

УДК 579.26:57.083.18

DOI: 10.17072/1994-9952-2020-4-312-320.

А. А. Пьянкова^а, Д. И. Усанина^б, В. С. Алеев^б, С. М. Блинов^б, Е. Г. Плотникова^{а,б}

^а Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

^б Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РУДНИКА ВЕРХНЕКАМСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ СОЛЕЙ (ПЕРМСКИЙ КРАЙ)

Из глинистых отложений рассолоотводящих выработок и рассолоборников рудника Верхнекамского месторождения солей (Пермский край) было выделено 29 штаммов галофильных/галотолерантных бактерий. В результате филогенетического анализа, проведенного на основе сравнения последовательностей гена 16S рРНК, было установлено, что выделенные культуры являются представителями классов *Gammaproteobacteria* (семейств *Halomonadaceae* и *Salinisphaeraceae*) и *Bacilli* (семейства *Bacillaceae*). Три галофильных штамма SHV2, RV14 и SWV1 имели сходство с ближайшим типовым штаммом вида *Salinisphaera hydrothermalis* на уровне 95.94–96.62% (ген 16S рРНК), что указывает на принадлежность этих штаммов к новому таксону. Большинство выделенных бактерий семейств *Halomonadaceae* и *Bacillaceae* являются экстремофилами: растут при pH 9–10 и высокой солености среды (до 250–270 г/л NaCl). У двух галофильных штаммов рода *Halomonas* обнаружена способность к деструкции салициловой и бензойной кислот (продуктов разложения полиароматических соединений), что делает их перспективными для использования в биотехнологиях восстановления загрязненных территорий с высоким уровнем минерализации.

Ключевые слова: Верхнекамское месторождение солей; галофильные и галотолерантные бактерии; гены 16S рРНК.

A. A. Pyankova^a, D. I. Usanina^b, V. S. Aleev^b, S. M. Blinov^b, E. G. Plotnikova^{a,b}

^a Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch RAS, Perm, Russian Federation

^b Perm State University, Perm, Russian Federation

CHARACTERISTICS OF BACTERIA ISOLATED FROM THE MINER OF THE VERKHNKAMSKY SALT DEPOSIT (PERM KRAI)

29 strains of halophilic/halotolerant bacteria were isolated from clay deposits of brine-diverting workings and brine pits of the mine of the Verkhnekamsky salt deposit (Perm krai). As a result of phylogenetic analysis based on a comparison of the 16S rRNA gene sequences, it was found that the isolated cultures are representatives of the classes *Gammaproteobacteria* (*Halomonadaceae* and *Salinisphaeraceae* families) and *Bacilli* (family *Bacillaceae*). Three halophilic strains SHV2, RV14, and SWV1 were similar to the closest type strain of the *Salinisphaera hydrothermalis* species at the level of 95.94-96.62% (16S rRNA gene), which indicates that these strains belong to a new taxon. Most of the isolated bacteria of the families *Halomonadaceae* and *Bacillaceae* are extremophiles: they grow at pH 9-10 and high salinity (up to 250-270 g/L NaCl). Two halophilic strains of the genus *Halomonas* have been found to degrade salicylic and benzoic acids (decomposition products of polyaromatic compounds), which makes them promising for use in biotechnologies for the restoration of contaminated areas with a high level of mineralization.

Key words: Verkhnekamsky salt deposit; halophilic and halotolerant bacteria; 16S rRNA genes.

Верхнекамское месторождение солей (ВКМС) является одним из крупнейших в мире. На территории Пермского края с 1934 г. ведутся интенсивные работы по разработке и промышленной добыче калийных, калийно-магниевого и натриевых солей. В результате воздействия огромного количества отходов калийных предприятий происходит засоление почв, поверхностных и подземных вод,

что способствует формированию на территории солеразработок специфических условий для выживания растений и микроорганизмов.

Ранее, из наземных экотопов (засоленных почв, грунтов, водоемов, отходов производства), а также из соляных пород (каменной соли, карналлита) ВКМС были выделены и охарактеризованы галофильные и галотолерантные бактерии и археи раз-

личных таксономических групп [Yastrebova et al., 2009; Корсакова и др., 2013, 2017; Карташова и др., 2017; Кашапова и др., 2018; Ястребова, Корсакова, Плотникова, 2018; Пьянкова, Кашапова, Плотникова, 2019]. Описаны новые таксоны бактерий, выделенных из техногенных вод шламохранилищ и продуктов обогащений калийных руд [Ананьина и др., 2007; Plotnikova et al., 2011; Реутских, Саралов, 2012]. Кроме того, обнаружено, что некоторые бактериальные штаммы способны к разложению ряда органических загрязнителей окружающей среды, таких как фталаты [Ястребова, Пьянкова, Плотникова, 2019], нафталин [Ананьина, и др., 2011], бифенил и хлорбифенилы [Егорова и др., 2018], что указывает на возможность их использования при разработке новых технологий восстановления загрязненных/засоленных почв и водоемов. В настоящее время продолжаются работы по изучению разнообразия бактерий в микробных сообществах района солеразработок ВКМС.

Цель работы – выделение галофильных/галотолерантных микроорганизмов из донных отложений рассолоотводящих выработок и рассолоборников рудника ВКМС (Пермский край), их таксономическая и эколого-физиологическая характеристика.

Материалы и методы исследования

Образцы для исследований. Для выделения микроорганизмов были использованы образцы глинистых донных отложений, отобранные из рассолоотводящих выработок и рассолоборников в одном из рудников ВКМС (г. Соликамск, Пермский край). В образцах водных вытяжек глинистых осадков были определены значения pH и общее содержание водорастворимых солей [Практикум ..., 2001].

Для выделения микроорганизмов использован метод накопительного культивирования в богатой среде Раймонда (БСР). Для приготовления БСР в минеральную среду Раймонда (МСР) [Raumond, 1961] добавляли триптон (5 г/л), дрожжевой экстракт (2.5 г/л) и хлорид натрия (100, 150 и 200 г/л). Для получения накопительных культур в колбы со 100 мл БСР, содержащей разные концентрации соли, добавляли 1 г глины. Культивирование проводили на шейкере при 100 об./мин. в течение 3 недель, после чего осуществляли высев суспензии на агаризованную БСР (15 г/л агара) с содержанием 150 г/л NaCl. Отдельные колонии микроорганизмов, отличавшихся по морфологии, были отобраны для дальнейших исследований.

ДНК-типирование чистых культур бактерий проводили методом ВОХ-ПЦР [Versalovic et al., 1994]. Для визуализации ПЦР-продуктов проводи-

ли электрофорез в горизонтальном агарозном геле (2.0%) в буфере TBE x 1 (Трис – 10.8 г/л, борная кислота – 5.5 г/л, 0.5M ЭДТА – 4 мл, вода дистиллированная – 79.7 мл/л) при комнатной температуре, напряжении 5–15 В/см в течение 1.5 ч. Агарозные гели окрашивали раствором бромистого этидия (0.5 мкг/мл) в течение 5–10 мин. и фотографировали в УФ-свете с помощью системы гель-документирования BioDocAnalyze («Bio-Rad Laboratories», США). Для определения размеров фрагментов использовали маркер длин ДНК 100+ bp DNA Ladder («Евроген», Россия).

Идентификацию бактерий осуществляли на основе анализа гена 16S рРНК. Для выделения ДНК из чистых культур бактерий использовали метод «щелочного лизиса». Амплификацию фрагмента гена 16S рРНК проводили с универсальными бактериальными праймерами 27F и 1492R [Lane, 1991] на амплификаторе C1000 Touch™ Thermal Cycler («Bio-Rad Laboratories», США). Определение нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК было осуществлено с использованием праймера 27F и применением набора реактивов Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit на автоматическом секвенаторе Genetic Analyser 3500XL («Applied Biosystem», США) в Пермском государственном национальном исследовательском университете (кафедра ботаники и генетики растений). Филогенетический анализ полученных нуклеотидных последовательностей размером 871–952 п.н. проводился с использованием программ Sequence Scanner v. 2.0. MEGA 7.0 [<http://www.megasoftware.net>]. Поиск гомологичных последовательностей осуществлялся с помощью базы данных EzBioCloud [<http://www.ezbiocloud.net>]. Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей и построение филогенетических деревьев проводили с использованием программы MEGA 7.0. При построении филогенетических деревьев применяли кластерный метод «neighbor-joining». Оценку статистической достоверности ветвления («bootstrap»-анализ) проводили на основе 1000 альтернативных деревьев.

Изучение физиологических свойств бактериальных штаммов. Устойчивость выделенных бактерий к различным концентрациям хлорида натрия оценивали по появлению и размеру колоний при росте на агаризованной БСР с содержанием соли от 10 до 300 г/л. Оценку роста колоний проводили через две недели культивирования.

Рост бактерий при разных значениях pH определяли при концентрации 70 г/л NaCl в буферных системах, приготовленных на основе БСР. Штаммы культивировали на агаризованной среде БСР при pH 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0. Рост учитывали на 7-й день культивирования [Методы ..., 1983].

Для оценки роста при разных температурах штаммы культивировали на агаризованной БСР (70 г/л NaCl) при +4, 28, 35, 40 и 45°C. Рост учитывали на 7-й день культивирования.

Способность бактерий разлагать ароматические углеводороды оценивали путём культивирования в жидкой минеральной среде Раймонда (МСР) (70 г/л NaCl) с добавлением бензойной и салициловой кислот (1 и 0.5 г/л, соответственно) в качестве единственного источника углерода и энергии. Рост оценивали при определении оптической плотности культуры (ОП₆₀₀) на спектрофотометре UV-Visible BioSpec-mini («Shimadzu», Япония) на 7-й день культивирования.

Результаты и их обсуждение

Выделение чистых культур бактерий

Химический анализ водной вытяжки глинистых осадков показал, что образцы имеют высокое содержание водорастворимых солей – от 41 до 244 г/кг сухого грунта. Водородный показатель вытяжки в основном имеет значения, близкие к нейтральному рН~6.0–7.6, за исключением более щелочной пробы из рассолосборника 2 с рН 8.8 (табл. 1).

Таблица 1

Содержание водорастворимых солей и рН в образцах глинистых донных отложений

Место отбора	Дата отбора	Сумма водорастворимых солей, г/кг	рН
Рассолоотводящая выработка 1	25.06.2019 (глина рыжая)	72	6.9
	25.06.2019 (глина бурая)	41	6.8
	01.10.2019	63	7.6
Рассолоотводящая выработка 2	25.06.2019	46	6.9
	01.10.2019	244	7.4
Рассолосборник 1	25.06.2019	52	6.6
	01.10.2019	238	6.7
Рассолосборник 2	01.10.2019	226	8.8

Из высокоминерализованных образцов глинистых отложений было выделено 29 штаммов бактерий. Отбор изолятов основывался на различиях в морфологии колоний, выросших на агаризованной среде БСР, и сравнительном анализе ДНК чистых культур бактерий методом ВОХ-ПЦР. По результатам анализа ВОХ-профилей (данные не приводятся) представители разных геномогрупп были отобраны для секвенирования последовательностей гена 16S рНК.

Штаммы семейства *Halomonadaceae* (класс *Gammaproteobacteria*)

В результате секвенирования и сравнения последовательностей гена 16S рНК с типовыми штаммами из базы данных EzBioCloud [<http://www.ezbiocloud.net>] было установлено, что 13 выделенных культур являются представителями семейства *Halomonadaceae* (класс *Gammaproteobacteria*) и относятся к родам *Chromohalobacter* (5 штаммов) и *Halomonas* (7 штаммов).

Все изоляты рода *Chromohalobacter* были близкородственны штамму *C. canadensis* ATCC43984^T (табл. 2). Уровень идентичности по гену 16S рНК у большинства штаммов с типовым штаммом составлял 99.89%, у штамма DK1K – 99.56%, в то же время, типирование методом ВОХ-ПЦР показало различие в структуре геномов этих штаммов (данные не приводятся).

Установлено, что все выделенные штаммы яв-

ляются галофильными организмами, требующими для роста наличия соли в среде культивирования (выше 30 г/л) и способными расти при 300 г/л NaCl. Штаммы эффективно росли при высоких значениях рН среды – до 9.0, т.е. являются алкалофилами. Интересно, что один из штаммов этой группы (штамм D10) был выделен из экотопа с рН 8.8, другие штаммы – из образцов с нейтральной рН (табл. 1, 2).

Три штамма рода *Halomonas* (DK1M, DG2M, D3A) имели 100%-ный уровень сходства по генам 16S рНК с типовыми штаммами видов *H. alkaliantarctica*, *H. titanicae*, *H. alimentaria*, штаммы DR1, D2 – около 99.4% сходства с *H. taeanensis* и штамм DG2K – 99.02% сходства с *H. utahensis* (табл. 2). Интерес для дальнейших исследований представляет штамм D12, имеющий сходство по гену 16S рНК с типовыми штаммами видов *H. meridiana*, *H. piezotolerans*, *H. songnenensis* ниже 99%. Штамм D12 был выделен из образца осадка рассолосборника, характеризующегося высоким уровнем минерализации (226 г/кг) и щелочными условиями среды (рН 8.8).

Большинство штаммов рода *Halomonas* (DK1M, DG2K, DG2M, DG3K) являются галотолерантными и могут расти как без соли в среде культивирования, так и в присутствии хлорида натрия – до 250 г/л. Исключением является штамм *Halomonas* sp. DR1, не способный к росту без содержания соли в среде. Кроме того, представителей этого рода, выделенных из глинистых отложений,

можно отнести к группе алкалофильных микроорганизмов, т.к. большинство из них характеризуется ростом при значении водородного показателя до

10.0, кроме штамма *Halomonas* sp. DR1 (растет при pH 6.0–8.0).

Таблица 2

Анализ нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК изолированных бактерий

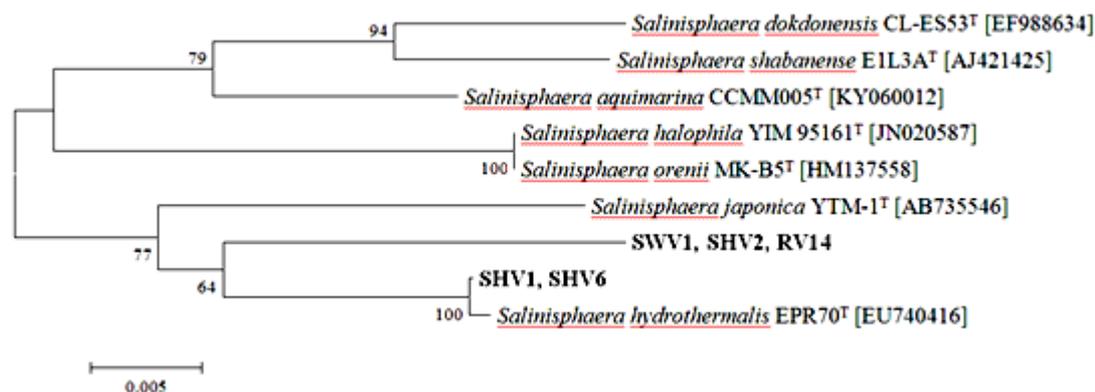
Штамм	Типовой штамм	Номер в GenBank	Сходство, %	Источник выделения (дата отбора пробы)
Класс <i>Gamma</i> proteobacteria, порядок <i>Oceanospirillales</i> , семейство <i>Halomonadaceae</i> , род <i>Chromohalobacter</i>				
DK1K	<i>Chromohalobacter canadensis</i> ATCC 43984 ^T	AJ295143	99.56	Рассолоотводящая выработка 1, глина бурая (25.06.19)
DG3G	<i>Chromohalobacter canadensis</i> ATCC 43984 ^T	AJ295143	99.89	Рассолоотводящая выработка 2 (25.06.19)
D1	<i>Chromohalobacter canadensis</i> ATCC 43984 ^T	AJ295143	99.89	Рассолоотводящая выработка 2 (01.10.19)
D5	<i>Chromohalobacter canadensis</i> ATCC 43984 ^T	AJ295143	99.89	Рассолоотводящая выработка 2 (01.10.19)
D10	<i>Chromohalobacter canadensis</i> ATCC 43984 ^T	AJ295143	99.89	Рассолосборник 2 (01.10.19)
Класс <i>Gamma</i> proteobacteria, порядок <i>Oceanospirillales</i> , семейство <i>Halomonadaceae</i> , род <i>Halomonas</i>				
DK1M	<i>Halomonas alkaliantarctica</i> CRSS ^T	AJ564880	100.00	Рассолоотводящая выработка 1, глина бурая (25.06.19)
DR1	<i>Halomonas taeanensis</i> BH539 ^T	AY671975	99.45	Рассолоотводящая выработка 1, глина рыжая (25.06.19)
DG2K	<i>Halomonas utahensis</i> DSM 3051 ^T	AJ306893	99.02	Рассолосборник 1 (25.06.19)
DG2M	<i>Halomonas titanicae</i> BH1 ^T	AOPO01000038	100.00	Рассолосборник 1 (25.06.19)
D2	<i>Halomonas taeanensis</i> BH539 ^T	AY671975	99.43	Рассолоотводящая выработка 2 (01.10.19)
D3A	<i>Halomonas alimentaria</i> YKJ-16 ^T	AF211860	100.00	Рассолоотводящая выработка 2 (01.10.19)
D12	<i>Halomonas meridiana</i> DSM 5425 ^T <i>Halomonas piezotolerans</i> NBT06E8 ^T <i>Halomonas songnenensis</i> NEAU-ST10-39 ^T	AJ306891 MN435603 JQ762289	98.96	Рассолосборник 2 (01.10.19)
Класс <i>Gamma</i> proteobacteria, порядок <i>Nevskiales</i> , семейство <i>Salinisphaeraceae</i> , род <i>Salinisphaera</i>				
SWV1	<i>Salinisphaera hydrothermalis</i> EPR70 ^T	EU740416	95.94	Рассолоотводящая выработка 2 (25.06.19)
SHV1	<i>Salinisphaera hydrothermalis</i> EPR70 ^T	EU740416	99.89	Рассолоотводящая выработка 1, глина рыжая (25.06.19)
SHV2	<i>Salinisphaera hydrothermalis</i> EPR70 ^T	EU740416	96.62	Рассолоотводящая выработка 1, глина рыжая (25.06.19)
SHV6	<i>Salinisphaera hydrothermalis</i> EPR70 ^T	EU740416	99.89	Рассолоотводящая выработка 1 (01.10.19)
RV14	<i>Salinisphaera hydrothermalis</i> EPR70 ^T	EU740416	96.63	Рассолосборник 1 (01.10.19)
Класс <i>Bacilli</i> , порядок <i>Bacillales</i> , семейство <i>Bacillaceae</i>				
DG3K	<i>Virgibacillus halodenitrificans</i> DSM 10037 ^T	AY543169	100.00	Рассолоотводящая выработка 2 (25.06.19)
D13A	<i>Oceanobacillus oncorhynchi</i> subsp. <i>incaldanensis</i> 20AG ^T	AJ640134	100.00	Рассолосборник 2 (01.10.19)

Получены предварительные данные о способности штаммов рода *Halomonas* использовать в качестве ростовых субстратов моноароматические соединения. Так, *Halomonas* sp. DK1M эффективно рос на минеральной среде Раймонда с салициловой кислотой (0.5 г/л) в качестве единственного источника энергии, а штамм *Halomonas* sp. DR1 проявлял способности к деструкции бензойной кислоты (1 г/л).

Представители родов *Chromohalobacter* и *Halomonas* являются галофильными/галотолерантными бактериями, которые широко распространены в засоленных местообитаниях – морях, соленых озерах, солончаках, солеварнях, соленых пищевых продуктах, также были выделены из месторождений солей, соляных шахт [Ai, Huang, Wang, 2018; Megaw, Gilmore, 2018]. Известно использование штаммов родов *Chromohalobacter* и *Halomonas* в биотехнологических процессах, в том числе – в качестве продуцентов осмотротекторных соединений, аминокислот [Edbeib, Wahab, Нууор, 2016; Пьянкова, Ананьина, 2018] деструкторов загрязнителей окружающей среды [Кандаурова, Ястребова, Плотникова, 2017; Nanca et al., 2018].

Штаммы рода *Salinisphaera* (класс *Gammaproteobacteria*)

Анализ нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК показал, что штаммы SHV1 и SHV6 имели наибольший уровень сходства (99.89%) с *Salinisphaera hydrothermalis* EPR70^T (класс *Gammaproteobacteria*, порядок *Nevskiales*, семейство *Salinisphaeraceae*). Данные штаммы, а также три других изолята (SHV2, RV14 и SWV1) имели незначительные различия по BOX-ПЦР профилям (данные не приводятся). Штаммы SHV2 и RV14 при анализе фрагмента гена 16S рРНК размером 895–923 п.н. (секвенирование с использованием праймера 27F) имели сходство с типовым штаммом вида *Salinisphaera hydrothermalis* на уровне 96.62%, а сходство почти полного гена 16S рРНК (размер анализируемого фрагмента 1.411 п.н.) штамма SWV1 – на уровне 95.94% (табл. 2). На дендрограмме показано, что эти три штамма образуют отдельный кластер (рисунок). Полученные данные позволяют предположить, что штаммы SHV2, RV14 и SWV1 могут представлять новые таксономические единицы, поэтому дальнейшее их исследование вызывает несомненный интерес.



Филогенетическое древо, построенное с использованием метода neighbor-joining, показывающее положение исследуемых изолятов в роде *Salinisphaera*, основанное на сравнении нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК длиной 895–1411 п.н.

Эволюционные расстояния рассчитаны с использованием метода Джукса-Кантора. Масштаб соответствует 5 нуклеотидным заменам на каждые 1000 нуклеотидов. Цифрами показана статистическая достоверность порядка ветвления, определенная с помощью «bootstrap» анализа 1 000 альтернативных деревьев (приведены значения выше 50%). Изоляты с идентичными генами 16S рРНК, перечислены через запятую

Ранее штаммы рода *Salinisphaera* были изолированы из воды, донных отложений, отходов производства калийных солей (г. Соликамск) [Корсакова, 2014].

Изолированные штаммы рода *Salinisphaera* являются галофильными бактериями, при этом у штаммов SHV1, SHV6 наблюдается рост при содержании 10–270 г/л NaCl в среде, а у изолятов SHV2, SWV1, RV14 – при 10–300 г/л. Выделенные штаммы рода *Salinisphaera* растут при pH среды

6.0–7.0 и температуре от +28 до +40°C, но не растут при +4°C.

Штаммы семейства *Bacillaceae* (класс *Bacilli*)

Из образцов глинистых осадков рассолоборника и рассолоотводящей выработки рудника выделено два штамма семейства *Bacillaceae* (класс *Bacilli*). Штаммы DG3K и D13A имели 100%-ное сходство с *Virgibacillus halodenitrificans* DSM

10037^T и *Oceanobacillus oncorhynchi* subsp. *incaldanensis* 20AG^T, соответственно (табл. 2).

Штамм *Virgibacillus* sp. DG3K является галотолерантным, алкалофильным организмом: может расти без соли в среде культивирования и в присутствии 250 г/л NaCl, а также при значениях pH среды 7.0–10.0. Примечательно, что штамм *Virgibacillus* sp. DG3K не только является алкалофилом, но также способен к эффективному росту при температурах до +45°C.

Штамм *Oceanobacillus* sp. D13A был изолирован из образца осадочной глины, характеризующейся pH 8.8 и высоким содержанием солей (табл. 1). Типовой штамм *Oceanobacillus oncorhynchi* subsp. *incaldanensis* 20AG^T, близкородственный штамму D13A, является галофильным, алкалолентерантным микроорганизмом: растет при 50–200 г/л NaCl (с оптимальным ростом при 100 г/л соли) и при pH 6.5–9.5 (оптимум pH 9.0) [Romano et al., 2006]. Из района солеразработок Верхнекамского месторождения (г. Соликамск, г. Березники) ранее были выделены солеустойчивые бактерии родов *Virgibacillus* и *Oceanobacillus* [Корсакова, 2014].

Заключение

В результате исследования образцов глинистых отложений водоотводящей выработки и рассолоборника рудника ВКМС были получены новые данные о разнообразии бактерий района солеразработок ВКМС. Выделено 29 штаммов, относящихся к классам *Gammaproteobacteria* (семейство *Halomonadaceae*, семейство *Salinisphaeraceae*) и *Bacilli* (семейство *Bacillaceae*). Филогенетический анализ показал, что штаммы SHV2, RV14, SWV1 представляют новые таксономические единицы в семействе *Salinisphaeraceae*; исследование этих штаммов будет продолжено. Среди изолятов выявлены галофильные бактерии, способные к росту при концентрации хлорида натрия в среде до 300 г/л. Ряд штаммов родов *Oceanobacillus*, *Virgibacillus*, *Chromohalobacter*, *Halomonas* способны к росту в щелочной среде (pH 9.0–10.0), являются алкалофилами. При изучении биодеградационных свойств изолятов, у двух галофильных штаммов рода *Halomonas* обнаружена способность к деструкции моноароматических углеводов – салициловой и бензойной кислот, что предполагает дальнейшее изучение этих штаммов с перспективой использования их в биотехнологиях восстановления загрязненных территорий с высоким уровнем минерализации.

Работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: АААА-А19-119112290008-4.

Библиографический список

- Ананьина Л.Н. и др. *Salinicola socius* gen. nov., sp. nov. – умеренно галофильная бактерия из ассоциации микроорганизмов, утилизирующей нафталин // Микробиология. 2007. Т. 76, № 3. С. 369–376.
- Егорова Д.О. и др. Особенности разложения хлорированных бифенилов штаммом *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7 в условиях засоления // Прикладная биохимия и микробиология. 2018. Т. 54, № 3. С. 253–263.
- Кандаурова Ю.М., Ястребова О.В., Плотникова Е.Г. Новый галотолерантный штамм-деструктор фталатов *Halomonas* sp. PG1 // История и методология физиолого-биохимических и почвенных исследований: материалы конф. Пермь, 2017. С. 71–73.
- Карташова Ю.А. и др. Изучение некультивируемых бактерий глубинной породы мергеля (Верхнекамское месторождение, Пермский край) // Биология – наука XXI века: материалы 21 междунар. Пушинской школы-конф. молодых ученых. Пушино, 2017. С. 23.
- Каишанова Л.Э. и др. Молекулярно-генетические подходы к изучению микроорганизмов глубинной породы карналлита Верхнекамского месторождения солей // Высокие технологии, определяющие качество жизни: материалы междунар. науч. конф. Пермь, 2018. С. 52–55.
- Корсакова Е.С. Культивируемые аэробные бактерии из района промышленных разработок Верхнекамского месторождения солей: дис. ... канд. биол. наук. Пермь, 2014. 150 с.
- Корсакова Е.С. и др. Разнообразие бактерий семейства *Halomonadaceae* района разработок Верхнекамского месторождения солей // Микробиология. 2013. Т. 82, № 2. С. 247–250.
- Корсакова Е.С. и др. Микробное разнообразие в глинисто-солевых шламах калийного предприятия (г. Березники, Пермский край) // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2017. Вып. 1. С. 70–79.
- Методы общей бактериологии: пер. с англ. М.: Мир, 1983. Т. 1–3.
- Практикум по агрохимии: учеб. пособие. М.: Изд-во МГУ, 2001. 689 с.
- Пьянкова А.А., Ананьина Л.Н. Оптимизация условий культивирования штамма *Chromohalobacter* sp. TC193 для увеличения биосинтеза эктоина // Материалы V международной конференции молодых ученых: биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов. Новосибирск, 2018. С. 97–99.
- Пьянкова А.А., Каишанова Л.Э., Плотникова Е.Г. Бактерии глубинной породы каменной соли (Верхнекамское месторождение солей) // Материалы XI Всерос. конгресса молодых ученых-

- биологов с междунар. участием. Пермь, 2019. С. 65–66.
- Рейтских Е.М., Саралов А.И. *Exiguobacterium* sp. RS34 – галоалкалололерантная факультативно анаэробная неспорообразующая бактерия порядка *Bacillales* из шламоохранилища калийного рудника // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2012. Вып. 3. С. 49–53.
- Ястребова О.В., Пьянкова А.А., Плотникова Е.Г. Бактерии-деструкторы фталатов, выделенные из района промышленной добычи и переработки калийно-магниевых солей // Прикладная биохимия и микробиология. 2019. Т. 55, № 4. С. 378–385.
- Ястребова О.В., Корсакова Е.С., Плотникова Е.Г. Характеристика бактерий семейства *Micrococcaceae*, выделенных из разных биотопов района солеразработок (Пермский край) // Известия Самарского научного центра РАН. 2018. Т. 20, №5(2). С. 300–306.
- Ai L., Huang Y., Wang C. Purification and characterization of halophilic lipase of *Chromohalobacter* sp. from ancient salt well // J. Basic. Microbiol. 2018. Vol. 58, № 8. P. 647–657.
- Anan'ina L.N. et al. Naphthalene-degrading bacteria of the genus *Rhodococcus* from the Verkhnekamsk salt mining region of Russia // Antonie van Leeuwenhoek. 2011. Vol. 100. P. 309–316.
- Edbeib M.F., Wahab R.A., Huyop F. Halophiles: biology, adaptation, and their role in decontamination of hypersaline environments // World J. Microbiol. Biotechnol. 2016. Vol. 32. P. 135.
- Lane D.J. 16S/23S rRNA sequencing // Nucleic acid techniques in bacterial systematics / Eds Stackebrandt E., Goodfellow M. New York.: John Wiley and Sons. 1991. P. 115–175.
- Megaw J., Gilmore B.F. Draft genome sequence of *Halomonas* sp. CSM-2, a moderately halophilic bacterium isolated from a triassic salt mine // Microbiol. Resour. Announc. 2018. Vol. 26, № 7(3). P. e00836-18.
- Nanca C.L. et al. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by moderately halophilic bacteria from Luzon alt Beds // J. Health Pollut. 2018. Vol. 8, № 19. P. 180915.
- Plotnikova E.G. et al. *Thalassospira permensis* sp. nov., a novel halotolerant bacterium isolated from a naphthalene-utilizing microbial consortium // Microbiology. 2011. Vol. 80, № 5. P. 703–712.
- Raymond R.L. Microbial oxidation of n-paraffinic hydrocarbons // Develop. Ind. Microbiol. 1961. Vol. 2, № 1. P. 23–32.
- Romano I. et al. *Oceanobacillus oncorhynchi* subsp. *incaldanensis* subsp. nov., an alkalitolerant halophile isolated from an algal mat collected from a sulfurous spring in Campania (Italy), and emended description of *Oceanobacillus oncorhynchi* // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2006. Vol. 56. P. 805–810.
- Versalovic J. et al. Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence-based polymerase chain reaction // Meth. Cell Mol. Biol. 1994. Vol. 5. P. 25–40.
- Yastrebova O.V. et al. Aerobic spore forming bacteria from the region of salt mining // Russian Journal of Ecology. 2009. Vol. 40, № 7. P. 516–521.

References

- Ai L., Huang Y., Wang C. Purification and characterization of halophilic lipase of *Chromohalobacter* sp. from ancient salt well. *J Basic Microbiol.* V. 58, N 8 (2018): pp. 647-657.
- Anan'ina L.N., Plotnikova E.G. Gavrish E.Yu., Demakov V.A., Evtushenko L.I. [*Salinicola socius* gen. nov., sp. nov. – moderately halophilic bacterium from an association of microorganisms utilizing naphthalene]. *Mikrobiologija.* V. 76, N 3 (2007): pp. 369-376. (In Russ.).
- Anan'ina L.N., Yastrebova O.V., Demakov V.A., Plotnikova E.G. Naphthalene-degrading bacteria of the genus *Rhodococcus* from the Verkhnekamsk salt mining region of Russia. *Antonie van Leeuwenhoek.* V. 100. (2011): pp. 309-316.
- Edbeib M.F., Wahab R.A., Huyop F. Halophiles: biology, adaptation, and their role in decontamination of hypersaline environments. *World J. Microbiol. Biotechnol.* V. 32 (2016): pp. 135.
- Egorova D.O., Pervova M.G., Demakov V.A., Plotnikova E.G. [Features of the decomposition of chlorinated biphenyls by the *Rhodococcus wratislaviensis* KT112-7 strain under salinity] *Prikladnaja biochimija i mikrobiologija.* V. 54, N 3 (2018): pp. 253-263. (In Russ.).
- Kandaurova Yu.M., Yastrebova O.V., Plotnikova E.G. [New halotolerant phthalate destructor strain *Halomonas* sp. PG1]. *Istorija i metodologija fiziologo-biohimičeskich i počvennyh issledovanij. Materialy konferencii* [History and methodology of physiological, biochemical and soil research. Materials of the conference]. Perm, 2017, pp. 71-73. (In Russ.).
- Kartashova Yu.A., Alikina I.N., P'yankova A.A., Plotnikova E.G. [Study of uncultivated bacteria of deep-seated marl rock (Verkhnekamskoe deposit, Perm region)]. *Biologija – nauka XXI veka. Materialy 21-oj Meždunarodnoj Puščinskoj školy-konferencii molodyh uchenych* [Materials of the 21st International Pushchino school-conference of young scientists "Biology – Science of the XXI Century"]. Pushchino, 2017, p. 23. (In Russ.).
- Kashapova L.E., Pyankova A.A., Korsakova E.S., Plotnikova E.G. [Molecular genetic approaches to the study of microorganisms of deep rock carnallite of the Verkhnekamskoye salt deposit] *Vysokie*

- tehnologii, opredeljavajušće kačestvo žizni. *Materialy meždunarodnoj naučnoj konferencii* [Materials of the international scientific conference "High technologies that determine the quality of life"]. Perm, 2018, pp. 52-55. (In Russ.).
- Korsakova E.S. *Kul'tiviruemye aërobnnye bakterii iz rajona promyšlennykh razrabotok Verkhnekamskogo mestoroždenija solej. Diss Kand. biol. nauk* [Cultivated aerobic bacteria from the industrial development area of the Verkhnekamskoye salt deposit: Cand. Dis.]. Perm, 2014. 150 p. (In Russ.).
- Korsakova E.S., Anan'ina L.N., Nazarov A.V., Bachurin B.A., Plotnikova E.G. [Diversity of bacteria of the family *Halomonadaceae* in the development area of the Verkhnekamskoye salt deposit] *Mikrobiologija*. V. 82, N 2 (2013): pp. 247-250. (In Russ.).
- Korsakova E.S., Shestakova E.A., Odincova T.A., Bachurin B.A., Plotnikova E.G. [Microbial diversity in clay-salt sludge of a potash enterprise (Berezniki, Perm region)]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 1 (2017): pp. 70-79. (In Russ.).
- Lane D.J. 16S/23S rRNA sequencing. In: *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. Eds E. Stackebrandt, M. Goodfellow. New York, John Wiley and Sons, 1991, pp. 115-175.
- Megaw J, Gilmore B.F. Draft genome sequence of *Halomonas* sp. CSM-2, a moderately halophilic bacterium isolated from a triassic salt mine. *Microbiol. Resour. Announc.* V. 26, N 7(3) (2018): pp. e00836-18.
- Metody obščej bakteriologii* [Methods of general bacteriology]: Moscow, Mir Publ., 1983. V. 1-3. (In Russ.).
- Nanca C.L., Neri K.D., Ngo A.C.R., Bennett R.M., Dedede G.R. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by moderately halophilic bacteria from Luzon Salt Beds. *J. Health Pollut.* V. 8, N 19 (2018): pp. 180915.
- Plotnikova E.G., Anan'ina L.N., Krauzova V.I., Ariskina E.V., Prisyazhnaya N.V., Lebedev A.T., Demakov V.A., Evtushenko L.I. *Thalassospira permensis* sp. nov., a novel halotolerant bacterium isolated from a naphthalene-utilizing microbial consortium. *Microbiology*. V. 80, N 5 (2011): pp. 703-712.
- Praktikum po agrochimii* [Workshop on agrochemistry: textbook]. Moscow, MGU Publ., 2001. 689 p. (In Russ.).
- Pyankova A.A., Anan'ina L.N. [Optimization of the cultivation conditions for the *Chromohalobacter* sp. TC193 to increase ectoine biosynthesis] *Materialy V meždunarodnoj konferencii molodych učenych: biotekhnologov, molekularnykh biologov i virusologov* [Materials of the V international conference of young scientists: biotechnologists, molecular biologists and virologists]. Novosibirsk, 2018, pp. 97-99. (In Russ.).
- Pyankova A.A., Kashapova L.E., Plotnikova E.G. [Deep rock salt bacteria (Verkhnekamskoe salt deposit)] *Materialy XI Vseros. kongressa molodych učenych-biologov s meždunar. učastiem* [Materials of the XI All-Russia. congress of young biological scientists from int. participation]. Perm, 2019, pp. 65-66. (In Russ.).
- Raymond R.L. Microbial oxidation of n-paraffinic hydrocarbons. *Developments in Industrial Microbiology*. V. 2. N 1 (1961): pp. 23-32.
- Reutskih E.M., Saralov A.I. [*Exiguobacterium* sp. RS34 - haloalkalotolerant facultatively anaerobic non-spore-forming bacterium of the order *Bacillales* from the sludge storage of a potash mine] *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 3 (2012): pp. 49-53. (In Russ.).
- Romano I., Lama L., Nicolaus B., Poli A., Gambacorta A., Giordano A. *Oceanobacillus oncorhynchi* subsp. *incaldanensis* subsp. nov., an alkalitolerant halophile isolated from an algal mat collected from a sulfurous spring in Campania (Italy), and emended description of *Oceanobacillus oncorhynchi*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* V. 56 (2006): pp. 805-810.
- Versalovic J., Schneider M., de Bruijn F.J., Lupski J. Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence-based polymerase chain reaction. *Meth. Cell Mol. Biol.* V. 5 (1994): pp. 25-40.
- Yastrebova O.V., Korsakova E.S., Plotnikova E.G. [Characteristics of bacteria of the *Micrococcaceae* family isolated from different biotopes of the salt development region (Perm region)]. *Izvestija Samarskogo naučnogo centra RAN*. V. 20, N 5(2) (2018): pp. 300-306. (In Russ.).
- Yastrebova O.V., Plotnikova E.G., Anan'ina L.N., Demakov V.A. Aerobic spore forming bacteria from the region of salt mining. *Russian Journal of Ecology*. V. 40, N 7 (2009): pp. 516-521.
- Yastrebova O.V., Pyankova A.A., Plotnikova E.G. [Phthalate destructor bacteria isolated from the region of industrial production and processing of potassium-magnesium salts]. *Prikladnaja biokhimija i mikrobiologija*. V. 55, N 4 (2019): pp. 378-385. (In Russ.).

Поступила в редакцию 16.09.2020

Об авторах

Пьянкова Анна Александровна, инженер лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии
«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» - филиал ПФИЦ УрО РАН
ORCID: 0000-0003-2210-7873x
614081, г. Пермь, ул. Голева, 13;
annpjankva@mail.ru; (342)2808431

Усанина Дарья Игоревна, студент ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
ORCID: 0000-0003-0436-0890
614990, Пермь, ул. Букирева, 15;
usanina_d@mail.ru; 89824588408

Алеев Владислав Сергеевич, студент ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
ORCID: 0000-0002-2887-1268
614990, Пермь, ул. Букирева, 15;
v1.vvv132@yandex.ru; 89822500390

Блинов Сергей Михайлович, кандидат геолого-минералогических наук, доцент кафедры динамической геологии и гидрогеологии ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
ORCID: 0000-0002-4953-3567
614990, Пермь, ул. Букирева, 15;
blinov_s@mail.ru; 89028014763

Плотникова Елена Генриховна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии
«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» - филиал ПФИЦ УрО РАН
профессор кафедры ботаники и генетики растений
ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
ORCID: 0000-0002-0107-0719
614081, Пермь, ул. Голева, 13;
peg_el@mail.ru; (342)2808431

Информация для цитирования:

Характеристика бактерий, выделенных из рудника Верхнекамского месторождения солей (Пермский край) / А.А. Пьянкова, Д.И. Усанина, В.С. Алеев, С.М. Блинов, Е.Г. Плотникова // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2020. Вып. 4. С. 312–320. DOI: 10.17072/1994-9952-2020-4-312-320.

Ryankova A.A., Usanina D.I., Aleev V.S., Blinov S.M., Plotnikova E.G. [Characteristics of bacteria isolated from the miner of the Verkhnekamsky salt deposit (Perm krai)]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 4 (2020): pp. 312-320. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2020-4-312-320.

About the authors

Ryankova Anna Aleksandrovna, engineer of laboratory of molecular microbiology and biotechnology
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, RAS.
ORCID: 0000-0003-2210-7873x
13, Golev str., Perm, Russia, 614081;
annpjankva@mail.ru; (342)2808431

Usanina Darya Igorevna, student Perm State University.
ORCID: 0000-0003-0436-0890
15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990;
usanina_d@mail.ru; 89824588408

Aleev Vladislav Sergeevich, student Perm State University.
ORCID: 0000-0002-2887-1268
15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990;
v1.vvv132@yandex.ru; 89822500390

Blinov Sergey Mikhaylovich, candidate of geological and mineralogical sciences, associate professor of the Department of dynamic geology and hydrogeology
Perm State University.
ORCID: 0000-0002-4953-3567
15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990;
blinov_s@mail.ru; 89028014763

Plotnikova Elena Genrikhovna, doctor of biology, leading researcher of laboratory of molecular microbiology and biotechnology
Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS.
professor of the Department of botany and plant genetics
Perm State University.
ORCID: 0000-0002-0107-0719
13, Golev str., Perm, Russia, 614081;
peg_el@mail.ru; (342)2808431

