

МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА ПРИРОДНОГО ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА ИЗ ПОТОКА РАССЕЯНИЯ ВЫСОКОСУЛЬФИДНОГО ХВОСТОХРАНИЛИЩА

А.С. Розанов^{1,2}, И.Н. Мягкая², Н.И. Еришов¹, Б.Ю. Сарыз-оол², М.А. Густайтис², А.А. Шипова¹, В.С. Ушаков¹, Е.В. Лазарева², С.Е. Пельтек¹

¹Институт цитологии и генетики СО АРН, Новосибирск, Россия

²Институт геологии и минералогии им. В.С. Соболева СО АРН, Новосибирск, Россия

Природное органическое вещество (торф, почва и др.) считается превосходным геохимическим барьером, интенсивно аккумулирующий различные элементы от тяжелых до благородных металлов [Lazareva et al., 2019], что позволяет использовать вещество в качестве агента для предотвращения экологической опасности вызванной воздействием кислых дренажных растворов на окружающую среду [Parviainen et al., 2014] и для концентрирования благородных металлов с перспективой будущего извлечения [Kuimova et al., 2011].

Кислые среды со значениями pH <5 (например, почвы и некоторые водоемы) широко распространены в литосфере. Однако сильнокислые (pH <3) среды встречаются гораздо реже. Это могут быть природные или антропогенные экосистемы, имеющие литотрофное происхождение. Ацидофилы встречаются среди представителей всех доменов дерева жизни [Johnson & Quatrini-Nyqvist 2016]. К чрезвычайно ацидофильным прокариотам относятся представители альфа-протеобактерий, бета-протеобактерий и гамма-протеобактерий, а также несколько видов класса ацидитиобациллий. Другие граммотрицательные ацидофилы являются представителями значительно дивергированных типов: Nitrospirae (*Leptospirillum* spp.), Aquificae и Verrucomicrobia. Грамположительные экстремальные ацидофилы встречаются среди представителей типов, Actinobacteria и Firmicutes, и включают некоторых из наиболее метаболически разносторонних из всех экстремофильных прокариот. В Домене Archaea экстремальные ацидофилы обнаружены среди Euryarchaeota (который включает *Picrophilus* spp., наиболее ацидофильные из всех известных в настоящее время форм жизни) и Crenarchaeota (в основном термоацидофильные). Экстремальные ацидофилы также можно найти во многих ветвях Eukarya, включая грибы, зеленые и красные водоросли и диатомовые водоросли, амёбы, жгутиконосцы и инфузории [Aguilera et al., 2016]. В экстремально кислых средах как естественного, так и антропогенного происхождения видовое разнообразие значительно ниже, чем в средах с нормальными условиями. Независимо от конкретного типа среды обитания, относительно небольшое количество видов бактерий и архей составляют большую часть кислых микробиомов. различных преобладающих ацидофилов варьируются в зависимости от конкретного сообщества [Teng et al., 2017].

Урское хвостохранилище сформировано среди жилого поселка (Кемеровская область, п. Урск) и сложено отходами цианирования первичных высокосульфидных полиметаллических руд и руд зоны окисления Ново-Урского месторождения. Вещество отходов не закреплено никаким образом и более 80 лет сносится в нижележащий заболоченный лог, где происходит длительное взаимодействие природного органического вещества со снесенными отходами и дренажными высокоминерализованными водами, формирующимися счет окислительного выщелачивания отходов [Myagkaya et al., 2016]. Урское хвостохранилище представляется прекрасным модельным объектом, на котором *in situ* показано аутигенное образования минералов (сульфаты: гипс, ярозит, барит, англезит; гидроксиды Fe(III); вторичные алюмосиликаты; сульфиды Fe: фрамбоидальный пирит; сульфиды Zn: группа сфалерита; сульфиды Hg: метацинабарит с разным количеством Ag, Zn, Cu, Se, I, P и др.; селениды Hg: тиманнит; йодиды Ag: йодаргирит; самородное Au) в природном органическом веществе, взаимодействующем с Al-Fe-SO₄ дренажным раствором [Myagkaya et al., 2020], связанное с концентрированием соответствующих элементов (11700 г./т Hg, 41300 г./т Zn, 6060 г./т Se, 155 Au г/т, 534 Ag г/т, 416 г./т I). Эти процессы преимущественно наблюдались в части потока рассеяния, покрытой отходами руд зоны окисления. Природное органическое вещество потока рассеяния сложно отнести к классическому торфу, поскольку зольность из-за техногенной нагрузки у вещества выше 20 %, положенных таковым (21.3–96.9 %) [Lazareva et al., 2019].

В потоке рассеяния местами сохранились неразложившиеся под действием дренажных вод и отходов болотные кочки (остатки кочек осоки), а также пни деревьев. В результате были сформированы экологические ниши, в которых присутствует вещество с ярко выраженным литотрофным происхождением которое взаимодействует с поверхностным органическим материалом. В современной экосистеме такие условия формируются достаточно редко [Hedrich & Schippers 2016], населяющие их микробные сообщества представляют значительный интерес как с точки зрения метаболизма литотрофных микроорганизмов, так и с точки зрения филогении микроорганизмов и поиска новых видов. Кроме того, в природном органическом веществе были ранее зафиксированы клетки микроорганизмов, покрытые Hg-содержащими минералами [Myagkaya et al., 2020]. Знание об особенностях микробного сообщества этого природного органического вещества позволит понять природу процессов концентрирования и аутигенного образования этих минералов.

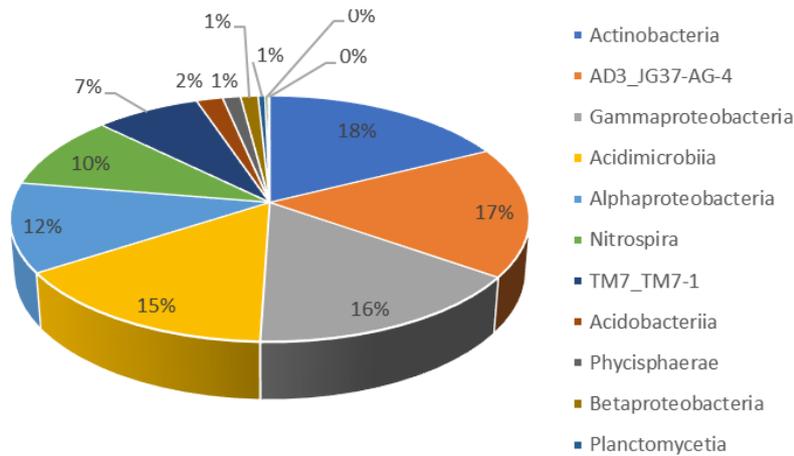


Рисунок 1. Содержание микроорганизмов в микробном сообществе в природном органическом веществе из области потока рассеяния, покрытой отходами руд зоны окисления Урского хвостохранилища, по данным 16S рРНК ген направленного метагеномного анализа

В ходе экспедиционной работы в июле 2019 года для изучения микробных сообществ в веществе потока рассеяния Урского хвостохранилища отобрано природное органическое вещество из части потока рассеяния, которая покрыта отходами руд зоны окисления. Из полученных образцов была выделена суммарная ДНК которая была использована для амплификации фрагмента гена 16S рРНК при помощи праймеров U341F (5'-CCTACGGGRSGCAGCAG-3') и U806R (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3') [Rožanov et al., 2014].

Для получения библиотек генов с наименьшим смещением численности была использована

фьюжен полимеразы Q5 (NewEnglandBiolabs) и низкая температура отжига праймеров. Баркодированные библиотеки получали в ходе второго раунда ПЦР с использованием праймеров с довесками, содержащими технические последовательности и восьмибуквенные баркоды. Секвенирование было выполнено в Лаборатории геномики ИМКБ СО РАН на приборе Illumina MiSeq с использованием набора TG MiSeq Reagent Kit v3 (600 cycle). Секвенированные риды были автоматически разделены по баркодам.

Парные прочтения, полученные в ходе секвенирования библиотек 16S rRNA были обработаны с помощью платформы QIIME2 v. 2020.2 (<https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>). Удаление шума, объединение парных прочтений и конструирование OTUs выполнялось по алгоритму DADA2. Для таксономической классификации OTUs использовался классификатор scikit-learn, обученный на фрагментах 16S рРНК базы данных Greengenes v. 13.8, ограниченных использованными праймерами.

В сообществе значительную долю (рис. 1) занимают представители следующих типов Actinobacteria 18%, Gammaproteobacteria 16%, Acidimicrobiia 15%, Alphaproteobacteria 12% и Nitrospira 10%. Также значительную долю занимают представители двух кандидатных типов не имеющих культивируемых представителей это AD3_JG37-AG-4 17% и TM7_TM7-1 7%. Кроме не культивируемых типов в сообществе выявлены и другие мало изученные виды бактерий.

Таким образом можно заключить, что изученное сообщество имеет достаточно необычную структуру и включает представителей двух малоизученных типов бактерий, описанных только по данным метагеномного анализа.

Работа проведена в «ЦКП Многоэлементных и изотопных исследований ИГМ СО РАН» и «Лаборатории молекулярных биотехнологий ИЦиГ СО РАН» при поддержке гранта РФФИ 18-77-10056.

ЛИТЕРАТУРА

- Aguilera A, Olsson S, Puente-Sánchez F: Physiological and phylogenetic diversity of acidophilic eukaryotes. In *Acidophiles: Life in Extremely Acidic Environments*. Edited by Quatrini R, Johnson DB. Caister Academic Press; 2016:107–118
- Hedrich, S., & Schippers, A. (2016). Distribution of acidophilic microorganisms in natural and man-made acidic environments. *Acidophiles: Life in Extremely Acidic Environments*, 153–175.
- Johnson, D.B., & Quatrini-Nyqvist, R.C. (2016). *Acidophile Microbiology in Space and Time*.
- Kuimova N.G., Pavlova L.M., Sorokin A.P., Noskova L.P., Sergeeva A.G. (2011). Experimental modeling of gold concentrating processes in peat. *Litosfera* 4, 131–136.
- Lazareva E.V., Myagkaya I.N., Kirichenko I.S., Gustaitis M.A., Zhmodik S.M. (2019). Interaction of natural organic matter with acid mine drainage: *In-situ* accumulation of elements. *Science of the Total Environment* 660, 468–483.
- Myagkaya I.N., Lazareva E.V., Gustaitis M.A., Zhmodik S.M. (2016). Gold and silver in a system of sulfide tailings. Part 1: Migration in water flow. *Journal of Geochemical Exploration* 160, 16–30.
- Myagkaya I.N., et al. (2020). Interaction of natural organic matter with acid mine drainage: Authigenic mineralization (case study of Ursk sulfide tailings, Kemerovo region, Russia). *Journal of Geochemical Exploration* 211, 106456.
- Parviainen A. et al. (2014). Pre-mining acid rock drainage in the Talvivaara Ni–Cu–Zn–Co deposit (Finland): Natural peat layers as a natural analog to constructed wetlands. *Journal of Geochemical Exploration* 143, 84–95.
- Rožanov, A.S. et al. (2014). Molecular analysis of the benthos microbial community in Zavarzin thermal spring (Uzon Caldera, Kamchatka, Russia). *BMC genomics*, 15(12), S12.
- Teng, W., Kuang, J., Luo, Z., & Shu, W. (2017). Microbial diversity and community assembly across environmental gradients in acid mine drainage. *Minerals*, 7(6), 106.