во БГУ, 2005. – С.52-55
8. Митыпова Т.Н. Физиолого-биохимическая характеристика аэробных бактерий-деструкторов, выделенных из содовых озер Забайкалья // Актуальные аспекты современной микробиологии. Молодежная школа-конференция 1-3 ноября, Москва. М.: МАКС Пресс, 2005. – С. 45-46
9. Митыпова Т.Н. Сезонные изменения органических веществ в донных отложениях содово-соленого оз. Соленое (Киран) //

- Сборник трудов аспирантов и молодых ученых БГУ. – Улан-Удэ: Изд-во БГУ, 2006. – С. 7-9
10. Митыпова Т.Н. Новые гало- и алкалофильные бактерии, выделенные из содово-соленых озер Забайкалья / Т.Н. Митыпова, Л.П. Козырева, З.Б. Намсараев // Тезисы Всероссийской конференции с международным участием «Биоразнообразие экосистем Внутренней Азии». – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2006. – С.63-64
 11. Митыпова Т.Н. Сравнительная характеристика новых родов облигатно аэробных бактерий из содовых озер Бурятии / Т.Н. Митыпова, Л.П. Козырева, З.Б. Намсараев // Актуальные аспекты современной микробиологии. Молодежная школа-конференция 1-3 ноября, Москва. М.: МАКС Пресс, 2006. – С. 63-64
 12. Митыпова Т.Н. Роль алкалофильных/толерантных и галофильных/толерантных бактерий из содовых озер Забайкалья в деструкции органического вещества / Т.Н. Митыпова, Л.П. Козырева, З.Б. Намсараев // Экология в современном мире: взгляд научной молодежи: тезисы Всероссийской конференции молодых ученых. – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2007. – С. 190
 13. Митыпова Т.Н. Функционирование микробного сообщества оз. Соленое / Т.Н. Митыпова, Л.П. Козырева, В.Б. Дамбаев // Экология в современном мире: взгляд научной молодежи: тезисы Всероссийской конференции молодых ученых. – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2007. – С. 188-189
 14. Митыпова Т.Н. Описание новых облигатно аэробных бактерий, выделенных из содовых озер Бурятии / Митыпова Т.Н., Козырева Л.П., Намсараев З.Б., Намсараев Б.Б. // Сборник трудов научно-практической конференции преподавателей, сотрудников и аспирантов Восточно-Сибирского государственного технологического университета. – Улан-Удэ, 2007. – С. 55-59

Подписано в печать 11.04.07. Формат 60x84 ¹/₁₆.
Усл. печ. л. 1,27. Тираж 100. Заказ 2049

Издательство Бурятского госуниверситета
670000, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, 24а