

На правах рукописи



Эрдынеева Елена Базыровна

**МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА ЩЕЛОЧНЫХ ОЗЕР ПУСТЫНИ
БАДАИН ЖАРАН (КИТАЙ) И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ
ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ**

03.02.08 - Экология
(биологические науки)

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Иркутск – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН» (ФГБУН ИОЭБ СО РАН).

Научный руководитель: Лаврентьева Елена Владимировна, кандидат биологических наук, с.н.с. лаборатории микробиологии ФГБУН Института общей и экспериментальной биологии СО РАН

Научный консультант: Дунаевский Яков Ефимович, доктор биологических наук, профессор, г.н.с. лаборатории отдела белков растений НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, МГУ имени М.В. Ломоносова.

Официальные оппоненты: Плотникова Елена Генриховна, доктор биологических наук, доцент, в.н.с. лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук (ИЭГМ УрО РАН).

Ломакина Анна Владимировна, кандидат биологических наук, с.н.с. лаборатории микробиологии углеводов ФГБУН Лимнологический институт СО РАН.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук».

Защита диссертации состоится 28 февраля 2020 г. в 16 часов на заседании диссертационного совета Д 212.074.07 при ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» по адресу: 664003, г. Иркутск, ул. Сухэ-Батора, 5, Байкальский музей им. профессора М. М. Кожова (ауд. 219).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» им. В. Г. Распутина по адресу: 664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 124 и на сайте Иркутского государственного университета: https://isu.ru/filearchive/dissert/disser_ErdyneevaEB.pdf.

Отзывы просим направлять ученому секретарю диссертационного совета по адресу: 664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1, биолого-почвенный факультет ИГУ. Тел./факс: (3952)24-18-55, e-mail: dissovet07@gmail.com

Автореферат разослан 14 января 2020 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук, доцент



А. А. Приставка

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Содово-соленые озера являются удобной моделью для изучения микробной экологии галоалкалофильных бактерий в природных экстремальных местах обитания и являются объектом интенсивных исследований (Sorokin et al., 2015; Grant et al., 2016; Kulkarni et al., 2019). Это связано с выяснением роли микроорганизмов в функционировании данных экстремальных мест обитания, открытием новых видов галофильных и алкалофильных представителей микробного сообщества, а также с возможностью использования ферментов и других метаболитов этих микроорганизмов в различного рода биотехнологических производствах (Casamayor, 2013; Parmar et al., 2014; Kumar et al., 2015; Malekabadi et al., 2017; Sorokin et al., 2017; Karray et al., 2018; Kevbrin, 2019).

В микробном сообществе гидролитические бактерии являются инициаторами процесса деструкции органического вещества в природных местообитаниях. В составе органического вещества одним из основных компонентов является белок, разложение которого осуществляется пептидазами протеолитических бактерий. Процесс деструкции белка ферментами имеет важное биологическое значение, так как играет регулируемую роль в функционировании как клетки, так и экосистемы в целом (Boltyanskaya et al., 2016; Ruvindy et al., 2016; Vavourakis et al., 2016; Boltyanskaya et al., 2018).

В пустыне Бадаин Жаран расположено более 100 малоизученных труднотупных содово-соленых озер, различающихся по минерализации, рН и химическому составу. В настоящий момент исследования по изучению разнообразия микробных сообществ в этих содово-соленых озерах проведены эпизодически (Li et al., 2015; Banda et al., 2019). Также определение метаболических свойств и оценка биотехнологического потенциала микроорганизмов, выделенных из данных экосистем, ранее не проводились. Это делает актуальным проведение новых исследований, связанных с изучением распространения, разнообразия и функциональной активности протеолитических бактерий в микробных сообществах экстремальных водных систем.

Цель работы: установить разнообразие галоалкалофильного микробного сообщества и функциональную активность протеолитических бактерий в содово-соленых озерах пустыни Бадаин Жаран.

Основные задачи исследования:

1. Определить экологические условия, влияющие на формирование состава экстремальных микробных сообществ в содово-соленых озерах пустыни Бадаин Жаран;

2. Выявить таксономическую структуру микробного сообщества. Установить влияние солености на формирование состава основных доминирующих групп прокариот с помощью метода секвенирования фрагментов гена 16S рРНК;

3. Определить филогенетическую принадлежность чистых культур протеолитических бактерий и охарактеризовать эколого-физиологические свойства;

4. Установить диапазон функционирования ферментов (рН, температура и соленость) и определить функциональную роль галоалкалофильных пептидаз в деструкции органического вещества.

Научная новизна работы. Впервые дана характеристика таксономического разнообразия микробных сообществ различных экотопов в содово-соленых озерах пустыни Бадаин Жаран (Китай) методом высокопроизводительного секвенирования по гену 16S рРНК.

Впервые охарактеризованы протеолитические алкалофильные и галофильные бактерии из содово-соленых озер пустыни Бадаин Жаран. По эколого-физиологическим свойствам выделенные бактерии относятся к алкалофилам и облигатным алкалофилам, оптимум рН роста которых находится в пределах 8 – 10 с диапазоном роста 7 - 10,5. По отношению к NaCl бактерии проявили свойства облигатных и экстремальных галофилов с диапазоном роста от 20 до 300 г/л.

Впервые дана характеристика протеолитических ферментов у чистых культур на различных *nara*-нитроанилидных субстратах. Получены лабораторные препараты пептидаз и охарактеризованы их физико-химические свойства. Показано, что щелочные пептидазы бактерий выдерживают соленость до 200 г/л и рН до 10,5.

Связь работы с научными программами. Работа выполнена в рамках темы госзадания № госрегистрации АААА-А17-117011810034-9, и при финансовой поддержке гранта Министерства образования и науки РФ № 6.9754.2017/БЧ.

Теоретическая и практическая значимость полученных результатов. Полученные данные расширяют представления о разнообразии микробных сообществ в содово-соленых озерах. Выделенные штаммы бактерий обладают высокой рН и галостабильностью пептидаз. Экспериментально было показано, что штамм *Halomonas mongoliensis* - активный продуцент металлопептидаз, является устойчивым к воздействию детергентов (SDS, Triton X -100 и H₂O₂). Получены и охарактеризованы лабораторные ферментные препараты.

Результаты исследований будут включены в учебный процесс при изучении экологии, микробиологии в высших учебных заведениях и подготовке учебно-методических пособий.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Распределение доминирующих таксонов зависит от конкретных экологических условий (соленость, гидрохимические условия и др.). В биотопах с соленостью до 200 г/л доминируют бактерии филумов *Proteobacteria* и *Cyanobacteria*, с увеличением солености до 277 г/л обнаружена высокая доля бактерий филума *Bacteroidetes*, при минерализации до 495 г/л преобладают экстремально галофильные археи филума *Euryarchaeota*.

2. Протеолитические бактерии семейства *Bacillaceae* и *Halomonadaceae* принимают участие в деструкции органических соединений в местах обитания за счет активного синтеза галоалкалофильных пептидаз. Активность и стабильность

пептидаз изученных бактерий позволяют установить границы приспособляемости и функционирования прокариотной клетки в экстремальных условиях среды обитания.

Апробация работы и публикации. Результаты исследований были доложены и обсуждены на конференциях: III Пущинская школа – конференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов» (Пущино, 2016), II Всероссийская конференция с международным участием «Высокопроизводительное секвенирование в геномике» (Новосибирск, 2017), 13th International Conference on Salt Lake Research (Улан-Удэ, 2017).

По материалам диссертации опубликовано 8 печатных работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК для публикации материалов кандидатских диссертаций.

Личный вклад. Автор принимал участие в экспериментальной работе, обработке и обсуждении результатов. Все результаты за исключением химического анализа воды и проведения секвенирования получены автором. Автор проанализировал литературу по теме диссертационной работы, провёл статистическую обработку, участвовал в подготовке материала и написании научных статей в рецензируемых журналах.

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 139 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Диссертация содержит 15 таблиц и 22 рисунка.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность научному руководителю к.б.н. Е.В. Лаврентьевой за постановку задач и всестороннюю поддержку и научному консультанту д.б.н., проф. Я.Е. Дунаевскому за помощь в проведении исследовательской работы и интерпретации полученных результатов; д.б.н., проф. Б.Б. Намсараеву и к.б.н. З.Б. Намсараеву за предоставление проб; к.б.н. Н.Л. Бельковой за помощь в обработке молекулярно-генетических результатов, д.б.н., проф. М.А. Белозерскому и всем сотрудникам лаборатории белков растений НИИ Физико-Химической биологии МГУ им. Белозерского за помощь в проведении биохимических анализов и доброе отношение. Автор искренне признателен всем сотрудникам и аспирантам лаборатории микробиологии ИОЭБ СО РАН за предоставление технической базы, содействие в процессе работы и моральную поддержку.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе обобщены и представлены сведения по условиям формирования, разнообразия и функционирования микробных сообществ в содово-соленых озерах по всему миру, о применении галоалкалофильных микроорганизмов в промышленности и об их протеолитических ферментах.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

Объектами исследования являлись микробные сообщества содово-соленых озер пустыни Бадаин Жаран ($39^{\circ}20' - 41^{\circ}30'$ с.ш., $99^{\circ}48' - 102^{\circ}27'$ в.д.), которые расположены в северо-западной части Алашаньского нагорья Внутренней Монголии, Китай (Рис. 1).

Пустыня Бадаин Жаран площадью 49 тыс.км². Пустыня окружена горами с трех сторон: на юго-западе горы Хели, Бейда и Лонгшоу, на северо-востоке гора Зонгнай, на юго-востоке гора Ябулай, которая отделяет Бадаин Жаран от пустыни Тэнгэр. Высота пустыни Бадаин Жаран постепенно уменьшается с 1800 м на юго-востоке до 1000 м над уровнем моря на северо-западе. В настоящее время климат пустыни Бадаин Жаран классифицируется как резко континентальный, с холодными зимами и очень малым количеством осадков (<90 мм, преимущественно выпадающих с июня по август и уменьшающихся с юго-востока на северо-запад). Годовое потенциальное испарение больше 2500 мм и среднегодовая температура от 9,5 до 10,3 °C (Chen et al., 2019).



Рисунок 1.
Географическое
расположение
пустыни Бадаин
Жаран.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Отбор проб

Для исследования микробного сообщества из 7 содово-соленых озер в августе 2013 года были отобраны пробы из различных биотопов: вода, донные осадки, микробный мат и солевая корка (Табл. 1). До проведения анализов пробы хранили в стерильной пробирке 50 мл в темноте при температуре +4 °C. Для молекулярно-генетического анализа пробы фиксировали этанолом до конечной концентрации не менее 70 %.

Таблица 1. Географические координаты и виды проб

Название озера	№ Станции	GPS, с.ш./в.д	Биотопы
Бадаин	Vj-11	39°33'123"/102°21'878"	Д.О.
	Vj-02	39°33'152"/102°21'424"	М.М.
	Vj-02в	39°33'152"/102°21'424"	В.
	Vj-01	39°33'195"/102°21'725"	Д.О.
Ихар	Vj-09	39°43'765"/102°19'258"	М.М.
	Vj-10	39°43'215"/102°19'514"	М.М.
Нуорту	Vj-03с	39°46'045"/102°27'914"	М.М.
Барун Жаран	Vj-08	39°47'602"/102°25'451"	М.М.
Сумуджилин	Vj-07	39°48'376"/102°25'734"	М.М.
Ундерту	Vj-05	39°51'557"/102°27'090"	К.С.
	Vj-06	39°51'321"/102°26'992"	М.М.
Хухэджилин	Vj-04	39°52'486"/102°27'625"	М.М.

Примечание: Д.О. – донный осадок; М.М. – микробный мат; К.С. – корковая соль; В. – вода.

2.2.2. Физико-химические и гидрохимические методы исследования

В местах отбора проб с помощью портативных приборов определяли рН, общую минерализацию и температуру воды. Концентрацию карбонат- и гидрокарбонат ионов определяли стандартными методами гидрохимии (Резников et al., 1970). Для изучения ионного состава воды применяли следующие методы: атомно-эмиссионную спектрометрию с индуктивно связанной плазмой, ионную хроматографию и капиллярный электрофорез (работа была выполнена в аналитической лаборатории ИНХ СО РАН, г. Новосибирск).

2.2.3. Методы молекулярно - генетического анализа

ДНК выделяли с помощью набора AxyPrep Bacterial Genomic DNA Miniprep Kit (Ахуген, США). Глубокое секвенирование ампликонов V3-V4 16S рРНК проведено в ЦКП «Геномика» СО РАН (ИХБФМ СО РАН) на платформе MiSeq (Illumina). Полученные парно-концевые сиквенсы 2x300 нт. проходили биоинформатическую обработку. Первоначально с помощью CLC GW 7.0 парные риды «сливались» в одну последовательность, и проводилась фильтрация по качеству (QV>25) и отсутствию вырожденных позиций. Далее с использованием usearch 7.0 проводился поиск химер, которые удалялись. Классификация на уровне классов, семейств, родов и филумов осуществлялась с помощью программы RDP Classifier (<https://rdp.cme.msu.edu>).

Идентификация штаммов по нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК. Для проведения полимеразной цепной реакции и дальнейшего секвенирования ПЦР-фрагментов гена 16S рРНК клеток чистых культур

использовали универсальную систему праймеров (Fadrosh et al., 2014). Для измерения концентрации ДНК использовали флуорометр Qubit® 2.0 с набором для анализа dsDNA HS (High Sensitivity) (Life Technologies, США).

Секвенирование осуществляли в ООО «Биоспарк», г. Москва. Полученные последовательности сравнивали с хранящимися в мировой базе NCBI данными с использованием сервера BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Выравнивание полученных последовательностей гена 16S рРНК проводили с помощью программы BioEdit Version 7.0.4. Построение филогенетического древа выполнено с использованием метода максимального правдоподобия «Maximum Likelihood» в программе MEGA6 (Tamura et al., 2007).

2.2.4. Методы учета численности и выделения чистых культур из содово-соленых озер

Для учета численности и выделения галоалкалофильных микроорганизмов проводили посев на модифицированную среду Пфеннига следующего состава (г/л): NH_4Cl – 0,5; KH_2PO_4 – 0,5; MgCl_2 – 0,5; CaCl_2 – 0,05; NaCl – 100; дрожжевой экстракт – 0,5. В качестве субстрата использовали пептон 5 г/л. Значение pH среды доводили 10 % бикарбонатно-карбонатным буфером до 8,5 - 9,5, время культивирования 3 суток при температуре 30 °С. Чистоту культур контролировали микроскопированием по однородности клеток.

2.2.5. Метод элементного анализа CHN

Определение общего содержания С, Н и N осуществляли анализатором Perkin Elmer 2400 Series II. Перед анализом исследуемые биотопы растирали в ступке и высушивали при 60 °С. Режимы CHN основаны на классическом методе Прегла Дюма, при котором образцы сжигаются в среде чистого кислорода, а полученные газы сгорания измеряются в автоматическом режиме. Содержание валового белка в биотопах (CGr, %) рассчитывали по следующему уравнению: $\text{CGr} = 6,25 \times \text{N}$, где N – общий азот в биомассе (%) (Couillard and Zhu, 1993).

2.2.6. Изучение эколого-физиологических свойств чистых культур

Температурные диапазоны развития бактерий устанавливали в градиентном термостате от 20 до 60 °С и в холодильнике от 5 до 10 °С. Диапазон pH (от 6,0 до 11,0) устанавливали 0,5 М NaOH и 25 % раствором HCl. Способность к использованию различных источников питания проверяли на минеральной среде, в которую вносили испытуемые источники углеводов и белка в концентрации 2 % от объема среды. Биомассу бактерий определяли по изменению оптической плотности культуры при длине волны 560 нм (Нетрусов, 2005).

2.2.7. Методы определения внеклеточной протеолитической активности

Белковый экстракт из нативных проб получали путем перетирания 1 см² биотопа с добавлением 1 мл 1 М фосфатного буфера pH 7 в ступке. Биомассу отделяли центрифугированием (12000 об./мин. в течение 15 мин) и отбирали супернатант.

Для определения протеолитической активности использовали 5 мМ *para*-нитроанилидные субстраты, специфичные для эндопептидаз и аминопептидаз. Количество образовавшегося продукта (*para*-нитроанилина) определяли спектрофотометрически при 405 нм. За 1 единицу активности (ЕА) принимали изменение оптической плотности опытных растворов относительно контрольных на 0,01 за 12 ч при 405 нм и 37 °С. Общую концентрацию белка определяли спектрофотометрически при 280 нм.

Процедура частичной очистки внеклеточных пептидаз включала две последовательные стадии: диализ культуральной жидкости и ионообменную хроматографию на колонке Mono Q в отношении к хлориду натрия были подготовлены солевые растворы с концентрацией NaCl от 0 до 300 г/л (0, 10, 30, 50, 80, 100, 150, 200, 250, 300 г/л).

Для выяснения природы функциональных групп активного условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии (FPLC). В полученных образцах измеряли содержание белка и ферментативную активность, которые использовались для вычисления общей активности, удельной активности, степени очистки и выхода.

Для определения оптимума pH активности и стабильности фермента был использован универсальный буфер в диапазоне pH 2–11 с шагом 1. В состав буфера входили 0,02 М H₃PO₄, 0,02 М CH₃COOH, 0,02 М H₃BO₃; необходимое значение pH получали, добавляя к смеси кислот 1 М NaOH. Температурный оптимум и стабильность фермента определяли, измеряя активность фермента при температурах от 30 до 60 °С. При определении оптимума и стабильности секретируемых пептидаз по отношению к хлориду натрия были подготовлены солевые растворы с концентрацией NaCl от 0 до 300 г/л (0, 10, 30, 50, 80, 100, 150, 200, 250, 300 г/л).

Для выяснения природы функциональных групп активного центра пептидаз бактерий исследовали влияние специфичных ингибиторов на активность сериновых пептидаз (PMSF - фенилметилсульфонилфторид) и металлопептидаз (EDTA - этилендиаминтетраацетат натрия).

Влияние растворов некоторых поверхностно-активных веществ (Triton X-100 и SDS) и окислителя (H₂O₂) на стабильность фермента изучали путем

предварительной инкубации ферментов с ними в течение 4 часов при 37 °С. Активность фермента без какой-либо добавки была принята за 100 %.

2.2.8. Статистическая обработка данных.

Статистическую обработку данных проводили по стандартным методикам (Гланц, 1998) с использованием программного пакета Microsoft Excel 2010 для Windows 7. Для полученных данных рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение. Анализ основных компонент (PCA) на основании данных ионного состава и канонический анализ соответствия (ССА) были выполнены с использованием программного обеспечения Xlstat 2019 (<https://www.xlstat.com/en/>).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Характеристика экологических условий среды обитания микробных сообществ

Минерализация воды в исследуемых озерах колебалась от 6 до 495 г/л (Табл. 2). На момент отбора проб значение рН воды составляло 8,9 - 9,9, температура воды варьировала от 21 до 36,3 °С.

По ионному составу в исследуемых озерах преобладали катионы Na^+ . Максимальные значения были обнаружены в станциях Вj-05 и Вj-02, наименьшее содержание было в восточном озере Бадаин - 1,48 г/л. Содержание K^+ составило от 0,09 до 29,15 г/л. Катионы Ca^{2+} в исследуемых объектах не превышали 0,07 г/л.

Концентрация анионов Cl^- и $\text{CO}_3^{2-} + \text{HCO}_3^-$ было в пределах от 1,32 до 154 г/л и от 2,05 до 174,6 г/л соответственно. Также в исследуемых озерах отмечено высокое содержание SO_4^{2-} (до 78,5 г/л).

Общее содержание ионов исследуемых озер суммировано на тройных графиках в зависимости от ранга доминирующих ионов, катионы и анионы рассмотрены отдельно (Рис. 2а, б).

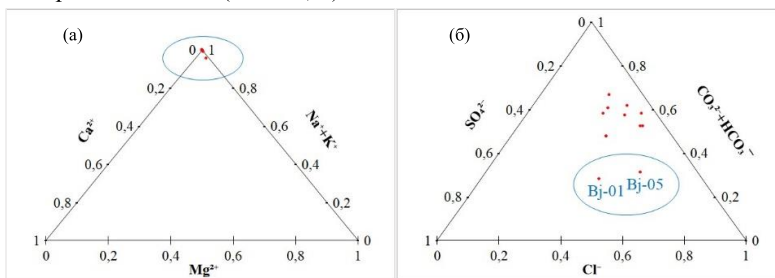


Рисунок 2. Трехкомпонентная диаграмма процентного вклада катионов (а) и анионов (б) в исследуемых образцах.

На основании ионного состава можно разделить исследуемые озера на «содовые» и «содово-соленые» (Boros and Kolpakova, 2018). К «содовым» отнесены озера, где сумма $\text{CO}_3^{2-} + \text{HCO}_3^-$ преобладает среди всех анионов, а к «содово-соленому» типу - те озера, где количество аниона Cl^- больше $\text{CO}_3^{2-} + \text{HCO}_3^-$ - это станции Вj-01 и Вj-05.

Согласно анализу основных компонент (PCA) количество Mg^{2+} и Ca^{2+} отрицательно коррелирует с остальными ионами, температурой и pH вдоль первой оси (PC1), что объясняет 57,97 % от общего отклонения (Рис. 3). Сумма CO_3^{2-} и HCO_3^- , K^+ и Cl^- также отрицательно коррелирует с другими ионами вдоль второй оси (PC2), что объясняет 19,57 % изменения. Проба Вj-11 по всем параметрам характеризуется низким содержанием всех ионов. В образцах Вj-01 и Вj-03с выше содержание ионов Mg^{2+} и Ca^{2+} по сравнению с другими станциями. Пробы Вj-04, Вj-06, Вj-07, Вj-08, Вj-09 и Вj-10 наименее взаимосвязаны с температурой, pH и со всеми ионами оси PC2, где содержание катионов Na^+ и K^+ и анионов Cl^- , SO_4^{2-} и $\text{CO}_3^{2-} + \text{HCO}_3^-$ в два раза ниже, по сравнению с лагунами высокоминерализованных озёр Бадаин - Вj-02 и Ундерту – Вj-05.

Таким образом, изученные озера пустыни Бадаин Жаран были выделены в 4 группы: **I:** Вj-11; **II:** Вj-04, Вj-06, Вj-07, Вj-08, Вj-09 и Вj-10; **III:** Вj-01 и Вj-03с; **IV:** Вj-02, Вj-02в и Вj-05 (Рис. 3).

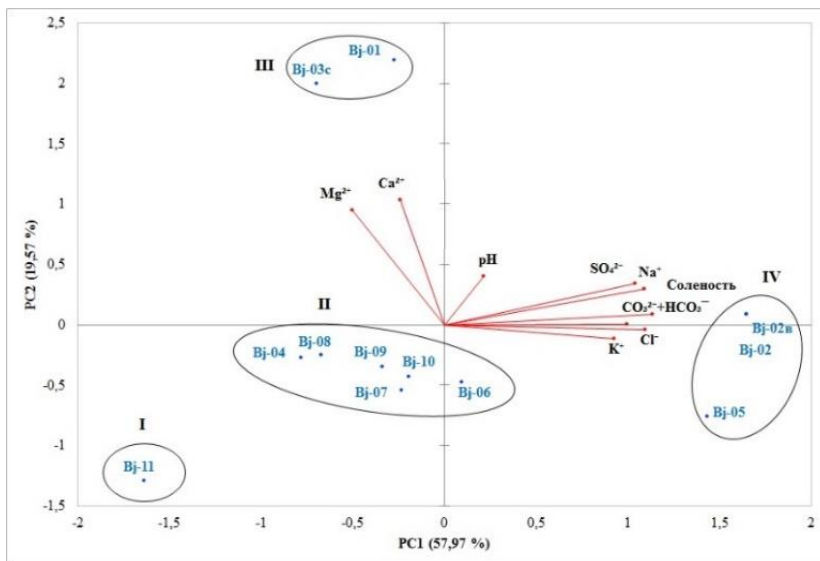


Рисунок 3. Анализ основных компонент (PCA) по ионному составу в исследуемых станциях.

Таблица 2. Гидрохимический состав содовых и содово-соленых озер пустыни Бадаин Жаран

Название озера	Станция	Т, °С	pH	Соле- ность	г/л						
					Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	CO ₃ ²⁻ + HCO ₃ ⁻
Бадаин	Вj-11	22	8,9	6	1,48	0,1	0,01	0,06	1,32	0,17	2,05
	Вj-02	29	9,7	495	150	14	0,01	0,006	114	78,5	174,6
	Вj-02в	29	9,7	495	150	14	0,01	0,006	114	78,5	174,6
	Вj-01	25	9,5	277	85	6,4	0,07	0,4	59,1	51,3	42,91
Ихар	Вj-09	22	9,5	210	54	8,3	0,01	0,2	62,3	11	80,66
	Вj-10	21,2	9,6	220	59	10	0,01	0,14	64,7	13	85,53
Нуоргу	Вj-03с	31,4	9,7	108	65	9	0,04	0,68	35,2	24,4	82,14
Барун Жаран	Вj-08	22,2	9,7	145	46	4,4	0,01	0,2	36,5	9	72,8
Сумуджилин	Вj-07	21,3	9,8	197	50	7,5	0,01	0,012	40,3	22,8	97,07
Ундерту	Вj-05	36,3	9,2	410	120	29,2	0,01	0,002	154	57,2	95,25
	Вj-06	25	9,7	243	46	13,7	0,01	0,104	68,5	22,5	121,46
Хухэджилин	Вj-04	30	9,8	113	29	6	0,01	0,17	22,7	10,9	67,02

3.2. Таксономическое разнообразие микробных сообществ в различных биотопах

В результате секвенирования 12 природных образцов было получено 205575 последовательностей, относящихся к доменам *Bacteria* и *Archaea*. Количество последовательностей варьировало от 4990 до 35139 на образец (Табл. 3). Было выявлено 412 филотипов при кластерном расстоянии 0,05, число ОТЕ в каждой станции изменялось от 77 до 146.

Анализ индексов таксономического разнообразия и богатства прокариотных ОТЕ показал, что наибольшее количество ОТЕ, максимальное видовое богатство и видовое разнообразие, оценённое с помощью индексов Chao1 и Шеннона приходится на сообщества образцов Vj-11, Vj-02в и Vj-05.

Таблица 3. Разнообразие микробных сообществ и индексы видового богатства

Станция	Количество последовательностей	Количество ОТЕ	Дистанция	Индексы разнообразия	
				Chao1	Шеннона
Vj-01	25879	121	0,05	108,2	3,8
Vj-02	12163	120	0,05	141,9	3,9
Vj-02в	4990	90	0,05	156,3	5,1
Vj-03с	18358	104	0,05	140,1	4,9
Vj-04	23631	111	0,05	123,6	2,7
Vj-05	6036	77	0,05	167,2	5,2
Vj-06	16773	139	0,05	127,4	3,9
Vj-07	35139	79	0,05	84,3	3,5
Vj-08	21976	149	0,05	127,3	3,9
Vj-09	19629	94	0,05	111,9	3,8
Vj-10	20095	128	0,05	138,5	4,7
Vj-11	11932	216	0,05	183,4	5,5

3.2.1. Влияние экологических факторов на формирование микробных сообществ

В биотопе донного осадка (Vj-11) группы I было получено 11932 бактериальных последовательностей, которые отнесены к 10 филумам. На рисунке 13 показано, что преобладающими филумами были *Proteobacteria* (57,6 %), *Cyanobacteria* (25,5 %), *Bacteroidetes* (8,2 %), *Actinobacteria* (3,8 %). Отмечено незначительное содержание *Firmicutes* (1,2 %) и *Spirochaetae* (1 %).

II группа образцов с солёностью 113 - 220 г/л включает микробные маты: Bj-04, Bj-06, Bj-07, Bj-08, Bj-09 и Bj-10. В микробных сообществах микробных матов доминировали филумы *Proteobacteria* (30,5 – 93,8 %) и *Cyanobacteria* (17 – 60,3 %), за исключением Bj-07, в котором содержание цианобактерий составило лишь 0,8 %. В пробах озёра Ихар (Bj-09 и Bj-10) отмечено высокое содержание *Bacteroidetes*, а в пробе Bj-06 из оз. Ундерту филума *Rhodothermaeota*.

III группа включает биотопы донного осадка Bj-01 и микробного мата Bj-03с, где солёность составила 108 и 277 г/л соответственно. В результате анализа выявлено, что образцы содержали 7 (Bj-01) и 10 (Bj-03с) бактериальных филумов. В изученных биотопах обнаружены филумы: *Proteobacteria* (45,9 – 52,4 %), *Rhodothermaeota* (34,4 – 1,2 %), *Firmicutes* (10,8 – 3,2 %), *Bacteroidetes* (4,4 – 16,6 %) и *Cyanobacteria* (1,9 – 12,7 %).

IV группа с солёностью свыше 400 г/л включает образцы Bj – 02, Bj – 02в и Bj – 05, которые представлены филумами доменов *Bacteria* и *Archaea* в количестве от 9 до 13. В образцах Bj-02в и Bj-02 филум *Euryarchaeota* составил 20,8 и 11,8 %, а в Bj-05 его доля в несколько раз выше - 68,6 %. В бактериальном сообществе исследуемых станций преобладали филумы *Proteobacteria* (9,1 – 43,9 %), *Firmicutes* (9,4 – 23,5 %) и *Rhodothermaeota* (7,9 - 12,4 %).

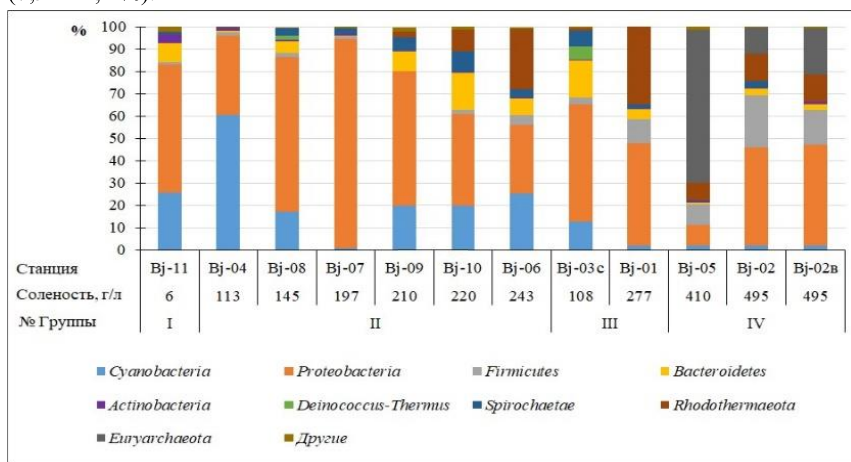


Рисунок 4. Таксономический состав микробных сообществ в исследуемых станциях на уровне филумов

Продуценты во всех исследуемых сообществах представлены одноклеточными и нитевидными галофильными цианобактериями, которые при умеренной минерализации являются доминирующими. В

низкоминерализованном микробном сообществе с соленостью 6 г/л (Bj-11) за фиксацию углекислого газа отвечают галотолерантные цианобактерии рода *Halomicronema* и *Cyanobium gracile*. В станциях с соленостью от 113 до 210 г/л доминируют цианобактерии рода *Lyngbya*, а в образцах с соленостью 220 и 243 г/л экстремально галоалкалофильные цианобактерии *Euhalothece*, при увеличении солености количество последовательностей цианобактерий было незначительным и не превышало 2 %.

В исследуемых станциях активными участниками цикла серы представлены бактериями классов *Gammaproteobacteria* и *Alphaproteobacteria* такие рода, как *Halochromatium*, *Thioalkalivibrio*, *Ectothiorhodospira*, *Halorhodospira* и *Desulfonatronum*. Прокариоты рода *Halochromatium* являются морскими бактериями, выделенные и описанные представители этого рода способны выдержать содержание NaCl до 30 г/л. В изученных станциях бактерии рода *Halochromatium* обнаружены при солености от 113 до 277 г/л, также как и в гиперсоленых содовых озерах Кулундинской степи (Алтай, Россия) с концентрацией NaCl от 150 до 300 г/л и Вади-Надрун (Ливийская пустыня, Египет) (Tourova et al., 2013). Род *Ectothiorhodospira* присутствует во всех станциях от 0,4 до 9,7 % (от числа всех определённых последовательностей ОТЕ в образце) и превалирует на станциях с соленостью 243 и 277 г/л. Представители *Ectothiorhodospira* широко распространены в солоноватых, соленых, гиперсоленых средах и в содовых озерах с сильно различающимся содержанием общих солей (Gorlenko et al., 2009). Сероокисляющие бактерии рода *Thioalkalivibrio* являются метаболически гибкими и распространены в широком диапазоне солености, их количество варьировало от 1 до 7 %. Экстремально галофильные пурпурные серные бактерии рода *Halorhodospira* обнаружены в высокоминерализованных станциях свыше 250 г/л в диапазоне от 0,3 до 9,2 %: оз. Ундерту (Bj-05 и Bj-06) и в западном озере Бадаин (Bj-01 и Bj-02). Сульфатредуцирующие бактерии *Desulfonatronum* присутствуют в озерах с минерализацией от 108 до 197 г/л, это обусловлено их умеренной солеустойчивостью в окружающей среде (Bernal et al., 2017).

Гетеротрофные бактерии широко распространены в исследуемых микробных сообществах, они участвуют в циклах углерода, азота и серы, разлагая органические биополимеры (Mata et al., 2002; Arahal et al., 2006). Основные таксоны представлены галоалкалофильными гидролитическими бактериями родов: *Halomonas*, *Wenzhouxiangella*, *Aquisalimonas* и *Pseudomonas* класса *Gammaproteobacteria*. Представители рода *Halomonas* обнаружены во всех образцах от 0,2 до 14,2 %, и являются эврибионтами, т.к. способны функционировать при высоких значениях солености до 250 г/л, в

щелочной среде с pH до 12 и широком диапазоне температур от 10 до 50 °C (Jiang et al., 2014; Koh et al., 2017). Характерно, что в изученных станциях с соленостью более 250 г/л содержание рода *Halomonas* возросло до 15 %. Ранее *Halomonas* был отмечен, как доминирующий род в воде содовых озер Ксиаожазоахаиджи и Сангенджилиан в пустыне Бадаин Жаран (Lu Li et al., 2015). Умеренно галофильный род *Wenzhouxiangella* обнаружен в станциях с соленостью до 200 г/л, где количество их последовательностей не превышает 1,6 %. Этот род принадлежит к морским бактериям с диапазоном роста при NaCl 50-130 г/л (Wang et al., 2015). Галофильный род *Aquisalimonas* присутствует в озерах с соленостью от 210 до 277 г/л (Bj-06, Bj-01, Bj-09 и Bj-10). Ранее этот род был выделен из содовых озер Внутренней Монголии с оптимальным диапазоном культивирования при концентрации NaCl от 10 до 200 г/л (Márquez et al., 2007). Род *Spiribacter* относится к умеренно галофильным бактериям с оптимальным ростом при солености 150 г/л. Однако в исследуемых нами гиперсоленых озерах с соленостью от 277 до 495 г/л обнаружены последовательности, относящиеся к роду *Spiribacter*, и их количество варьировало от 0,58 до 13,7 %. Ранее авторами Lu Li в 2015 году умеренно галофильный род *Spiribacter* был отмечен, как доминирующий род содовых озер с соленостью от 100 до 300 г/л пустыни Бадаин Жаран (Li et al., 2015).

К первичным деструкторам органического вещества отнесены представители филума *Rhodothermaeota*. Обнаружено сравнительно высокое содержание некультивируемых бактерий (от 0,1 до 37,6 %) с наибольшим содержанием в станциях Bj-01 и Bj-02, и лишь в корковой соли станции Bj-05 присутствует культивируемый экстремально галофильный род *Salinibacter*, в котором обнаружены гены, способные продуцировать протеолитические ферменты (Oren, 2013).

В станциях с соленостью свыше 400 г/л характерно высокое содержание домена *Archaea*. Наибольшее количество последовательностей во всех станциях было представлено экстремально галоалкалофильным родом *Halorubrum*, который в микробном сообществе является первичным деструктором и способен продуцировать гидролитические ферменты (Kang et al., 2018). Этот род был обнаружен в гиперминерализованных озёрах Китая, например, в озере Забу́йе, Синьцзяне, Чаганнор, ранее в озерах пустыни Бадаин Жаран, а также в Чили озерах пустыни Атакама (Neilson et al., 2012; Li et al., 2015; Sun et al., 2018; Vanda et al., 2019).

В изученных озерах присутствуют микробные сообщества, способные функционировать в широком диапазоне солености. С повышением солености наблюдается смена доминирующих таксонов от эврибионтных представителей микробного сообщества к высокоспециализированным экстремофильным прокариотам.

Гетеротрофные представители в исследуемых образцах содово-соленых озер представляют собой потенциальный ресурс галоалкалофильных бактерий, способных продуцировать гидролитические ферменты. В результате анализа разнообразия и использования методов математической статистики установлена связь между минерализацией и таксономическим составом микробных сообществ в исследуемых станциях.

3.3. Элементный состав СНН в нативных пробах и внеклеточная протеолитическая активность

Трансформация природных соединений и бактериальных метаболитов в естественных экосистемах является одним из важнейших природных процессов. Нами определено содержание СНН в природных образцах. Показано, что общее содержание углерода в образцах составило от 0,36 до 9,86 %, водорода от 0,01 до 1 % и общее содержание азота от 0,01 до 0,75 %. Количество валового белка в образцах варьировало от 0,38 до 4,69 %. Содержание валового белка (C_{Gr} от 0,06 до 4,69 %) в микробных матах выше по сравнению с корковой солью и донными осадками (Табл. 4).

Анализ таксономического разнообразия галоалкалофильного микробного сообщества озер пустыни Бадаин Жаран показал высокий процент (более 50 %) бактерий, участвующих в процессах деструкции. Численность протеолитических бактерий в изучаемых озерах колебалась от 10^1 до 10^6 млн кл/мл. Максимальные значения обнаружены в микробных матах точек Vj-03A, Vj-04, Vj-07, Vj-08, Vj-09, а минимальное значение – в песчаном мате точки Vj-11 (Табл. 4).

Протеолитические бактерии являются инициаторами процесса разложения белоксодержащих веществ в микробных сообществах. В зависимости от экологических факторов исследуемой экосистемы активность протеолитических ферментов может проявляться в разной степени – активироваться, либо инактивироваться. Чтобы понять направление действия тех или иных факторов, в пробах микробных матов, донного осадка и корковой соли была изучена внеклеточная пептидазная активность.

В исследуемых образцах станций обнаружена субтилизин-подобная (GlpAALpNa) и аминопептидазная активности (LpNa и FpNa) (Табл. 4). Максимальная активность была зафиксирована в образце Vj-07 по субстрату FpNa (292,8 ЕА/мл), в пробах Vj-08 и Vj-09 значения ниже 82 и 92,5 ЕА/мл соответственно. В этих же станциях микробных матов отмечена аминопептидазная активность, которая составляла 241,3 ЕА/мл в образце Vj-07, 41 ЕА/мл в Vj-08 и 39 ЕА/мл в Vj-09. По субстрату GlpAALpNa протеолитическая активность была значительно ниже и достигала 33,9 ЕА/мл. В образце Vj-11 в песчаном осадке низкая пептидазная активность, также, как и в корковой соли пробы Vj-05. Достаточно высокая активность отмечена в микробных матах с солённостью от 145 до 495 г/л. Можно

предположить, что протеолитическая активность в нативных образцах не зависит от минерализации места обитания, а обусловлена типом биотопа, поскольку ферментативная активность в микробных матах выше, чем в остальных образцах.

Таблица 4. Содержание общего элементного состава CHN и валового белка, численность протеолитических бактерий и внеклеточная протеолитическая активность в нативных образцах

№ Станции	Содержание элементов, %			СGr, %	Численность, млн. кл/ мл	Активности, ЕА/мл		
	С	Н	N			GlpAAL pNa	LpNa	FpNa
Vj-01	3,91	0,38	0,09	0,9	10 ³	4,1±2	18,4±9	8,1±2
Vj-02	5,85	0,56	0,09	0,56	10 ⁴	15,7±7	17,8±7	13,9±4
Vj-03с	9,86	1	0,63	3,94	10 ⁵	22,9±10	14,6±4	29±8
Vj-04	3,72	0,31	0,19	1,19	10 ⁶	17,8±8	3,6±3	2±0,8
Vj-05	1,03	0,01	0,01	0,06	10 ²	2,9±1,5	0,9±0,3	0,9±0,3
Vj-06	5,13	0,47	0,1	0,63	10 ⁵	1,9±1	19,6±8	20,7±4
Vj-07	7,67	0,7	0,47	2,94	10 ⁶	33,9±11	241,3±15	292,8±21
Vj-08	6,2	0,59	0,75	4,69	10 ⁶	30,7±12	41±15	82±19
Vj-09	2,88	0,27	0,18	1,13	10 ⁶	7,6±2	39±11	92,5±13
Vj-10	3,19	0,27	0,28	1,75	10 ⁵	16,5±5	16,9±5	27,8±6
Vj-11	0,36	0,01	0,06	0,38	10 ¹	4±0,2	4,2±2	2,6±1

Полученные результаты показывают высокую протеолитическую активность в образцах микробных матов, что, вероятно, обусловлено активной продукцией органического вещества в матах. Можно предположить, что протеолитическая активность в нативных образцах не зависит от минерализации места обитания, а обусловлена типом биотопа.

3.4. Эколого-физиологическая характеристика протеолитических бактерий из содово-соленых озер

Из микробных матов, песчаного мата и корковой соли было выделено 10 чистых протеолитических галоалкалофильных культур бактерий. 7 штаммов близкородственны семейству *Bacillaceae*: 5P - *Salisediminibacterium halotolerans*; 10P - *Salisediminibacterium haloalkalitolerans*; 6G - *Amphibacillus diazotrophicus*; A11 - *Pelagirhabdus alkalitolerans*; 7G - *Bacillus selenitireducens*; 7-300 - *Salsuginibacillus halophilus*; 7A – предположительно новый вид рода *Virgibacillus* sp., 3 штамма отнесены к семейству *Halomonadaceae*: 3B - *Halomonas mongoliensis*; 7 B и 7 P - предположительно новый вид рода *Halomonas* sp.

Выделенные бактерии проявляют свойства умеренных и облигатных алкалофилов (оптимум pH 9-10) и умеренных, галотолерантных и экстремальных галофилов (оптимум NaCl 20 – 150 г/л). По отношению к температуре являются мезофилами с оптимальным ростом в пределах 30 - 40 °С (Табл. 5). Выделенные штаммы способны утилизировать пептидные субстраты, различные сахара и карбоновые кислоты и соответственно, в естественных условиях могут участвовать в микробиологических процессах деструкции органического вещества.

3.5. Внеклеточная протеолитическая активность чистых культур и их функциональная роль

Культуральную жидкость 10 чистых культур тестировали на способность секретировать внеклеточные пептидазы, активные на различных пара-нитроанилидных субстратах (GlpAALpNA, GlpFpNA, GlpFApNA, BAPA и LpNA). Было выявлено, что все чистые культуры, выращенные на комплексной минеральной среде с различными белковыми добавками, проявили наибольшую активность в отношении субстрата, специфичного для аминопептидаз (LpNA). На рисунке 5 показано, что наибольшая активность достигалась при добавлении в среду в качестве белкового субстрата триптона с наибольшим значением у штаммов 7P, 7B и 3B. У остальных бактерий активность была в несколько раз ниже. Полученные данные свидетельствуют о том, что существенный вклад в протеолитическую активность галоалкалофильных бактерий, вносят аминопептидазы.

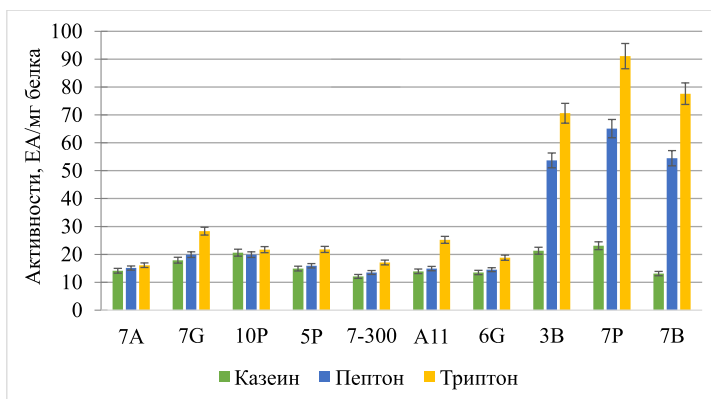


Рисунок 5. Внеклеточная пептидазная активность выделенных бактерий на различных источниках белка

Очистка фермента из Halomonas mongoliensis 3B. Из культуральной жидкости штамма 3В удалось получить лабораторный ферментный препарат с выходом 10,72 % и молекулярной массой 208,9 кДа.

Физико-химические свойства ферментов. Было изучено влияние рН, солености и температуры на активность и стабильность внеклеточных протеолитических ферментов, гидролизующие LpNa.

Полученные данные показали, что рН оптимум активности пептидаз у всех штаммов при 8,5 - 9,0 и стабильны от 6 до 10. Оптимум активности пептидаз при различных концентрациях NaCl у штаммов находится в пределах 80 - 100 г/л, а стабильность сохранялась до 200 г/л. Температурный оптимум ферментов штамма 7Р составил 40 °С, у 7В и 3В – 30 °С. Практически все пептидазы исследуемых культур стабильны до 50°С.

Определение природы функциональных групп активного центра показало, что активность внеклеточных пептидаз у всех изученных штаммов подавлялась специфическим ингибитором металлопептидаз – EDTA.

В дополнение к активности и стабильности при высоком рН и солености, ферменты были исследованы на устойчивость по отношению к поверхностно-активным веществам и к окислителю (перекись водорода), активность измеряли по *para*-нитроанилидному субстрату LpNa. Ферменты штаммов 3В, 7В и 7Р были стабильны в присутствии неионного поверхностно-активного вещества Triton X-100 при концентрации 0,5 %, при концентрации 1 % и выше активность снижалась на 50 % и больше. Сильный анионный сурфактант (SDS- лаурил сульфат натрия) в количестве от 0,1 до 0,4 % вызывал умеренное ингибирование активности от 20 до 30 % у всех штаммов, при концентрации 0,6 и 0,8 % активность падала на 60 и 70 %.

Изучена устойчивость ферментов к отбеливанию при концентрациях перекиси водорода от 0,5 до 2 %. Пептидазы штаммов рода *Halomonas* сохранили 72 и 78 % активности после инкубации в течение 4 ч при 37°С в присутствии 0,5 % H₂O₂. При концентрации перекиси водорода в 1 % устойчивость сохранялась от 58 до 75 %. Стабильность ферментов по отношению к детергентам и окислителю является важной характеристикой их возможного использования в составе моющих средств.

Таким образом, секретлируемые пептидазы штаммов рода *Halomonas* обладают узкой субстратной специфичностью, способны использовать белки и *para*-нитроанилиды в качестве субстратов, проявляя максимальную активность по гидролизу LpNA, и относятся к классу металлопептидаз аминокпептидазного типа.

Таблица 5. Основные характеристики выделенных чистых культур

Штаммы	NaCl, г/л		рН		Температура, °С	
	Диапазон	Оптимум	Диапазон	Оптимум	Диапазон	Оптимум
5P ¹	40-200/30-300*	150/90*	8-10,5/5-10,0*	9/8*	10-50/18-50*	30/37*
10P ²	40-250/20-300*	100/80-100*	8-11/6-12*	10/8,5-9*	10-50/20-50*	30/30-35*
6G ³	50-200/12-235*	20/60-90*	8-10/7,5-10,6*	9/9,5-10*	10-50/н.д.*	37/ н.д.*
7G ⁴	50-200/20-220*	20/24-60*	8-10/8,5-10*	9/9*	10-50/н.д.*	37/ н.д.*
7-300 ⁵	60-300/90-300*	200/190*	7-10,5 / 5-10*	9/9*	10-50/18-50*	37/37*
A11 ⁶	10-250/0-160*	150/100*	7-10,5/6,5-11*	9/8,5-9,0*	20-40/20-55*	37/37*
7A ⁷	10-200/н.д.	60/н.д.	8-10,5/н.д.	9/н.д.	20-50/н.д.	37/ н.д.*
3B ⁸	15-250	50	8-10,5/8-10,5*	9/8,5-9,6*	20-50	37
7P ⁹ и 7B ¹⁰	30-200	80	8-10/8-10,5*	9/9*	20-50	37

Примечание: Здесь и далее: 5P¹ - *Salisediminibacterium halotolerans* halo-2, 10P² - *Salisediminibacterium haloalkaliferans*, 6G³ - *Amphibacillus diazotrophicus*, 7G⁴ - *Bacillus selenitireducens* MLS10, 7-300⁵ - *Salsuginibacillus halophilus* halo-1, A11⁶ - *Pelagirhabdus fermentum*, 7A⁷ - *Salipaludibacillus agaradhaerens*, 3B⁸ - *Halomonas mongoliensis*, 7P⁹ и 7B¹⁰ - *Halomonas* spp. GU228482. * - значения представлены по литературным данным: 1 (Jiang et al., 2012); 2 (Sultanpuram et al., 2015); 3 (Sorokin et al., 2008); 4 (Blum et al., 1998); 5 (Cao et al., 2010); 6 (Sultanpuram et al., 2016a); 7 (Sultanpuram et al., 2016b); 8 (Boltyanskaya et al., 2007); 9 и 10 (McSweeney et al., 2011)

ВЫВОДЫ

1. Высокая щелочность и соленость изученных озёр пустыни Бадаин Жаран определяет формирование галоалкалофильного микробного сообщества и способствует активной деятельности экстремальных протеолитических бактерий.

2. Таксономическое разнообразие микробных сообществ в исследуемых биотопах представлено 13 филумами доменов *Bacteria* и *Archaea*. С увеличением солености происходит смена доминирующих таксонов: в составе микробных сообществ при солености до 200 г/л доминируют филумы *Proteobacteria* и *Cyanobacteria*, до 277 г/л высокая доля филума *Bacteroidetes* и при 410 - 495 г/л преобладает филум *Euryarchaeota*.

3. Из выделенных 10 чистых культур факультативно анаэробные протеолитические бактерии относятся к умеренным, облигатным и экстремальным галоалкалофилам семейства *Bacillaceae* и *Halomonadaceae*. В отношении используемых субстратов выделенные бактерии характеризуются широкой метаболической активностью и, предположительно, в естественных условиях являются активными деструкторами органического вещества.

4. Секретируемые внеклеточные протеолитические ферменты относятся к аминопептидазам, класса металлопептидаз. Диапазон функционирования аминопептидаз при pH 6 - 10, солености 0 - 200 г/л и температуре 5 - 50 °С, что показывает границы приспособляемости выделенных бактерий в экстремальных условиях содово-соленых озёр.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых журналах:

1. Эрдынеева Е.Б., Лаврентьева Е.В., Раднагуруева А.А. Протеолитическая активность бактерий соленых озер пустыни Бадаин Жаран (Внутренняя Монголия, Китай) // Вестник БГУ. - 2014. - Вып.3. - С. 86-88.

2. Эрдынеева Е.Б., Раднагуруева А.А., Лаврентьева Е.В. Пептидазная активность штамма A11 *Amphibacillus alashanensis* sp.nov. // Вестник БГУ. Химия. Физика. - 2016. - Вып. 4. - С. 3-10.

3. Эрдынеева Е.Б., Раднагуруева А.А., Белькова Н.Л., Намсараев З.Б., Лаврентьева Е.В. Алкалогалофильные бактерии семейства *Bacillaceae* в озерах пустыни Бадаин Жаран (Китай) // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. - Т. 22, №3. – С. 370-378.

4. Эрдынеева Е.Б., Раднагуруева А.А., Дунаевский Я.Е., Белькова Н.Л., Намсараев З.Б., Лаврентьева Е.В. Аминопептидазная активность галоалкалофильных бактерий рода *Halomonas*, выделенных из содово-соленых озер пустыни Бадаин Жаран // Микробиология. - 2018. – Т.87, № 4. – С. 538-548.

В материалах конференции:

1. Эрдынеева Е.Б., Раднагуруева А.А., Лаврентьева Е.В. Разнообразие бактерий филума *Firmicutes* в соленом озере пустыни Бадаин Жаран (Китай) // IV Всероссийская конференция молодых ученых с международным участием "Биоразнообразие: глобальные и региональные процессы" (Улан-Удэ, 23-27 июня, 2016). - Улан-Удэ, 2016. - С. 138-139.

2. Эрдынеева Е.Б., Намсараев З.Б., Раднагуруева А.А., Лаврентьева Е.В. Анализ микробного сообщества содово-соленых озер пустыни Бадаин-Жаран (Внутренняя Монголия, Китай) // III Пущинская школа–конференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов» (Пушино, 5-9 декабря, 2016). - Пушино, 2016. - С. 12-13.

3. Эрдынеева Е.Б., Раднагуруева А.А., Батурина О.А., Кабилов М.Р., Лаврентьева Е.В. Таксономическое разнообразие микробных сообществ двух соленых озер пустыни Бадаин Жаран (Внутренняя Монголия, Китай) // II Всероссийская конференция с международным участием «Высокопроизводительное секвенирование в геномике» (Новосибирск, 18-23 июня, 2017). - Новосибирск, Acta Naturae. - 2017. – Т. 9 спецвыпуск. - С 42.

4. Erdyneeva, E.B., Dunaevsky, Y.E., Radnagurueva, A.A., Lavrentyeva E.V. The proteolytic activity of the alkalophilic strain *Halomonas mongliensis* isolated from the saline lakes of the Badain Jaran desert (Inner Mongolia, China) // 13th International Conference on Salt Lake Research (Ulan-Ude, 21-25 августа, 2017). - Ulan-Ude, 2017. - С. 82.

5. Erdyneeva, E.B., Kotsyurbenko O.R., Nacke H., Schneider D., Kel A., Rolf D., Radnagurueva, A.A., Lavrentyeva E.V. Microbial diversity of the soda-salt lakes located in the Badain Jaran desert // 13th International Conference on Salt Lake Research (Ulan-Ude, 21-25 августа, 2017). - Ulan-Ude, 2017. - С. 85.

6. Lavrentyeva E.V., Erdyneeva E.B., Radnagurueva A.A., Danilova E.V., Belkova N.L. Identification of peptidases in the genome of alkaliphilic and halotolerant bacterium *Pelagirhabdus* sp. A11 by the bioinformatics analysis // 13th International Conference on Salt Lake Research (Ulan-Ude, 21-25 августа, 2017). - Ulan-Ude, 2017. - С. 90.

Подписано в печать 23.12.2019 г. Формат 60x84 1/16. Бумага
офсетная. Объем 1,5 печ. л. Тираж 150. Заказ № 39.

Отпечатано в типографии Изд-ва Федерального государственного
бюджетного учреждения науки БНЦ СО РАН.
670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6.