

## Таксономическое разнообразие микробного сообщества в термальном источнике Кучигер (Байкальская рифтовая зона)

Е. В. ЛАВРЕНТЬЕВА<sup>1, 2</sup>, А. А. РАДНАГУРУЕВА<sup>1</sup>, О. А. БАТУРИНА<sup>3</sup>, В. В. ХАХИНОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН  
670047, Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6

<sup>2</sup>Бурятский государственный университет имени Д. Банзарова  
670000, Улан-Удэ, ул. Смолина, 24а

<sup>3</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН  
630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8  
E-mail: lena\_l@mail.ru

Статья поступила 19.04.2023

После доработки 09.06.2023

Принята к печати 20.06.2023

### АННОТАЦИЯ

Гидрохимический и микроэлементный состав воды и донных осадков был определен в транзитной зоне смешения подземных и поверхностных вод в термальном источнике Кучигер (Байкальская рифтовая зона). Поступление химических веществ с подземными водами и высокие температуры создают благоприятные и специфические условия для развития микроорганизмов. Изучено таксономическое разнообразие микробного сообщества воды и донных осадков с использованием анализа ампликонов гена *16S rPHK*. Проанализировано 107 619 нуклеотидных последовательностей, отнесенных к 211 ОТЕ. В изученных образцах воды и донных осадков доминировали бактерии, представители архей составляли 0,2–3,1 %. В микробных сообществах филум *Proteobacteria* являлся доминирующим. Субдоминантами в изученных образцах являлись филумы *Firmicutes*, *Chloroflexi*, *Nitrospirae*, *Acetothermia* и *Actinobacteria*, где их соотношение варьировало в зависимости от биотопа. Характерная особенность микробного сообщества в термальном источнике Кучигер – доминирование хемолитотрофных бактерий.

**Ключевые слова:** термальный источник, транзитная зона смешения подземных и поверхностных вод, таксономическое разнообразие микробного сообщества, высокопроизводительное секвенирование, ген *16S rPHK*.

### ВВЕДЕНИЕ

Байкальская рифтовая зона (БРЗ) – это крупный континентальный рифт, который простирается более чем на 2500 км из Северо-Западной Монголии через горные сооружения Восточной Сибири до Южной Якутии [Mats,

Perepelova, 2011; Плюснин и др., 2013]. Баргузинская котловина является одной из крупнейших впадин БРЗ и располагается в ее центральной части. Распространение природных термальных вод определяется сложным сочетанием геологических, гидрогеологических,

геохимических и геотермических условий их формирования [Намсараев и др., 2011].

В последние годы микробные сообщества термальных щелочных местообитаний Баргузинской котловины активно изучаются с использованием высокопроизводительного секвенирования [Раднагуруева и др., 2016; Лаврентьева и др., 2017, 2019; Rozanov et al., 2017; Zaitseva et al., 2017; Lavrentyeva et al., 2018, 2021; Barkhutova et al., 2021; Stom et al., 2022]. В микробных сообществах термальных источников Баргузинской котловины обнаружено большое количество филогенетически разнообразных, метаболически разнонаправленных групп микроорганизмов, что свидетельствует о сбалансированном сложном сообществе, где каждая группа занимает свою экологическую нишу. Показано, что в микробных сообществах доминируют представители филумов *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Deinococcus-Thermus*, *Nitrospirae*, *Cloflexi*. Характерно, что большое количество последовательностей различного таксономического ранга имело низкий уровень гомологии с культивируемыми представителями, не имеющими близких гомологов в мировой базе данных.

Кучигерские источники расположены в северо-восточной части Баргузинской котловины. Характерная особенность этих источников – разные температурные условия воды: от холодных до теплых и очень горячих с общим дебетом 10–11 л/с, его разгрузка в толщу илистых отложений на площади 200–250 м<sup>2</sup>, наличие сероводорода до 29 мг/дм<sup>3</sup> и фторида до 12 мг/дм<sup>3</sup>. По химическому составу воды Кучигерских горячих источников фторидно-гидрокарбонатно-сульфатные натриевые и отнесены к термам культурского типа [Намсараев и др., 2007]. По минеральному составу являются низкоминерализованными и по газовому составу относятся к CH<sub>4</sub>-N<sub>2</sub> термам [Zippa et al., 2019].

Деятельность микроорганизмов в транзитной зоне смешения подземных и поверхностных вод связана с местами аккумуляции воды в рыхлых отложениях и ее движении по порам и трещинам вмещающих пород. Экологические условия характеризуются высокими температурами, pH, бескислородными и восстановленными условиями, а также обилием неорганических соединений. Эти специфич-

кие условия создают особые ниши для развития микробного сообщества и влияют на таксономическое разнообразие. Исследования микробного разнообразия в транзитной зоне смешения подземных и поверхностных вод современными методами, основанными на идентификации генов 16S rRNK, в термальном источнике Кучигер не проводились.

Цель работы – установить таксономическое разнообразие микробного сообщества воды и донных осадков в транзитной зоне смешения подземных и поверхностных вод термального источника Кучигер.

## ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ

Кучигерские термальные источники (54° 52'934" с. ш., 111°00'050" в. д.) находятся у северо-западного борта Баргузинского хребта, на высоте 566 м над уровнем моря и представлены группой родников. Некоторые выходы термальных вод каптированы деревянными колодцами размерами 4 × 2 м и глубиной до 1,5 м [Черняевский и др., 2018].

Для исключения антропогенной контаминации была намечена точка в зоне естественной разгрузки глубинных термальных вод, в которой отобраны образцы поровой воды и донных осадков для проведения макро-, микрокомпонентного и молекулярно-генетического анализов. На месте отбора проб в поровой воде измерены pH и температура с помощью портативного pH-метра pH-200 HM Digital (Южная Корея) с сенсорным термометром. Минерализацию определяли при помощи тест-кондуктометра TDS-4 (Сингапур).

Макрокомпонентный состав поровой воды определяли с помощью гидрохимических методов в ЦКП ГИН СО РАН (г. Улан-Удэ). Микроэлементный состав воды определили методом масс-спектрометрии с индуктивно связанный плазмой на масс-спектрометре ICP-MS Element XR (Thermo Scientific Fisher, США) в ЦКП ГИН СО РАН (г. Улан-Удэ). Микроэлементный состав донных осадков определен методом ICP-MS на приборе высокого разрешения ELEMENT 2 (Finnigan MAT, США) в ЦКП ИГХ СО РАН (г. Иркутск).

Для молекулярно-генетического анализа пробы осадков отбирали в стерильные пластиковые 15 мл пробирки типа Falcon и фиксировали этианолом до конечной концентрации

50 % (об./об.). Пробу поровой воды фильтровали через стерильный мембранный фильтр с размером пор 0,22 мкм. Фильтр затем помещали в стерильную пластиковую микропробирку и фиксировали этанолом. Пробы были доставлены в лабораторию в течение суток и до выделения ДНК находились в холодильнике при + 4 °C.

Выделение ДНК из осадков и воды проводили с помощью набора DNeasy PowerSoil Kit (Qiagen, США) по протоколу производителя. Качественную и количественную оценку полученных препаратов ДНК проводили с помощью спектрофотометра Nanodrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, США). Регион V3-V4 гена 16S pRNK был амплифицирован с помощью праймеров 343F (5'-CTCCTACGGRRSG-CAGCAG-3') и 806R (5'-GGACTACNVGG-GTWTCTAAT-3'), содержащих адаптерные последовательности (Illumina), линкер и баркод [Fadrosh et al., 2014]. Амплификацию проводили в условиях, описанных ранее [Brouchkov et al., 2017]. Ампликоны смешивали по 200 нг каждый и чистили в 1%-м агарозном геле с помощью набора MinElute Gel Extraction Kit (Qiagen). Секвенирование проводили в ЦКП “Геномика” СО РАН (ИХБФМ СО РАН) на секвенаторе MiSeq (Illumina), используя набор Reagent Kit v3 (2 × 300, Illumina).

Полученные парные последовательности анализировались с помощью UPARSE скриптов, используя Usearch v11.0 [Edgar, 2013]. Биоинформатическая обработка проведена в ноябре 2017 г. и включала перекрывание парных ридов, фильтрацию по качеству и длине, учет одинаковых последовательностей, отбрасывание синглетонов, удаление химер и получение ОТЕ (операционные таксономические единицы) с помощью алгоритма кластеризации UPARSE. Таксономическая принадлежность последовательностей ОТЕ определялась с помощью SINTAX [Edgar, 2016] и референсной базы 16S RDP training set v16 [Wang et al., 2007].

Альфа-разнообразие анализировали Usearch. Серверы NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) и EzBioCloud (<https://www.ezbiocloud.net/>) были использованы для поиска ближайших гомологов.

Для оценки санитарного состояния термального источника Кучигер проводили выявление и учет индикаторных микроорганизмов в образцах воды и донных осадков, отобранных в бане, на выходе из бани и в основной точке естественной разгрузки глубинных термальных вод. Общее микробное число бактерий определяли путем посева на мясопептонный агар. Посевы проводили на селективные среды и культивировали в течение 48–72 ч при температуре 37 °C. Затем учитывали количество выросших на среде колоний, видимых невооруженным глазом.

Идентификация чистых изолированных культур подтверждена с вероятностью 99,9 % масс-спектрометрическим методом путем постановки на масс-спектрометр Maldi-Toff Vitek-MS (Biomerieux, Франция).

Последовательности ДНК из образцов поровой воды и донных осадков в этом исследовании депонированы в Национальном центре биотехнологической информации (NCBI) под номером BioProject PRJNA954466.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Температура воды в момент отбора составила 40,4 °C, общая минерализация – 0,5 мг/дм<sup>3</sup>, значения pH 9,2–10,2. Исследуемое местообитание характеризовалось восстановленными условиями – 400 мВ. Содержание гидрокарбонатов составило 70,17 мг/дм<sup>3</sup>, сульфатов – 70,9 мг/дм<sup>3</sup>, сероводорода – до 31,96 мг/дм<sup>3</sup>, хлоридов – 19,86 мг/дм<sup>3</sup> (табл. 1)

В термальном источнике Кучигер в группе тяжелых металлов (рис. 1, а) обнаружено повышенное содержание по цинку в донных осадках и железу в воде. В группе редких металлов и неметаллов (рис. 1, б) выявлено повышенное содержание по стронцию в воде и донных осадках и по барнию и титану в донных осадках. В группе анионогенных элементов (рис. 1, в) показано повышенное содержа-

Таблица 1

Гидрохимическая характеристика воды термального источника Кучигер

№ пробы	Na <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Fe <sup>3+</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	NO <sup>3-</sup>	NO <sup>2-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Cl <sup>-</sup>	F <sup>-</sup>
Вода	100,79	2,00	1,22	<0,05	70,17	19,50	1,3	<0,02	70,9	19,86	13,79

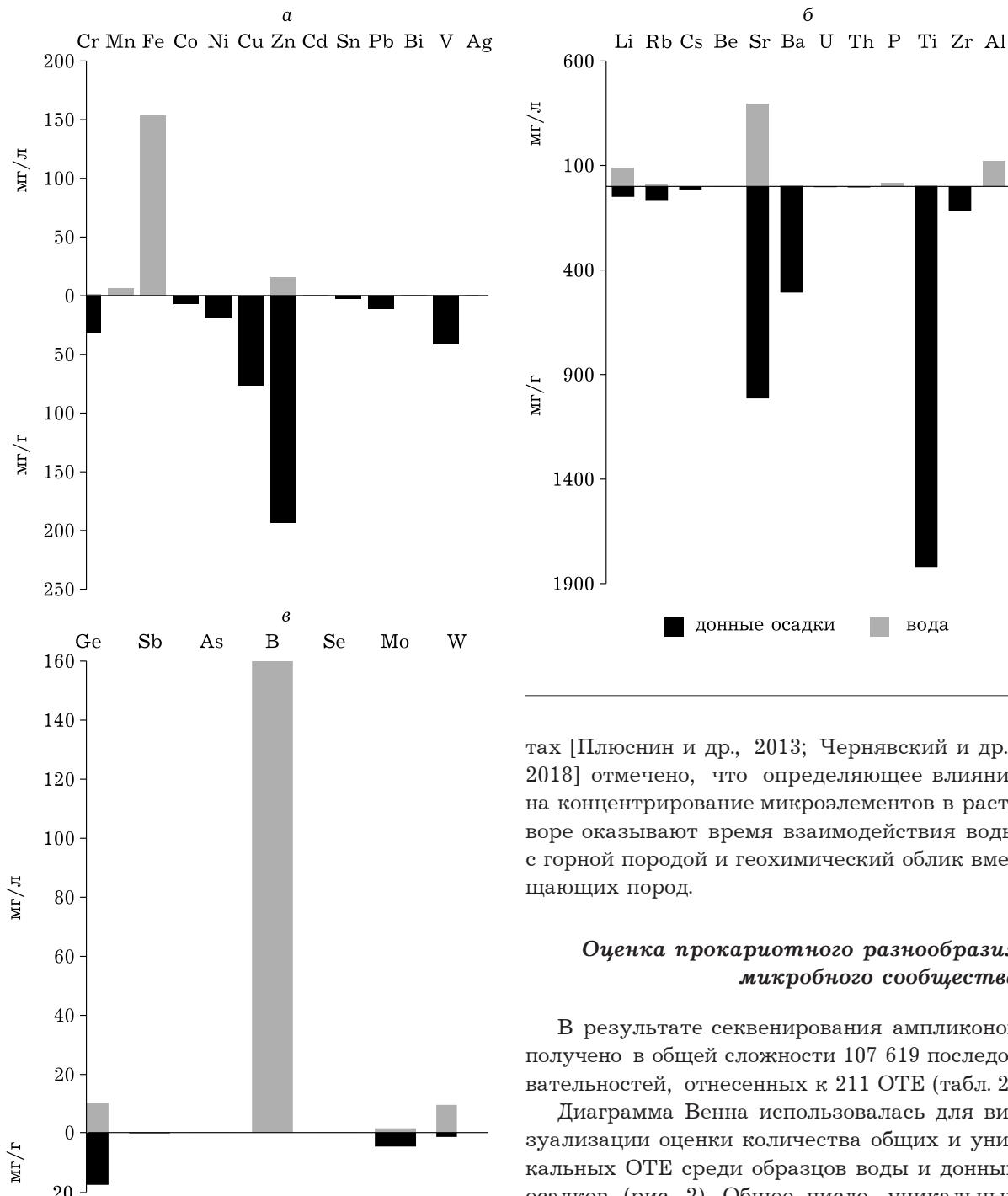


Рис. 1. Микроэлементный состав в воде и донных осадках термального источника Кучигер

ние германия в воде и донных осадках и бора и вольфрама в воде. Разгрузка трещинно-жильных вод неглубокого заложения и грунтовых вод, вероятно, сказывается на росте концентрации этих микроэлементов в термальном поле источника Кучигер. В рабо-

тах [Плюснин и др., 2013; Чернявский и др., 2018] отмечено, что определяющее влияние на концентрирование микроэлементов в растворе оказывают время взаимодействия воды с горной породой и геохимический обликмещающих пород.

#### Оценка прокариотного разнообразия микробного сообщества

В результате секвенирования ампликонов получено в общей сложности 107 619 последовательностей, отнесенных к 211 ОТЕ (табл. 2).

Диаграмма Венна использовалась для визуализации оценки количества общих и уникальных ОТЕ среди образцов воды и донных осадков (рис. 2). Общее число уникальных прокариотных ОТЕ, обнаруженных в образцах воды и донных осадков, составило 107 (50,7 %) и 53 (25,1 %). Общие бактериальные и архейные ОТЕ для образцов воды и донных осадков составили 51 ОТЕ, или 24,2 %.

Оценка индексов разнообразия по Шеннону и видовое богатство, оцененное с помощью индекса Chao1, выявили наибольшее разнообразие микробного сообщества в воде.

Таблица 2

**Индексы таксономического разнообразия и богатства прокариотных ОТЕ в биотопах термального источника Кучигер**

Биотоп	Количество прочтений	Богатство	chao1	dominance	Индекс разнообразия	
					Симпсона	Шеннона
Вода	43017	886,0	886,4	0,98	0,02	7,31
Донные осадки	64602	374,0	376,5	0,83	0,17	4,21

### **Таксономический состав микробного сообщества**

Высокопроизводительное секвенирование по гену *16S rPHK* в термальном источнике Кучигер показало, что домен *Bacteria* был доминирующим прокариотным компонентом по сравнению с доменом *Archaea* и составил в микробном сообществе воды 96,9 % и в донных осадках 99,8 %.

В общей сложности из образцов воды и донных осадков термального источника Кучигер было идентифицировано 15 филумов, 18 классов, 21 семейство и 21 род. На рис. 3 показано относительное изобилие прокариотных филумов в микробном сообществе воды и донных осадков. В микробных сообществах филум *Proteobacteria* (29,5–53,7 %) являлся доминирующим и представлен классами  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\delta$ - и  $\sigma$ -*Proteobacteria*. Субдоминантами в изученных образцах являлись филумы *Firmicutes* (7,5–20,7 %), *Chloroflexi* (8,7–29 %), *Nitrospirae* (3,1–8,2 %), *Acetothermia* (0,5–8,9 %) и *Actinobacteria* (1,3–3,4 %), где их соотношение варьировало в зависимости от биотопа (см. рис. 3).

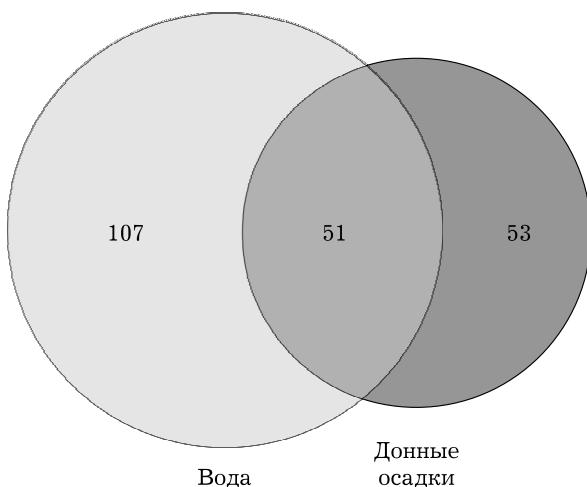


Рис. 2. Диаграмма Венна термального источника Кучигер

На уровне рода в микробном сообществе донных осадков доминировали *Thiobacillus* (40,8 %) и *Thermodesulfovibrio* (9,1 %). Облигатные хемолитоавтотрофные бактерии рода *Thiobacillus* принадлежат классу  $\beta$ -*Proteobacteria* филума *Proteobacteria*. Представители рода *Thermodesulfovibrio* принадлежат к филуму *Nitrospirae*. Около 4,7 и 4,8 % всех нуклеотидных последовательностей в донных осадках отнесены к бактериям родов *Geobacter* и *Litorilinea*. Анаэробные бактерии *Geobacter* принадлежат классу  $\sigma$ -*Proteobacteria* филума *Proteobacteria*. Термофильная хемоорганотрофная нитчатая бактерия *Litorilinea* принадлежит филуму *Chloroflexi*.

Представители рода *Thermomarinilinea* (14,3 %) и *Gallionella* (10,1 %) доминировали в микробном сообществе воды (рис. 4). Хемогетеротрофные анаэробные бактерии рода *Thermomarinilinea* принадлежат классу *Anaerolineae* филума *Chloroflexi*. Нами обнаружено относительно низкое сходство нуклеотидных последовательностей (ниже 90 %) с валидированным штаммом *Thermomarinilinea lacunofontalis* в базе данных Ezbiocloud. Железоокисляющие хемолитотрофные бактерии рода *Gallionella* принадлежат классу  $\beta$ -*Proteobacteria* филума *Proteobacteria*. Дегалогенирующая бактерия *Dehalogenimonas* (3,33 %) филума *Chloroflexi* обнаружена в микробном сообществе воды.

В микробных сообществах воды и донных осадков обнаружены представители термофильных родов *Bellilinea* (1,8–7,3 %), *Litorilinea* (4,8–5,0 %) и *Geobacter* (2,3–4,7 %), а также уникальные бактериальные группы *Incertae sedis*, для которых таксономия еще не назначена. *Acetothermia\_genera\_incertae\_sedis* (8,9 %) доминировали в донных осадках, *Aminicenantes\_genera\_incertae\_sedis* (3,64 %) являлись распространенной группой в воде. *Diapherotrites\_Incertae\_Sedis\_*

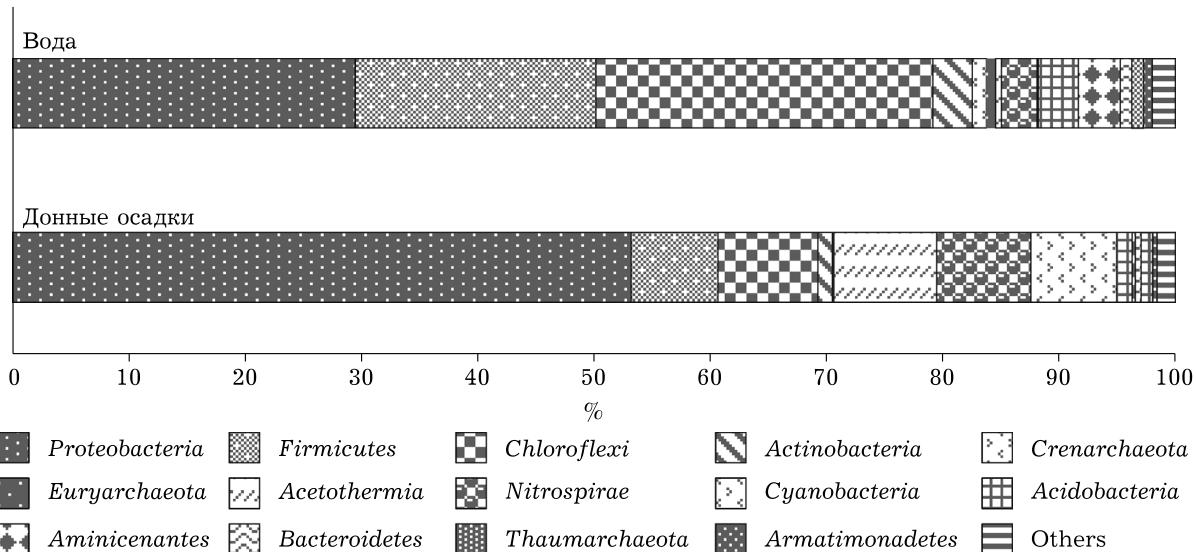


Рис. 3. Состав микробного сообщества на уровне филумов

AR10 присутствовал до 1 % в воде и донных осадках.

Следует отметить, что 16,8 % в донных осадках и 38,9 % в воде принадлежали к последовательностям, которые не классифицированы на уровне рода.

#### *Санитарная характеристика в термальном источнике Кучигер*

Активное использование термального источника Кучигер местным населением и ту-

ристами для лечения и отдыха обуславливает высокую антропогенную нагрузку. В связи с этим дана оценка санитарного состояния термального источника Кучигер.

Общая микробная численность (ОМЧ) бактерий – базовый показатель, который является индикатором загрязнения органическими соединениями и различными формами азота.

Общее количество сапрофитов в воде термального источника Кучигер варьировало от 14 до 37 КОЕ/мл. Характерно, что высокие показатели ОМЧ зафиксированы в пробах

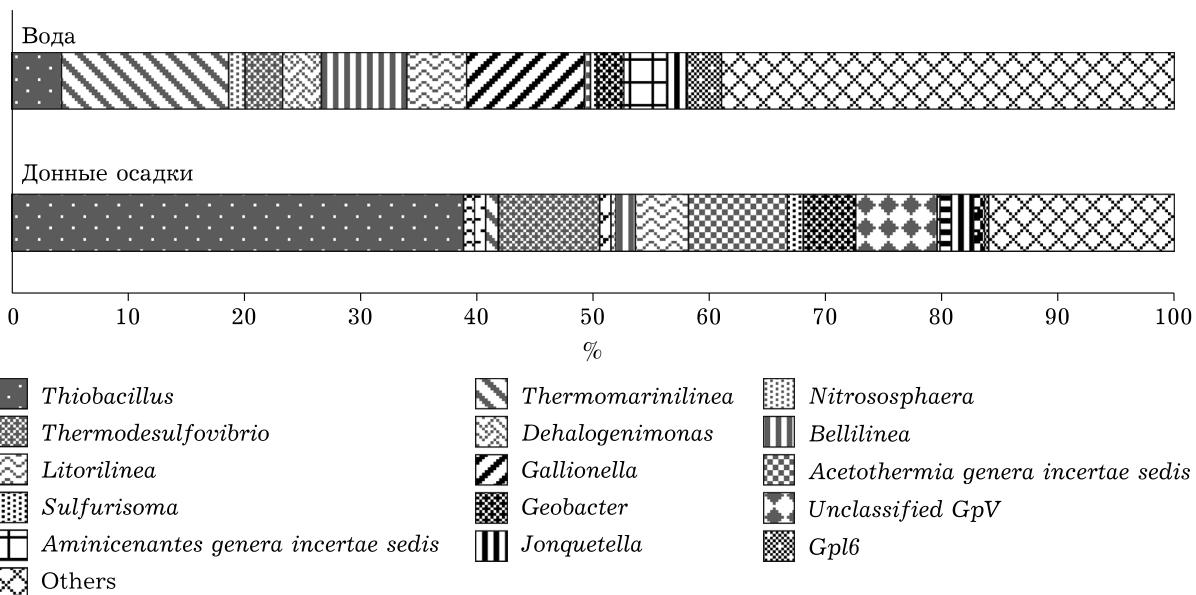


Рис. 4. Состав микробного сообщества на уровне рода

с отсутствием активной разгрузки и стагнационными условиями воды. Во всех пробах донных осадков исследуемого источника показатели ОМЧ составили от 31 до 87 КОЕ/мл, чему способствуют более высокое содержание органического вещества (до 19,2 %) в донных осадках, активный рост и распространение бактерий.

Из донных осадков термального источника Кучигер выделено пять чистых штаммов бактерий. В результате анализа на масс-спектрометре Maldi-Toff Vitek-MS показано, что выделенные штаммы являются представителями семейств Pseudomonadaceae, Comamonadaceae, Aerococcaceae, Bacillaceae и отнесены к *Pseudomonas alcaligenes*, *Comamonas aquatica*, *Aerococcus viridans*, *Pseudomonas mendocina* и *Bacillus cereus group*.

Патогенные микроорганизмы (*Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *St. aureus*) в воде и донных осадках не обнаружены.

## ОБСУЖДЕНИЕ

На севере Баргузинской котловины сформировались благоприятные геологические условия для разгрузки термальных вод на поверхность в основном гидрокарбонатного и сульфатно-гидрокарбонатного натриевого типа [Плюснин и др., 2013]. Основными факторами формирования химического состава терм БРЗ выступают интенсивность водообмена, температура недр и геохимические особенности дренируемых термами пород [Намсараев и др., 2011]. Проведенный нами гидрохимический анализ воды в момент исследования показал, что вода в источнике Кучигер являлась гидрокарбонатно-сульфатная, натриевая, что подтверждает данные предыдущих исследований [Намсараев и др., 2007; Плюснин и др., 2013; Черняевский и др., 2018].

Характерная особенность химического состава термального источника Кучигер – наличие сероводорода до 29 мг/дм<sup>3</sup>. Термальные воды, проходя через рыхлые отложения и обогащая их сероводородом, создают значительные запасы лечебных сульфидных иловых грязей. В воде зафиксировано высокое содержание фтора – до 26 мг/дм<sup>3</sup>, что обусловле-

но геологическим строением района [Плюснин и др., 2008].

В воде и донных осадках термального источника Кучигер нами выявлен широкий спектр микроэлементов. При выходе термальные воды (температура 121 °С, по разломам с глубины примерно 2–3 км) активно взаимодействуют с породами и формируют химический состав воды. Повышенная концентрация редкоземельных элементов зависит от формы их нахождения в горных породах и определяется степенью взаимодействия воды с горной породой [Плюснин и др., 2008]. В этой работе также отмечено, что высокое содержание редкоземельных элементов в термальном источнике Кучигер, возможно, связано с образованием органоминеральных комплексных соединений.

Деятельность микробного сообщества в термальных источниках зависит от поступления с подземными водами биогенных элементов и субстратов для биохимических реакций и от абиотических факторов, таких как порода, температура и химический состав воды [Намсараев и др., 2007].

По результатам высокопроизводительного секвенирования в микробном сообществе воды и донных осадков доминировал филум *Proteobacteria*, и был представленный классами α-, β-, δ- и σ-*Proteobacteria*. Субдоминантами в изученных образцах являлись филумы *Firmicutes*, *Chloroflexi*, *Nitrospirae*, *Acetothermia* и *Actinobacteria*.

В ранее проведенных исследованиях с использованием высокопроизводительного секвенирования показано, что микробное сообщество термального источника Умхей (БРЗ) представлено филумами *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*. Доминирующие таксоны термального источника Умхей были сходными с таксонами термального источника Кучигер, изученного в данном исследовании [Лаврентьева и др., 2019]. Тогда как в высокотемпературном горячем источнике Алла (БРЗ) доминировали филумы *Deinococcus-Thermus* и *Nitrospirae*, которые составили 81 % от общего состава микробного сообщества [Раднагуруева и др., 2016].

В изученном микробном сообществе донных осадков термального источника Кучигер выявлено преобладание хемолитоавтотрофного сообщества. Так, представители рода

*Thiobacillus* являются облигатными автотрофными сероокисляющими бактериями, которые активно участвуют в круговороте серы в наземных горячих источниках [Frank et al., 2016; Panda et al., 2016]. Облигатные хемолитоавтотрофные бактерии рода *Thiobacillus* используют тиосульфат или сульфид в качестве донора электронов и источника энергии. Представители рода *Thermodesulffovibrio* являются анаэробными хемолитоавтотрофными бактериями и способны восстанавливать сульфат, тиосульфат или сульфит и используют ограниченное количество органических доноров электронов, которые не полностью окислены до ацетата [Frank et al., 2016].

Термофильные бактерии *Geobacter* широко распространены во многих горячих источниках. Представители бактерий рода *Geobacter* уникальны тем, что могут генерировать высокие плотности тока в биоэлектрохимических системах, работающих в условиях высокого содержания солей [Sun et al., 2019]. Эта способность важна для разработки биоэлектрохимических систем, очищающих сточные воды с высоким содержанием солей. Термофильная аэробная хемоорганотрофная нитчатая бактерия *Litorilinea* способна утилизировать различные углеводы.

Облигатно анаэробные бактерии рода *Thermomarinilinea* доминировали в микробном сообществе воды. Нами показано относительно низкое сходство нуклеотидных последовательностей (ниже 90 %) с валидированным штаммом *Thermomarinilinea lacunofontalis*, выделенным из главного гидротермального жерла подводного горячего источника Такетоми (Япония), что указывает на их генетическое отличие от ранее охарактеризованных видов в классе *Anaerolineae*. Хемолитотрофные бактерии рода *Gallionella*, как правило, предпочитают среды с низким содержанием кислорода. Нуклеотидные последовательности показали наибольшее сходство (95,8 %) с некультивируемой линией *Candidatus Gallionella acididurans* ShG14-8 семейства *Gallionellaceae*. В работе [Кадников и др., 2016] показано, что при реконструировании генома у *Candidatus Gallionella acididurans* ShG14-8 окисление Fe(II), вероятно, связано с цитохромами, локализованными на внешней клеточной мембране. Окисление восстановленных соединений серы, вероятно, включало

систему Sox, сульфид-хиноноксидоредуктазу, аденилсульфатредуктазу и сульфатаденилтрансферазу. Большое количество транспортеров металлов RND и АТФаз типа P, вероятно, ответственны за устойчивость к тяжелым металлам [Кадников и др., 2016].

В ранее проведенных исследованиях в горячих источниках БРЗ уже было показано, что представители некультивируемых ацетогенов филума кандидата *Acetothermia* доминировали в воде, микробных матах и донных осадках горячих источников Алла, Гарга Умхей [Zaitseva et al., 2017; Lavrentyeva et al., 2018]. Считается, что представители этого филума являются одной из самых ранних эволюционных ветвей домена Bacteria [Colman et al., 2022].

В горячем источнике Алла (БРЗ) показано [Zaitseva et al., 2017] присутствие некультивируемых представителей филума кандидата *Aminicenantes*. Бактерии-кандидаты филума *Aminicenantes* были идентифицированы в различных наземных и морских экосистемах в результате молекулярного анализа микробных сообществ. Реконструированные центральные метаболические пути позволили предположить, что *Aminicenantes*, по-видимому, включает организмы с различными метаболическими способностями, включая окисление ацетата по пути Вуда – Лунгдаля, аэробное дыхание и ферментацию [Kadnikov et al., 2019].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе впервые представлено таксономическое разнообразие микробных сообществ воды и донных осадков в транзитной зоне смешения подземных и поверхностных вод термального источника Кучигер, определен гидрохимический и микроэлементный состав воды и донных осадков.

Поступление химических веществ с подземными водами и высокие температуры создают благоприятные условия для развития микроорганизмов. Эти специфические условия влияют на разнообразие микробного сообщества. В термальном источнике Кучигер состав микробного сообщества воды и донных осадков в транзитной зоне смешения подземных и поверхностных вод представлен различными таксономическими группами, характери-

зующимися различными типами метаболизма и способными использовать широкий спектр доноров и акцепторов электронов. Хемолитотрофные бактерии, такие как *Thiobacillus*, *Thermodesulfovibrio*, *Geobacter* и *Gallionella*, являлись доминирующей группой в изученных микробных сообществах воды и донных осадков. Проведенная санитарная оценка свидетельствует о том, что, несмотря на активное использование изученного термально-го источника в бальнеологических целях, все показатели находятся в норме. По содержанию ОМЧ образцы воды и донных осадков соответствуют санитарно-микробиологическим нормам (не превышают 100 КОЕ/мл). Выделенные бактерии являются органотрофными организмами и принимают активное участие в деструкции органического вещества.

Таким образом, можно предположить, что микробное сообщество воды и донных осадков в термальном источнике Кучигер участвуют в трансформации химических веществ, образовании и потреблении газов, в биогеохимических циклах углерода и серы, формировании химического состава и лечебного фактора вод и донных осадков.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-27-00131, <https://rscf.ru/project/23-27-00131/>.

## ЛИТЕРАТУРА

- Кадников В. В., Ивасенко Д. А., Белецкий А. В., Марданов А. В., Данилова Э. В., Пименов Н. В., Карначук О. В., Равин Н. В. Влияние содержания металлов на состав микробных сообществ кислых дренажных вод месторождения полиметаллических руд // Микробиология. 2016. Т. 85, № 6. С. 732–739.
- Лаврентьева Е. В., Банзаракцаева Т. Г., Раднагуруева А. А., Бурюхаев С. П., Дамбаев В. Б., Батурина О. А., Козырева Л. П., Бархутова Д. Д. Микробное сообщество термального озера Умхей (Байкальская рифтовая зона) в зоне разгрузки подземных вод // Сиб. экол. журн. 2019. Т. 26, № 6. С. 715–726 [Lavrentyeva E. V., Banzaraktsaeva T. G., Radnagurueva A. A., Buryukhaev S. P., Dambaev V. B., Baturina A. O., Kozyreva L. P., Barkhutova D. D. Microbial community of Umkhei thermal lake (Baikal rift zone) in the groundwater discharge zone // Contemporary Problems of Ecology. 2019. Vol. 12, N 6. P. 584–593].
- Лаврентьева, Е.В., Раднагуруева А. А., Банзаракцаева Т. Г., Базаров С. М., Бархутова Д. Д., Ульзетueva И. Д., Чернявский М. К., Кабилов М. Р. Филогенетический анализ микробного мата горячего источника Гарга (Байкальская рифтовая зона) и разнообразие природных пептидаз // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017. № 21 (8). С. 959–963. doi: 10.18699/VJ17.319
- Намсараев Б. Б., Бархутова Д. Д., Данилова Э. В., Брянская А. В., Бурюхаев С. П., Гармаев Е. Ж., Горленко В. М., Дагурова О. П., Дамбаев В. Б., Зайцева С. В., Замана Л. В., Зякун А. М., Лаврентьева Е. В., Намсараев З. Б., Плюснин А. М., Татаринов А. В., Турунхаев А. В., Хахинов В. В., Цыренова Д. Д., Яловик Л. И. Геохимическая деятельность микроорганизмов гидротерм Байкальской рифтовой зоны. Новосибирск: Акад. изд-во “Гео”, 2011. 302 с.
- Намсараев Б. Б., Хахинов В. В., Гармаев Е. Ж., Бархутова Д. Д., Намсараев З. Б., Плюснин А. М. Водные системы Баргузинской котловины. Улан-Удэ: Изд-во Бурятского гос. ун-та, 2007. 154 с.
- Плюснин А. М., Замана Л. В., Шварцев С. Л., Токаренко О. Г., Чернявский М. К. Гидрохимические особенности состава азотных терм Байкальской рифтовой зоны // Геология и геофизика. 2013. Т. 54, № 5. С. 647–664 [Plyusnin A. M., Zamana L. V., Shvartshev S. L., Tokarenko O. G., Chernyavskii M. K. Hydrogeochemical peculiarities of the composition of nitric thermal waters in the Baikal Rift Zone // Russian Geology and Geophysics. 2013. Vol. 54, N 5. P. 495–508].
- Плюснин А. М., Чернявский М. К., Посохов В. Ф. Условия формирования гидротерм Баргузинского Прибайкалья по данным микроэлементного и изотопного состава // Геохимия. 2008. № 10. С. 1063–1072 [Plyusnin A. M., Chernyavskii M. K., Posokhov V. F. Formation conditions of thermal springs in the Barguzin-Baikal area: Evidence from trace element and isotopic composition // Geochemistry International. 2008. Vol. 46, N 10. P. 996–1004].
- Раднагуруева А. А., Лаврентьева Е. В., Будагаева В. Г., Бархутова Д. Д., Дунаевский Я. Е., Намсараев Б. Б. Органотрофные бактерии горячих источников Байкальской рифтовой зоны // Микробиология. 2016. Т. 85, № 3. С. 347–360 [Radnagurueva A. A., Lavrentieva E. V., Budagaeva V. G., Barkhutova D. D., Dunaevsky Ya. E., Namsaraev B. B. Organotrophic bacteria of the Baikal rift zone hot springs// Microbiology. 2016. Vol. 85, N 3. P. 367–378]
- Чернявский М. К., Плюснин А. М., Дорошевич С. Г., Будаев Р. Ц. Рекреационно-бальнеологические особенности северо-восточной части Баргузинской котловины // География и природ. ресурсы. 2018. № 2. С. 63–72.
- Barkhutova D. D., Buryukhaev S. P., Dambaev V. B., Tsyrenova D. D., Lavrentyeva E. V. Taxonomical and functional diversity of microbial communities in two hot springs of the Baikal rift zone // IOP Conf. Series: Earth and Environmental Sci. 2021. Vol. 908. P. 012001.
- Brouchkov A., Kabilov M., Filippova S., Baturina O., Rogov V., Galchenko V., Mulyukin A., Fursova O., Pogorelko G. Bacterial community in ancient permafrost alluvium at the Mammoth Mountain (Eastern Siberia) // Gene. 2017. Vol. 636. P. 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.09.021>
- Colman D. R., Kraus E. A., Thieringer P. H., Rempfert K., Templeton A. S., Spear J. R., Boyd E. S. Deep-branching acetogens in serpentized subsurface fluids of Oman // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2022. Vol. 18, N 119 (42). doi: 10.1073/pnas.2206845119
- Edgar R. C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads // Nat. Methods. 2013. Vol. 10. P. 996–998.
- Edgar R. C. SINTAX: a simple non-Bayesian taxonomy classifier for 16S and ITS sequences // bioRxiv preprint. 2016. P. 1–20. <https://doi.org/10.1101/074161>

- Fadrosh D. W., Ma B., Gajer P., Sengamalay N., Ott S., Brotnan R. M., Ravel J. An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumina MiSeq platform // *Microbiome*. 2014. Vol. 2. Art. 6. P. 1–7. <https://doi.org/10.1186/2049-2618-2-6>
- Frank Y. A., Lukina A. P., Sen'kina E.I., Avakyan M. R., Karnachuk O. V., Kadnikov V. V., Beletsky A. V., Mardanov A. V., Ravin N. V., Banks D. Characterization and genome analysis of the first facultatively alkaliphilic thermodesulfobacter isolated from the deep terrestrial subsurface // *Front. Microbiol.* 2016. T. 7, N Dec. P. 2000.
- Kadnikov V. V., Mardanov A. V., Beletsky A. V., Karnachuk O. V., Ravin N. V. Genome of the candidate phylum Aminicenantes bacterium from a deep subsurface thermal aquifer revealed its fermentative saccharolytic lifestyle // *Extremophiles*. 2019. Vol. 23 (2). P. 189–200. doi: 10.1007/s00792-018-01073-5
- Lavrentyeva E. V., Banzarakaeva T. G., Dambaev V. B., Radnagurueva A. A., Kozyreva L. P. Taxonomic composition and proteolytic potential in the microbial mat of the Uro hot spring (the Baikal rift zone) // IOP Conf. Series: Earth and Environmental Sci. 2021. P. 012005. doi: 10.1088/1755-1315/908/1/012005
- Lavrentyeva E. V., Radnagurueva A. A., Barkhutova D. D., Belkova N. L., Zaitseva S. V., Namsaraev Z. B., Gorlenko V. M., Namsaraev B. B. Bacterial Diversity and Functional Activity of Microbial Communities in Hot Springs of the Baikal Rift Zone // *Microbiology*. 2018. Vol. 87, N 2. P. 272–281
- Mats V. D., Perepelova T. I. A new perspective on evolution of the Baikal Rift // *Geosci. Frontiers*. 2011. Vol. 2, N 3. P. 349–365.
- Panda A. K., Bisht S. S., de Mandal S., Kumar N. S. Bacterial and archeal community composition in hot springs from Indo-Burma region, North-east India // *AMB Expr.* 2016. Vol. 6. P. 111. <https://doi.org/10.1186/s13568-016-0284-y>
- Rozanov A. S., Bryanskaya A. V., Iivanisenko T. V., Malup T. K., Peltek S. E. Biodiversity of the microbial mat of the Garga hot spring // *BMC Evolut. Biol.* 2017. Vol. 17. P. 254
- Stom D. I., Topchy I. A., Zhdanova G. O., Barkhutova D. D., Zaitseva S. V., Kupchinsky A. B., Ponamoreva O. N., Alferov S. V., Tolstoy M. Yu., Chesnokova A. N., Bu-laev A. G. Microorganisms of microbial mats from alkaline hot spring of Baikal Rift Zone as bioagents in a biofuel cell // *Geomicrobiol. J.* 2022. Vol. 39. Is. 7. P. 566–576. doi: 10.1080/01490451.2022.2054030
- Sun D., Wan X., Liu W., Xia X., Huang F., Wang A., Smith J. A., Dang Y., Holmes D. E. Characterization of the genome from *Geobacter anodireducens*, a strain with enhanced current production in bioelectrochemical systems // *RSC Adv.* 2019. Vol. 9 (44). P. 25890–25899. doi: 10.1039/C9RA02343G
- Wang Q., Garrity G. M., Tiedje J. M., Cole J. R. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy // *Appl. Environ. Microbiol.* 2007. Vol. 73. P. 5261–5267
- Zaitseva S. V., Lavrentieva E. V., Radnagurueva A. A., Baturina O. A., Kabilov M. R., Barkhutova D. D. Distribution of *Acetothermia*-dominated microbial communities in alkaline hot springs of Baikal Rift Zone // *PeerJ Preprints*. 2017. Vol. 5. P. e3492v1. <https://doi.org/10.7287/peerj.preprints.3492v1>
- Zippa E. V., Plyusnin A. M., Shvartsev S. L. The chemical and isotopic compositions of thermal waters and gases in the Republic of Buryatia, Russia // *E3S Web of Conferences*. 2019. Vol. 98. P. 01055. doi.org/10.1051/e3s-conf/20199801055

## Taxonomic Diversity of the Microbial Community in the Kuchiger Thermal Spring (Baikal Rift Zone)

E. V. LAVRENTYEVA<sup>1, 2</sup>, A. A. RADNAGURUEVA<sup>1</sup>, O. A. BATURINA<sup>3</sup>, V. V. KHAKHINOV<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of General and Experimental Biology SB RAS  
670047, Ulan-Ude, Sakhyanova srt., 6*

<sup>2</sup>*Buryat State University named by D. Banzarova  
670000, Ulan-Ude, Smolina str., 24a*

<sup>3</sup>*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS  
630090, Novosibirsk, Akademik Lavrentiev av., 8  
E-mail: lena\_l@mail.ru*

The hydrochemical and microelement composition of water and bottom sediments was determined in the Kuchiger thermal spring (Baikal rift zone). The entry of chemicals with groundwater and high temperatures create favorable and specific conditions for the development of microorganisms. The taxonomic diversity of the microbial community of water and bottom sediments was studied using the analysis of 16S rRNA gene

aplicons. 107619 nucleotide sequences assigned to 211 OTUs were analyzed. In the studied samples of water and bottom sediments, bacteria dominated, representatives of archaea accounted for 0.2–3.1 %. The phylum *Proteobacteria* dominated in microbial communities. The subdominants in the studied samples were the phyla *Firmicutes*, *Chloroflexi*, *Nitrospirae*, *Acetothermia*, and *Actinobacteria*, where their ratio varied depending on the biotope. A characteristic feature of the microbial community in the Kuchiger thermal spring is the dominance of chemolithotrophic bacteria.

**Key words:** thermal spring, taxonomic diversity of the microbial community, high throughput sequencing, *16S rRNA* gene.