

3. Демкина Т.С., Борисов А.В., Демкин В.А. Микробиологические исследования подкурганных палеопочв пустынно-степной зоны Волго-Донского междуречья // Почвоведение. 2004. № 7. С. 853-860.
4. Демкина Т.С., Стретович И.В., Демкин В.А. Пространственная изменчивость микробных сообществ современных и погребенных почв в бассейне р. Сакарка (Приволжская возвышенность) // Почвоведение. 2010. № 5. С. 621-631.
5. Демкина Т.С., Борисов А.В., Демкин В.А. Продуцирование CO₂ современными и погребенными почвами степной зоны в нативном и увлажненном состоянии // Почвоведение. 2010. № 9. С. 1108-1113.
6. Каширская Н.Н., Хомутова Т.Э., Демкина Т.С., Демкин В.А. Микробная биомасса подкурганных и современных почв степной зоны Нижнего Поволжья // Почвоведение. 2009. № 5. С. 581-587.
7. Марфенина О.Е., Иванова А.Е., Кислова Е.Е., Зазовская Э.П., Чернов И.Ю. Грибные сообщества почв раннесредневековых поселений таежно-лесной зоны // Почвоведение. 2008. № 7. С. 850-860.
8. Марфенина О.Е., Сахаров Д.С., Иванова А.Е., Русаков А.В. Микробиологические свойства голоценовых и позднплейстоценовых палеогоризонтов и фрагментов палеопочв // Почвоведение. 2009. № 4. С. 469-478.
9. Иванова А.Е., Марфенина О.Е., Кислова Е.Е., Зазовская Э.П. Микробиологические характеристики культурного слоя средневекового поселения на дерново-карбонатных почвах // Почвоведение. 2006. № 1. С. 62-71.
10. Демкина Т.С., Хомутова Т.Э., Каширская Н.Н., Стретович И.В., Демкин В.А. Микробиологические исследования палеопочв археологических памятников степной зоны // Почвоведение. 2010. № 2. С. 213-220.
11. Агроклиматический справочник по Волгоградской области. Л.: Гидрометеорологическое изд-во, 1967. 143 с.
12. Звягинцев Д.Г., Асеева И.В., Бабьева И.П., Мирчик Т.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во МГУ, 1980. 224 с.
13. Каширская Н.Н., Хомутова Т.Э., Дмитриев В.В., Дуда В.И., Демкин В.А. Морфология клеток и биомасса микроорганизмов подкурганных и современных степных почв Нижнего Поволжья // Почвоведение. 2010. № 10. С. 1229-1238.
14. Anderson J.P.E., Domsch K.H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soil // Soil Biol. Biochem. 1978. V. 10. № 3. P. 215-221.
15. Мирчик Т.Г. Почвенная микология: учебник. М.: Изд-во МГУ, 1988. 222 с.
16. Кожевин П.А., Полянская Л.М., Звягинцев Д.Г. Динамика развития различных микроорганизмов в почве // Микробиология. 1979. Т. 48. Вып. 3. С. 490-494.
17. Полянская Л.М., Звягинцев Д.Г. Содержание и структура микробной биомассы как показатель экологического состояния почв // Почвоведение. 2005. № 6. С. 706-714.

БЛАГОДАРНОСТИ: Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 12-06-00272) и Программы фундаментальных исследований Президиума РАН.

Поступила в редакцию 20 сентября 2012 г.

Chernysheva E.V., Kashirskaya N.N., Borisov A.V., Zhuravlev A.N., Demkin V.A. BIOMASS AND MICROBIAL ACTIVITY IN MODERN AND BURIED CHESTNUT SOILS OF LOWER VOLGA REGION

Microbiological studies of paleosols buried under the rampart of Anna Ioannovna (1718–1720 years) and their modern analogies have been carried out. It is found that the microbial communities of buried soils are different from modern a number of characteristics: active microbial biomass, biomass of microscopic fungi, the structure of fungal mycelium and cellulase activity.

Key words: chestnut soils; paleosols; microbial biomass; fungal mycelium; cellulase activity.

УДК 579.852+622.241

МИКРОБИОЛОГИЯ ГЛУБОКИХ ГОРИЗОНТОВ ПУЧЕЖ-КАТУНКСКОЙ ИМПАКТНОЙ СТРУКТУРЫ

© Н.В. Шеховцова, К.А. Первушина, Г.В. Кондакова

Ключевые слова: глубокие скважины; породы; подземные воды; биомаркеры; углеводородокисляющие бактерии.

По содержанию биомаркеров в липидных профилях геологических проб представлено распределение микроорганизмов в пластовых водах и породах Воротиловского выступа Архейского фундамента и его осадочного чехла в общем интервале глубин 1500–4500 м. Обсуждается возможность существования синтрофной ассоциации между углеводородокисляющими родококками и пептолитическими кластридиями.

Микроорганизмы глубоких горизонтов земной коры в нашей стране стали активно изучаться по инициативе В.И. Вернадского с начала XX в. как индикаторы полезных ископаемых [1]. В 1980-х гг. интерес к подземной микробиологии пережил второе рождение. В странах Запада и США появилась необходимость найти способ очистки глубинных вод, загрязненных углеводородами, что заставило обратить внимание на гетеротрофов [2]. Проникновение деятельности человека вглубь земных недр возродило поиск ответа на вопрос о границе подземной части биосферы. Беспрецедентную возможность для этого дала программа «Изучение

недр Земли и сверхглубокое бурение», начатая в нашей стране еще в 1960-х гг. Часть геологических образцов из глубоких и сверхглубоких скважин была изучена с помощью культуральных и изотопных методов в Институте экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН (г. Пермь) под руководством д.г.-м.н. А.А. Оборина. Значимым результатом этих исследований явилось экспериментальное подтверждение того, что микроорганизмы распространены в земной коре до глубины 6840 м [3]. Однако микробиологические исследования сверхглубоких скважин были фрагментарными, а примеры изучения импактных

структур в мире вообще единичны [4]. По этой причине в середине 1990-х гг. ФГУП НПЦ «Недра» инициировало проведение микробиологических исследований в разрезе Воротиловской глубокой научной скважины (ВГС), пробуренной с целью определения происхождения Пучеж-Катунской кольцевой структуры. На первом этапе ими руководили д.г.-м.н. Л.А. Певзнер (ФГУП НПЦ «Недра»), Ярославль и д.б.н., профессор Н.В. Верховцева (ЯрГУ). Задачи включали: 1) определение пределов распространения и характера распределения живых организмов в глубоких горизонтах земной коры; 2) расшифровку структуры и механизма функционирования подземных микробиоценозов; 3) выделение микроорганизмов из проб флюидов и кернов пород, изучение их потенциальной активности, определение их возможных функций в литосфере; 4) разработку критериев дифференциации аборигенных обитателей недр от микроорганизмов, привнесенных с буровым раствором.

Цель настоящей работы – дать обобщенную картину распространения микроорганизмов в глубоких горизонтах Пучеж-Катунской импактной структуры (интервал глубин 1500–4500 м) по результатам анализа биомаркеров, выделить и определить микробиологическими методами происхождение двух доминантных групп микроорганизмов: углеводородокисляющих родококков и пептолитических кластридий.

Основными объектами исследования служили пробы подземных вод и керна материала пород, вскрытых ВГС, пробуренной в Воротиловском выступе Архейского кристаллического фундамента Русско-европейской платформы (75 км севернее г. Н. Новгород), а также породы и подземные воды его осадочного чехла, вскрытые соответственно Высоковской поисковой (ВПС-1) и Медягинской (МС) скважинами.

Воды ВГС происходят из пород кристаллического фундамента, имеют бромный хлоридно-кальциевый состав, азотного класса с гелием и водородом. Их температура с глубиной увеличивается от 32 до 84 °С, pH снижается от 7,65 до 7,05, а минерализация меняется в интервале 79,7–128,5 г/л. Зоны максимальной флюидопроницаемости: 1800–2000 и 3000–3200 м [5].

Воды МС (г. Ярославль) принадлежат осадочному чехлу платформы, являются крепкими хлоридно-натриевыми рассолами азотно-метанового класса. Изученная проба (2100 м) имела температуру *in situ* – 56 °С, pH – 4,95, общую минерализацию – 284 г/л.

Кристаллические породы, вскрытые ВГС, представлены метаморфизованными гнейсами. Нами изучены 3 образца (2475, 2694 и 2805) из интервала глубин 2363–3083 м (температура *in situ* 50 °С) с сильным разуплотнением породы и повышенной аккумуляцией флюидов, содержащих N₂, H₂, CO₂ и углеводородные газы с преобладанием тяжелых гомологов метана. Также изучали образцы 1935 и 3568 более плотных гнейсов из интервалов 1935–1951 м (40 °С) и 3568–3570 м (60–65 °С) с более низким содержанием флюидов того же состава [5].

ВПС-1 пробурена в 3,5 км южнее д. Высокая. Образец песчаника 2358 относится к разуплотненной породе из интервала глубин 2358–2363 м (37 °С). Образцы 2060 и 2574 представлены более плотными аргиллитами, вскрытыми ВПС-1 в интервалах 2060–2073 м (32 °С) и 2574–2580 м (39 °С). В состав газов порового

пространства пород входят N₂, H₂, CO₂ и углеводородные газы, неравномерно распределяющиеся по изучаемым горизонтам [6].

Керн при подготовке к исследованию дробили до порошкообразного состояния, предварительно удалив верхние 2,5 см, с соблюдением правил стерильности. Получение липидных профилей пород и подземных вод, а также реконструкцию микробных сообществ на основе анализа биомаркеров осуществляли согласно ранее описанному методу и алгоритму с помощью различных баз данных о липидных профилях нескольких сотен чистых культур известных бактерий [7]. Для выделения углеводородокисляющих бактерий (УОБ) и пептолитических кластридий использовали разнообразные селективные питательные среды [8–9]. Численность УОБ оценивали методом наиболее вероятного числа, высевая измельченный образец из ряда последовательных десятикратных разведений в минеральную среду Бушнелла-Хааса либо с газообразными (пропан-бутан), либо с жидкими (гексадекан, нефть) углеводородами. Кластридий искали среди анаэробных азотфиксаторов, аммонификаторов, броодильщиков, протеолитических кластридий, численности которых определяли соответственно на средах – пептонно-дрожжевой, с мочевиной и индикатором бромтимоловым синим, углеводо-пептонной [8] и среде для *Clostridium hydroxylbensoicum* [10]. Анализ летучих жирных кислот проводили на газовом хроматографе 5880 фирмы Helwett-Packard (США), качественное определение аминокислот – методом тонкослойной хроматографии.

С целью выделения аборигенных микроорганизмов условия выращивания приближали к естественным по температуре, и по содержанию основных ионов Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ и Cl⁻, поскольку высокая минерализация позволяет ингибировать рост аллохтонных микроорганизмов. Для анализа «аборигенности» микроорганизмов пород посева инкубировали при температуре соответствующего горизонта, а также при 28 и 60 °С для выявления мезофилов и термофилов.

Сравнением реконструированных на основе маркерного анализа микробных сообществ подземных вод, вскрытых МС (2100 м) и ВГС (1500, 2500, 3800 и 4500 м), модельного торфо-гуматного бурового раствора и пород разреза ВГС, поднятых с глубины 2575 и 2805 м, было установлено, что основной обмен органическим веществом и микроорганизмами происходит между буровым раствором и подземными водами. Микробиоценозы пород относительно автономны, в изученном интервале являются сходными (табл. 1) и в своей основе имеют две доминантные группы: р. *Rhodococcus* (30,7 ± 5,54 %) и р. *Clostridium* (36,2 ± 6,02 %). Анализ известных метаболических свойств указанных таксонов и соотнесение их с условиями геосреды позволили предположить существование в породах синтрофной ассоциации из алканотрофных родококков и пептолитических кластридий, способных к росту на смеси аминокислот, являющихся продуктами окисления углеводородов родококками [11].

Впоследствии из гнейсов ВГС 2575 и 2805 было выделено разнообразное углеводородокисляющее микробное сообщество, в состав которого входили не только представители р. *Rhodococcus*, но и р. *Bacillus*, а также неизвестные грамположительные и грамотрица-

тельные бактерии. Количество чистых культур, изолированных из гнейсов, вскрытых ВГС, отражало флюидопроницаемость пород. Так, из образцов 1935, 2694 и 3568 было выделено на четырех питательных средах 3, 7 и 4 штамма соответственно [12].

Достигнутый прогресс в выделении УОБ из кристаллического фундамента определил методологический подход к исследованию осадочных пород, который включал: 1) реконструкцию таксономического состава микробиоценозов на основе анализа жирнокис-

лотных биомаркеров в липидных профилях пород; 2) выявление у идентифицированных микроорганизмов потенциальных свойств, связанных с преобразованием углеродсодержащих соединений в экологических условиях исследуемых горизонтов; 3) выделение микроорганизмов на питательные среды; 4) первичная идентификация полученных изолятов, изучение их адаптивных свойств; 5) сопоставление данных по численности и биоразнообразию культивируемых микроорганизмов с результатами реконструкции микробиоценозов.

Таблица 1

Структура бактериоценозов (%), реконструированных на основе анализа биомаркеров в липидных профилях кристаллических и осадочных пород, вскрытых ВГС и ВПС-1

Группы микроорганизмов	Образцы кристаллических пород				Образцы осадочных пород		
	1935	2575	2805	3568	2060	2358	2574
<i>p. Cyanobacteria</i>	3,2	–	–	1,4	–	–	–
<i>p. Acetobacter</i>	–	1,0	1,8	2,8	0,1	4,6	2,0
<i>p. Acinetobacter</i>	–	3,5	4,7	–	–	–	0,1
<i>p. Agrobacterium</i>	0,1	–	–	0,1	0,02	–	0,4
<i>p. Aeromonas</i>	–	–	–	0,3	0,06	–	–
<i>p. Pseudomonas</i>	0,7	0,6	0,2	10,7	–	1,7	–
<i>p. Sphingobacterium</i>	–	–	–	0,1	0,06	0,1	–
<i>p. Sphingomonas</i>	0,3	0,9	1,7	0,5	0,06	1,2	0,1
сем. <i>Enterobacteriaceae</i>	–	–	–	–	–	0,1	–
<i>p. Bacteroides</i>	–	1,2	3,0	0,5	–	0,8	–
<i>p. Butyrivibrio</i>	18,4	–	–	8,4	–	0,6	1,0
<i>p. Wolinella</i>	–	–	–	–	0,1	4,7	0,5
<i>p. Desulfovibrio</i>	–	2,5	1,7	1,3	0,2	–	0,2
гр. железоредукторов	1,1	–	–	0,5	–	–	–
<i>p. Nitrobacter</i>	5,7	2,2	6,9	8,8	2,1	4,4	0,1
<i>p. Caulobacter</i>	–	3,0	2,8	–	–	–	3,8
<i>p. Capnocytophaga</i>	–	–	0,1	–	–	–	–
<i>p. Cytophaga</i>	–	–	–	–	0,1	–	–
<i>p. Bacillus</i>	2,9	6,8	4,6	1,0	3,3	5,1	7,9
<i>p. Methylococcus/Clostridium</i>	30,0	–	–	27,8	–	–	–
<i>p. Clostridium</i>	8,2	39,1	33,2	7,6	15,5	20,5	25,5
<i>p. Peptostreptococcus</i>	3,0	–	–	–	–	–	–
<i>p. Micrococcus</i>	–	–	–	–	–	0,5	–
<i>p. Staphylococcus</i>	0,8	–	–	1,1	–	–	1,8
<i>p. Actinomyces</i>	–	–	–	–	–	–	9,4
<i>p. Bifidobacterium</i>	3,4	–	–	0,2	–	–	0,01
<i>p. Cellulomonas</i>	1,7	–	–	1,0	–	5,1	–
<i>p. Corynebacterium</i>	–	1,3	1,8	–	39,7	2,9	21,4
<i>p. Eubacterium</i>	–	–	–	0,2	–	–	4,2
<i>p. Propionibacterium</i>	4,1	–	–	–	–	–	2,1
<i>p. Mycobacterium</i>	0,1	–	–	1,1	1,2	4,5	0,9
гр. актиномицетов	–	–	–	11,6	6,5	–	9,2
<i>p. Nocardia</i>	3,5	–	–	2,3	10,1	–	1,9
<i>p. Rhodococcus</i>	11,1	27,6	33,7	8,9	2,5	40,9	4,4
<i>p. Pseudonocardia</i>	1,7	–	–	1,6	3,0	4,2	1,0
<i>p. Micromonospora</i>	–	–	–	–	2,5	–	1,7
<i>p. Streptomyces</i>	–	1,4	1,1	–	–	–	0,1
<i>p. Actinomadura</i>	–	–	–	–	–	1,3	–
ИТОГО, ×10⁶ усл.кл/г	7,23	4,76	7,71	12,68	2,11	24,28	22,3

Примечание: полужирным шрифтом помечены микроорганизмы, способные окислять углеводороды.

Таблица 2

Некоторые физические и микробиологические параметры, связанные с потоком флюидов в осадочных породах, вскрытых ВПС-1

Параметры	Образцы пород		
	Аргиллит 2060	Песчаник 2358	Аргиллит 2574
Температура, °С	32	37	39
Пластовое давление, атм	228,4	253,8	191,3
Содержание $C_{орг.}$ % на породу	2,39	0,12	0,15
Открытая пористость по керосину, %	6,0	21,2	5,9
Газопроницаемость, мД	0,458	49,6	5,62
Количество алканотрофов, кл/г породы в среде с пропаном, бутаном	–	–	–
в среде с пропаном	$7,5 \cdot 10^1$	$9,5 \cdot 10^2$	$1,5 \cdot 10^2$
в среде с гексадеканом	$4,5 \cdot 10^3$	$7,5 \cdot 10^5$	$4,0 \cdot 10^4$
рассчитанное на основе анализа биомаркеров в липидных профилях пород	$1,5 \cdot 10^7$	$1,5 \cdot 10^7$	$1,3 \cdot 10^7$
Доля культивируемых УОБ, %	0,03	5,0	0,3

Примечание: «–» – не определяли.

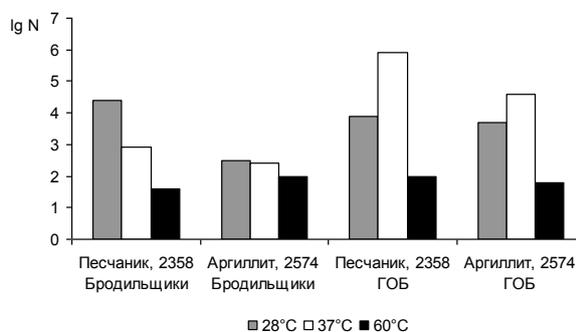


Рис. 1. Изменение численности бродильщиков и гексадеканокисляющих бактерий (ГОБ) при разных температурах выделения

Результаты, представленные в табл. 1, показывают, что УОБ доминируют не только в кристаллических, но и осадочных породах: в целом из 38 родов бактерий, идентифицированных маркерным анализом, 20, по литературным данным [8–9, 13–14], способны окислять углеводороды. Из осадочных пород, вскрытых ВПС-1 (2060, 2359 и 2574), было выделено 7, 7 и 6 культур алканотрофных и гексадекан-окисляющих микроорганизмов. Результаты определения численности УОБ осадочных пород с помощью питательных сред представлены в табл. 2. Соотнесение их с данными маркерного анализа позволяет сделать вывод о том, что доля

культивируемых УОБ в общем пуле микроорганизмов соответствует газопроницаемости пород, а не другим показателям их плотности.

В бактериоценозах пород (табл. 1) бродильщики были представлены, в основном, строгими анаэробами р. *Clostridium*, факультативными анаэробами родов *Bacillus* и *Corynebacterium*, а также другими бесспорными грамположительными и некоторыми грамотрицательными бактериями. Однако попытки выделить бактерий р. *Clostridium* из кристаллических пород оказались безуспешными. В осадочных породах численность бродильщиков, определенная с помощью углеводородной среды при 37 °С, была одного порядка и равнялась $8,0 \cdot 10^2$ и $2,5 \cdot 10^2$ кл/г породы в песчанике 2358 и аргиллите 2574 соответственно. Массовые доли бактерий с бродильным типом метаболизма в реконструированных бактериоценозах песчаника 2358 и аргиллита 2574 существенно различались и составили 30 и 78 % соответственно (табл. 1).

Отношение выделенных из осадочных пород микроорганизмов к температуре *in situ* (37 °С) свидетельствует, что УОБ являются аборигенной экологотрофической группой, в то время как бродильщики – скорее аллохтонной (рис. 1).

Полученный вывод согласуется и с распределением маркеров бактерий р. *Clostridium* в глубинных подземных водах, вскрытых ВГС (табл. 3). Так, массовая доля бактерий *C. putrificum* в микробоценозах горизонтов с пониженным водообменом снижается по мере увеличения глубины с 30 до 10 %, а *C. propionicum* – с 3,4 до 0,1 % в интервале 1500–4500 м. В то же время массовые доли этих видов в реконструированном микробоценозе бурового раствора составляют 28 и 2 % соответственно, что свидетельствует о контаминации подземных вод буровым раствором. Маркеры актинобактерий р. *Rhodococcus* в буровом растворе не были обнаружены, а в пластовых водах ВГС появлялись спорадически, поэтому говорить о существовании каких бы то ни было трофических связей в микробных сообществах пластовых вод приходилось на основе ранее сформулированной прогностической концепции [15]. Представителей рода *Clostridium* искали среди анаэробных азотфиксаторов, аммонификаторов и бродильщиков (табл. 4).

Изучение возможности существования синтрофной группировки *Rhodococcus* – *Clostridium* в подземных водах заставило обратить внимание в стволе ВГС на зоны с повышенным водопритоком – 1900 и 3200 м (табл. 3). По данным анализа биомаркеров микробные ценозы подземных вод из этих зон отличаются большим микробным разнообразием по сравнению с прочими исследованными глубинами (1500, 2500, 3800 и 4500 м). Влияние бурового раствора на состав микробоценозов здесь выражено значительно меньше. Во флюидах с глубины 1900 м идентифицировано 27 видов бактерий, с глубины 3200 – 26 видов, но только 11 из них обнаружены также и в буровом растворе. Основную долю составляют бактерии р. *Clostridium*: 59 % – 1900 м и 52 % – 3200 м. Из семи идентифицированных видов этого рода пять были встречены только в водах и отсутствовали в буровом растворе. Постоянными членами сообщества становятся родококки, их массовая доля составляет в среднем около 8 %.

Состав микробиоты в пробах подземных вод ВГС (%)*

Род, вид	Глубина, м				Буровой раствор	Глубина, м	
	1500	2500	3800	4500		1900	3200
1. <i>Ancylobacter</i> sp.	–	0,5	0,4	0,5	2,4	–	–
2. <i>Acetobacter diazotrophicus</i>	8,1	4,6	1,7	6,4	21,6	2,2	1,5
3. <i>Acinetobacter</i> sp.	–	6,2	0,9	1,5	2,1	0,1	0,7
4. <i>Alcaligenes</i> sp.	–	0,1	0,3	0,6	–	–	–
5. <i>Methylomonas</i> sp.	13,3	13,2	9,5	14,7	4,0	1,0	–
6. <i>Pseudomonas putida</i>	–	0,6	–	–	–	0,1	–
7. <i>Psychrobacter immobilis</i>	–	–	–	–	–	3,7	0,1
8. <i>Sphingomonas capsulata</i>	–	2,3	1,7	2,6	2,1	–	0,1
9. <i>Xanthomonas</i> sp.	–	–	–	–	–	0,1	1,0
10. <i>Aeromonas hydrophila</i>	–	–	–	–	–	1,1	–
11. <i>Desulfovibrio</i> sp.	–	–	–	–	–	–	0,2
12. <i>Nitrobacter</i> sp.	0,6	–	–	2,2	–	7,2	1,3
13. <i>Caulobacter</i> sp.	–	–	–	–	–	1,0	–
14. <i>Cytophaga</i> sp.	0,7	0,8	–	1,1	7,1	–	0,2
15. <i>Bacillus subtilis</i>	–	–	–	–	–	0,1	0,4
16. <i>Bacillus/Cellulomonas</i>	1,1	1,5	0,9	0,3	4,4	0,5	1,7
17. <i>B.hypermegas/Selenomonas</i>	–	–	–	–	–	–	0,2
18. <i>Clostridium</i> sp.	–	–	–	–	–	24,1	30,1
19. <i>C. beijerinckii</i>	–	–	–	–	–	4,0	2,7
20. <i>C. butyricum</i>	–	–	–	–	–	12,7	–
21. <i>C. difficile</i>	–	0,4	–	0,2	–	–	0,4
22. <i>C. perfringens</i>	–	–	–	–	–	16,7	1,0
23. <i>C. putrificum</i>	33,3	25,0	21,0	10,1	27,9	–	17,5
24. <i>C. propionicum</i>	3,4	3,3	0,8	0,1	1,9	1,3	–
25. <i>Butyrivibrio</i> sp.	–	–	–	–	–	–	0,6
26. <i>Arthrobacter</i> sp.	1,7	–	1,7	1,4	15,9	–	–
27. <i>Corynebacterium</i> sp.1	1,7	0,8	1,7	1,0	3,0	1,6	2,8
28. <i>Corynebacterium</i> sp.2	1,4	–	36,0	53,4	–	–	–
29. <i>Mycobacterium</i> sp.	–	–	–	–	–	5,5	6,2
30. <i>Nocardia</i> sp.	–	0,6	0,1	0,3	0,1	0,4	2,9
31. <i>Nocardia asteroides</i>	–	–	–	–	–	2,7	–
32. <i>Rhodococcus terrae</i>	12,9	17,7	–	0,5	–	0,4	1,7
33. <i>Rhodococcus rhodochrous</i>	–	–	–	–	–	3,1	1,0
34. <i>Rhodococcus equi</i>	–	–	–	–	–	5,3	4,1
35. <i>Pseudonocardia</i> sp.	–	–	–	–	–	0,5	0,7
36. <i>Micromonospora</i> sp.	–	–	–	–	–	0,5	0,8
37. <i>Streptomyces</i> sp.	–	–	–	–	–	0,1	–
38. <i>Nocardiopsis</i> sp.	–	1,0	–	–	0,2	–	–
39. <i>Thermomonospora</i> sp.	2,7	4,0	3,8	2,1	4,4	–	–
40. <i>Thermoactinomyces</i> sp.	3,0	3,4	2,7	1,0	2,9	1,8	19,5
Fungi	–	–	–	–	–	2,0	–
Не определен	16,0	14,0	17,0	–	–	0,2	0,8

Примечание: * – за 100 % принято общее количество кл/мл пробы; «–» – отсутствует.

С помощью классических микробиологических методов нами был выделен штамм *Rhodococcus* sp., который оказался способен использовать в качестве источника углерода и энергии высшие газообразные гомологи метана и жидкие n-алканы [16]. При выращивании данного штамма на питательной среде с гексадеканом в качестве единственного источника углерода и энергии в среде культивирования накапливались аминокислоты, качественный анализ которых показал наличие фенилаланина и лейцина.

Далее были обнаружены кластридии, способные расти на питательных средах, содержащих в качестве источника углерода и энергии смеси различных аминокислот, в т. ч. фенилаланин и лейцин (табл. 4). Вместе с тем следует учесть, что лишь незначительное количество представителей р. *Clostridium* из изученных подземных вод способно расти на смеси чистых аминокислот. Видимо, большая часть представителей этого рода, идентифицированных по биомаркерам, осуществляет иные метаболические пути.

Таблица 4

Численность микроорганизмов в подземных водах ВГС в зонах с различной проницаемостью вмещающих пород в сравнении с водами МС*, кл/мл

Глубина, м	Температура выделения, °С	Анаэробные азотфиксаторы	Аммоний- фиксаторы	Клостридии (рост на АК)	Бродильщики	УОБ, выделенные на среде с источником углерода и энергии:		
						нефть	гексадекан	пропан: бутан
2100*	56	0	10 ⁰	–	10 ⁰	–	–	–
1500	28	10 ⁰	10 ¹	–	0	–	–	–
1900	32	–	–	10 ³	–	10 ¹	10 ¹	+
2500	60	10 ⁰	10 ¹	–	10 ⁰	–	–	–
3200	60	–	–	10 ⁰	–	10 ²	10 ¹	0
3800	60	0	10 ¹	–	10 ¹	–	–	–
4500	80	0	10 ⁰	–	10 ⁰	–	–	–

Примечание: «–» – нет данных.

В целом полученные результаты не опровергают возможности существования синтрофной ассоциации между алканотрофными родококками и пептолитическими клостридиями. Однако среди выделенных микроорганизмов нет специалистов, а аминокислоты могут быть источниками поддержания роста и консервации и для других членов подземных микробоценозов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Добровольский В.В. Основы биогеохимии. М.: Издат. центр «Академия», 2003. 400 с.
2. The Microbiology of the Terrestrial Deep Subsurface / ed. by P.S. Amy, D.L. Haldeman, N. Y. [etc.]: Lewis Publishers, 1997. 356 p.
3. Иларионов С.А., Оборин А.А., Селезнев И.А. Микробиологическое исследование образцов керна Тюменской сверхглубокой скважины // Научное бурение в России. Пермь: Кам. НИИКИГС, 1996. Вып. 4. 376 с.
4. Pedersen K. Microbial life in deep granitic rock // FEMS Microbiol. Rev. 1997. V. 20. P. 399-414.
5. Глубокое бурение в Пучеж-Катунской импактной структуре. СПб.: ВСЕГЕИ, 1999.
6. Высоковская поисковая скважина ВСК 99: Отчет о НИР/ФГУП НПЦ Недр. Ярославль, 2001. 615 с.
7. Турова Е.С., Осипов Г.А. Изучение микробного сообщества, ответственного за трансформацию минералов железа в каолине // Микробиология. 1996. Т. 65. № 5. С. 25-28.
8. Кузнецов С.И., Дубинина Г.А. Методы изучения водных микроорганизмов. М.: Наука, 1989. 285 с.
9. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: МГУ, 1991. 304 с.
10. Zhang X., Mandelco L., Wiegel J. Clostridium hydroxybenzoicum sp. nov., an amino acid-utilizing, hydroxybenzoate-decarboxylating bacterium isolated from methanogenic freshwater pond sediment // Int. J. Syst. Bacteriol. 1994. V. 44. P. 214-222.
11. Шеховцова Н.В., Певзнер Л.А., Верховцева Н.В., Кондакова Г.В., Осипов Г.А. Проблема биоразнообразия в комплексном монито-

ринге глубоких горизонтов земной коры // Научные аспекты экологических проблем в России: тр. Всерос. конф. СПб.: Гидрометиздат, 2002. Т. 2. С. 194-199.

12. Шеховцова Н.В., Яковлев М.Ю., Осипов Г.А., Турова Т.П. Биоразнообразие микроорганизмов в кристаллических породах Пучеж-Катунской импактной структуры // Вестник ОГУ. 2007. № 75. Спец. выпуск. Ч. 2. С. 420-422.
13. Оборин А.А., Стадник Е.В. Нефтегазописковая микробиология. Екатеринбург: УрО РАН, 1996. 407 с.
14. Назина Т.Н., Беляев С.С. Биологическое и метаболическое разнообразие микроорганизмов нефтяных месторождений // Тр. Института микробиологии им. С.Н. Виноградского. М.: Наука, 2004. Вып. 12. С. 289-316.
15. Верховцева Н.В., Шеховцова Н.В., Кондакова Г.В., Рыжикова И.А., Родионова Т.А. Структурные группы биоценоза подземной биосферы // Разведка и охрана недр. 1996. № 7. С. 37-39.
16. Кондакова Г.В., Богатова Н.А. Углеродородоксилирующие бактерии глубоководных вод литосферы // Структура, вещество, история литосферы Тимано-Североуральского сегмента: инф. материалы 12 науч. конф., 5–7 дек. 2003 г. Сыктывкар, 2003. С. 126-128.

Поступила в редакцию 25 сентября 2012 г.

Shekhovtsova N.V., Pervushina K.A., Kondakova G.V. MICROBIOLOGY OF DEEP LAYERS OF PUCHEZH-KATUNSKI IMPACT STRUCTURE

According to biomarkers content in geologic samples the distribution of microorganisms within underground waters and rocks of Vorotilov pit in Archean crystalline basement and its sedimentary cover into common interval of depths 1500–4500 m is presented. The possibility of existence of the syntrophic association between hydrocarbon oxidizing rhodococci and peptolitic clostridia is discussed.

Key words: deep wells; rocks; underground waters; biomarkers; hydrocarbon oxidizing bacteria.