

«Пришельцы»



БАЙКАЛА

Изучение глубинной биосферы началось в 1968 г., когда специально оборудованный американский корабль *Glomar Challenger* пробурил свою первую скважину в глубинах Мексиканского залива, а продолжилось в рамках международных проектов глубоководного бурения с участием нового бурового судна с символическим именем *JOIDES* Resolution*, названного в честь парусника знаменитого мореплавателя XVIII в. Джеймса Кука.

Идею о существовании жизни в недрах нашей планеты впервые выдвинул еще в конце XIX в. знаменитый писатель Жюль Верн. Его герои во главе с профессором Лиденброком на снаряжении отправились в «путешествие к центру Земли», обнаружив там не только динозавров и первобытного человека, но и огромный подземный океан. В своем научно-фантастическом романе великий фантаст, которого сегодня называют провидцем, вновь предсказал будущее – столетие спустя с помощью глубоководного бурения под океаническим дном действительно была обнаружена жизнь. Правда это оказались не доисторические ящеры, а обитающие в «океане» поровой воды микроорганизмы с уникальным метаболизмом, способные существовать в практически «неземных» условиях

Глубинная биосфера, верхняя граница которой располагается на глубине одного метра от поверхности морского дна, по своей протяженности и объему соперничает только с водной толщей Мирового океана, хотя с ростом глубины условия для жизни ужесточаются. Источником энергии и вещества для микроскопических обитателей подземной бездны служит готовая органика, а также горячие потоки газонасыщенных флюидов из глубоких горизонтов литосферы.

По: (Bell, Heuer, 2012)

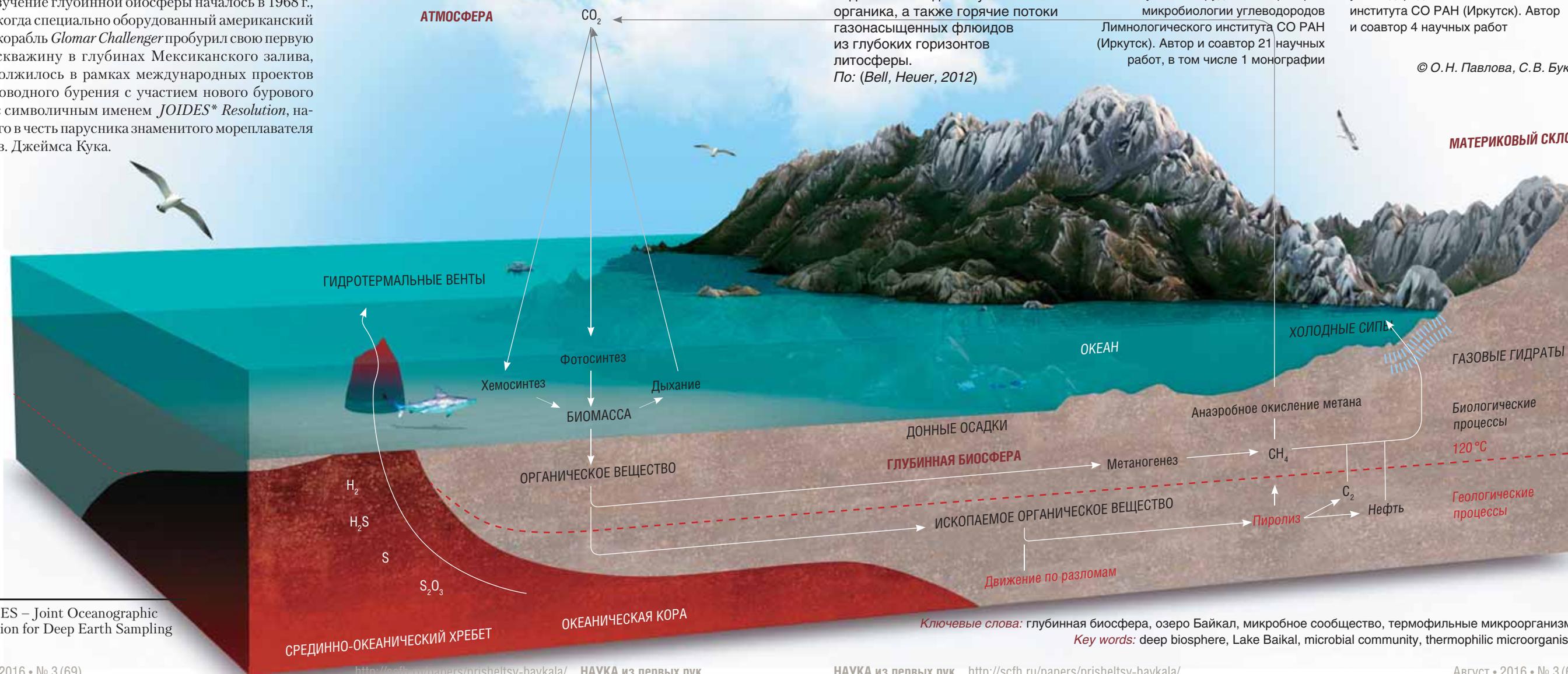


ПАВЛОВА Ольга Николаевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии углеводородов Лимнологического института СО РАН (Иркутск). Автор и соавтор 21 научных работ, в том числе 1 монографии



БУКИН Сергей Викторович – аспирант лаборатории микробиологии углеводородов Лимнологического института СО РАН (Иркутск). Автор и соавтор 4 научных работ

© О.Н. Павлова, С.В. Букин



* JOIDES – Joint Oceanographic Institution for Deep Earth Sampling

Ключевые слова: глубинная биосфера, озеро Байкал, микробное сообщество, термофильные микроорганизмы.
Key words: deep biosphere, Lake Baikal, microbial community, thermophilic microorganisms

Программы глубоководного исследования включали изучение химии вод, содержащихся в глубинных донных осадках. На основе определения скоростей реакций в этих поровых водах было выдвинуто предположение, что в толще донных отложений обитают активные живые бактерии, которые используют окислительно-восстановительные реакции для получения энергии, необходимой для жизнедеятельности. В конце 1980-х гг. начались микробиологические исследования глубинных морских осадков, давшие поразительные результаты (Bell, Neuer, 2012).

В конце прошлого века были получены первые данные о профилях активности, общей численности и разнообразии форм микроорганизмов в глубинных слоях морских осадочных отложений, которые стали реальным доказательством в пользу гипотезы о существовании глубинной биосферы (Cragg *et al.*, 1990; Gold, 1992). Само это понятие – *глубинная биосфера* (*deep biosphere*) – появилось позднее. Сейчас под этим словом мы понимаем огромную экосистему осадочных отложений ниже морского дна, включающую различные микроорганизмы (бактерии, археи и грибы) с активным метаболизмом и размножением.

Экстремальное разнообразие

Где же начинается глубинная биосфера? Судя по результатам большинства исследований, ее верхняя граница начинается на уровне 1 м ниже дна, а по своей протяженности и объему она соперничает лишь с водной толщей Мирового океана. До сих пор не было обнаружено образцов глубинных осадков, в которых бы отсутствовала жизнь. По некоторым оценкам, биомасса микроорганизмов глубинной биосферы достигает 70% от биомассы всех микроскопических обитателей донных осадков, включая верхние горизонты (Whitman *et al.*, 1998; Parkes *et al.*, 2014).

С возрастанием глубины залегания осадков условия жизни их обитателей ужесточаются из-за роста давления и температуры, которая достигает 60–100 °С, а также практически полного отсутствия кислорода. С точки зрения обитателя поверхностных слоев осадочной и водной толщи, такие условия являются экстремальными, тем не менее микробная жизнь в глубинных отложениях достаточно разнообразна, хотя характеристика и состав микробного сообщества с глубиной постепенно меняются.

На сегодня микроорганизмы – бактерии и археи – обнаружены в морских донных отложениях на глубинах более 1,6 км ниже уровня дна, а прямое измерение активности клеток свидетельствует о наличии жизнеспособных микроорганизмов в осадках возрастом свыше 16 млн лет (Roussel *et al.*, 2008; Ciobanu *et al.*, 2013; Schippers *et al.*, 2005). Молекулярно-генетические

исследования глубинных осадочных отложений различных районов Мирового океана указывают на большое разнообразие существующих там микробных сообществ, значительную часть которых составляют уникальные и (или) так называемые некультивируемые микроорганизмы, которые не удается выращивать в лабораторных условиях (Orcutt *et al.*, 2011). Сами микроорганизмы и их ДНК обнаруживаются не только в толще морских осадков, но и под поверхностью суши в резервуарах углеводородов и водоносных слоев, залегающих на глубинах нескольких километров.

Однако существуют места, где глубинная биосфера «соприкасается» с поверхностной, – это зоны повышенной тектонической активности, где из «горячих» глубинных горизонтов осадков или базальтового слоя земной коры идут потоки газов и флюидов – дополнительные источники углерода и энергии (Boetius, Wenzhöfer, 2013). Восходящие потоки водорода, ацетата, а также метана и других углеводородов, образующиеся в глубине донных отложений, увлекают в верхние горизонты и их микроскопических обитателей (Hubert *et al.*, 2009).

Одним из таких мест является Байкал – самое глубокое пресноводное озеро нашей планеты, в донных отложениях которого были обнаружены выходы нефти и газосодержащих флюидов, грязевые вулканы и залежи метановых газогидратов. Судя по имеющимся на сегодня данным, в отдельных районах озера миграция нефти и газов к поверхности дна происходит с глубин 2–7 км, характеризующихся термобарическими условиями (Конторович и др., 2007; Хлыстов и др., 2013). Аномально высокие концентрации отдельных ионов в составе поровых вод поверхностных осадков в таких зонах могут быть следствием прохождения через них высокоминерализованных глубинных флюидов (Гранина и др., 2001; Погодаева и др., 2007). Этот вывод подтверждается и присутствием в верхних слоях донных отложений грязевых вулканов створок древних диатомовых водорослей, которые в районах со спокойным осадконакоплением залегают на глубинах 300 м (Bradbury *et al.*, 1994; Клеркс и др., 2003).

Все эти данные свидетельствуют о том, что в районах глубоководных разгрузок на Байкале в холодные (около 4 °С) поверхностные осадочные горизонты вместе с потоками донных отложений могут попадать представители глубинного термофильного микробного сообщества.

Хвойный маркер из диатомовых водорослей

Экспериментальные исследования глубинной биоты осадочной толщи Байкала в зонах разгрузок углеводородов, где идут процессы преобразования



Глубоководное бурение на оз. Байкал начало проводиться в рамках Международной программы «Байкал–бурение», в которой участвовали российские, американские и японские исследователи. В 1993 г. в районе Бугульдейской перемычки была пробурена первая 100-метровая скважина, а три года спустя с помощью бурения на Академическом хребте в озерных осадках было исследовано распределение органического углерода и биогенного кремнезема диатомовых водорослей, а также получены первые данные о разнообразии глубинных прокариотических микроорганизмов (Кузьмин и др., 2000)

органического вещества микробным сообществом, проводятся в лаборатории микробиологии углеводородов Лимнологического института СО РАН (Иркутск) под руководством д.б.н. Т.И. Земской начиная с 2012 г.

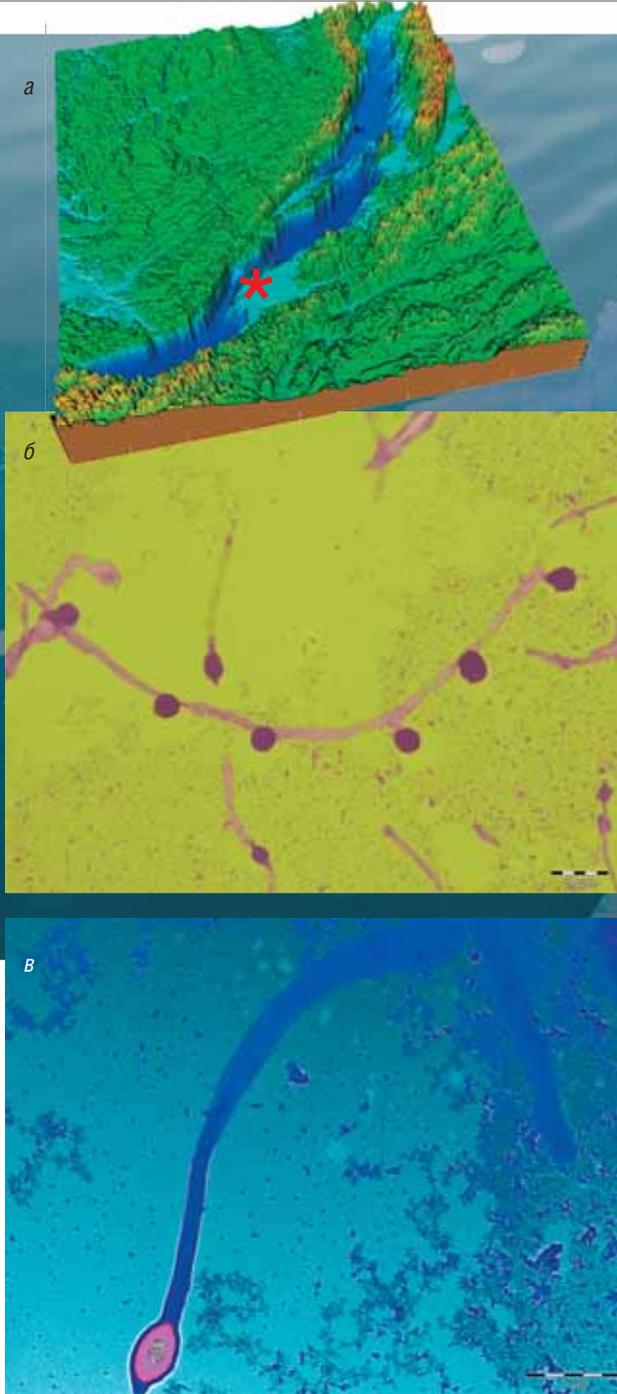
Эксперименты ведутся при температуре 80 °С и давлении 49,5 атмосферы – такие условия характерны для тектонически активной зоны Байкала. Для этого используются специальные автоклавы для непрерывного культивирования микроорганизмов в газовой среде, с автоматическим регулированием давления и температуры, разработанные и смонтированные в Институте неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН (Новосибирск). В эти автоклавы помещали «расфасованные» в стерильные стаканы образцы донных осадков, обогащенных биомассой безбактериальной культуры диатомовой водоросли *Synedra acus*, и культивировали при высокой температуре и давлении.

За 11 месяцев эксперимента органическое вещество донных осадков было преобразовано на 17,4%. Анализ исходного и конечного вещества в лаборатории геохимии нефти и газа Института нефтегазовой геологии и геофизики им. А.А. Трофимука СО РАН (Новосибирск) показал, что в результате эксперимента в нем уменьшилось содержание органического углерода и битумоида, но появился новый компонент – трициклический ароматический углеводород *ретен*. Это очень неожиданный результат, так как этот углеводород

обычно используется в качестве биомаркера биомассы хвойных растений. Образование ретена в условиях эксперимента доказывает, что этот углеводород может синтезироваться в процессе деструкции биомассы диатомовых водорослей, осуществляемых микробным сообществом глубинных донных осадков Байкала.

В донном осадке после эксперимента был также обнаружен широкий спектр нуклеотидных последовательностей. Анализ с использованием популярного генетического маркера – фрагмента гена 16S рРНК, кодирующего один из белковых компонентов бактериальной рибосомы, – показал, что они принадлежат микроорганизмам с различным метаболизмом: пурпурным несерным бактериям, способным к росту в анаэробных условиях за счет окисления органических соединений; морским и пресноводным углеводородокисляющим микроорганизмам; анаэробным некультивируемым метанотрофам, а также уникальным бактериям, филогенетический статус которых в настоящее время не определен.

Длительное культивирование донных осадков способствовало размножению в накопительной культуре ряда жизнеспособных термофильных микроорганизмов. Один из них – термофильный факультативный анаэроб рода *Paracoccus*, который характеризуется *миксотрофным* (смешанным) метаболизмом, т.е. способен расти как в присутствии «готовой» органики, так и молеку-



Первоначально накопительная (смешанная) культура микроорганизмов, полученная при культивировании осадков Посольской банки (а), была представлена двумя морфологическими формами: длинными тонкими клетками со спорами на концах и мицелиальными образованиями, также со спорами (б). В дальнейшем первая форма была классифицирована как гипертермофильная бактерия рода *Thermaerobacter*, а вторая – термофильный актиномицет рода *Planifilum*. Ближайший родственник байкальского актиномицета – *Planifilum yunnanense* – обнаружен в горячих источниках китайской провинции Юньнань. К сожалению, в чистой культуре этот байкальский клон культивировать не удалось.

Что касается *Thermaerobacter*, то в настоящее время описано всего пять видов этого рода, а его первый представитель был выделен из осадков грязевого вулкана в Марианской впадине с глубины 10 897 м. Байкальский представитель (в) имеет оптимум роста 70 °С, несмотря на то что температура донных осадков озера Байкал ~ 4 °С, а по своим свойствам значительно отличается от родственников: он способен расти как в аэробных, так и анаэробных условиях, хотя другие штаммы являются строгими аэробами, однако споры образует только при отсутствии кислорода.

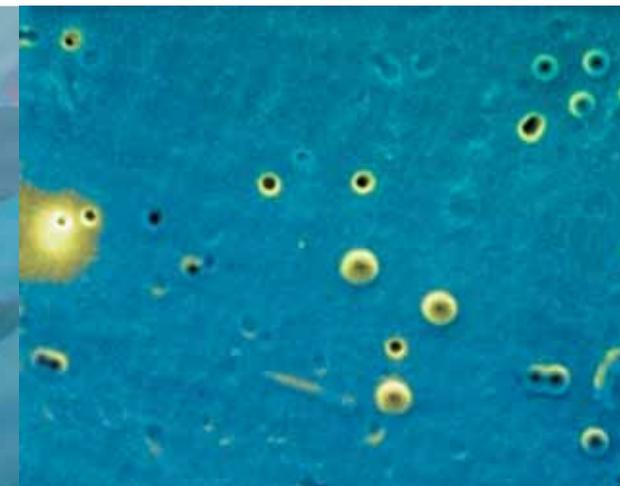
Трансмиссионная электронная микроскопия. ЦКП «Ультрамикроанализ» (Иркутск).

3D-изображение рельефа дна Байкала и окружающей местности создано в рамках проекта «A New Bathymetric Map of Lake Baikal», 2002. © the INTAS Project 99-1669 Team, October 2002

лярного водорода и углекислого газа. Такие свойства позволяют отнести этот штамм к числу вероятных участников процесса преобразования органического вещества в глубинных донных осадках Байкала.

Дальнейшее культивирование при температуре 60 °С позволило выявить другие виды термофильных микроорганизмов: актиномицеты рода *Planifilum* и бактерии рода *Thermaerobacter*. Последний интересен тем, что первый представитель этого рода был выделен с глубины 10 897 м из осадков грязевого вулкана «Бездна Челленджера», расположенного в Марианской впадине – одном из самых загадочных и неизведанных мест нашей планеты.

Глубинные микроорганизмы Байкала оказались не менее таинственны, чем обитатели знаменитой Марианской впадины. С одной стороны, они имеют высокий процент сходства с бактериями и археями, которые встречаются в горячих источниках, подповерхностных осадках, осадках и почвах, загрязненных углеводородами, а также в гидрат содержащих глубинных донных отложениях морских экосистем. Так же как эти микроорганизмы, они существуют за счет гидрогенотрофного метаногенеза и H₂-зависимого



Байкальский термофильный факультативный анаэроб рода *Paracoccus*, выделенный из донных осадков оз. Байкал, образовывал на плотных средах мелкие колонии размером 1–2 мм, состоящие из парных или одиночных клеток диаметром 0,5 мкм. Его способность утилизировать пептон (частично гидролизированный белок) и дрожжевой экстракт, а также расти на минеральной среде в присутствии H₂ и CO₂ доказывает, что он также обладает микотрофным метаболизмом, как и его известные почвенные «родственники».

Сканирующая электронная микроскопия. ЦКП «Ультрамикроанализ» (Иркутск)

разложения захороненного органического вещества. С другой стороны, анализ суммарной ДНК из осадков выявил наличие в них уникальных клонов, о путях метаболизма которых мы можем пока только гадать.

Особый интерес вызывает способность глубинных байкальских микроорганизмов синтезировать ретен. Как известно, байкальские нефти имеют «молодой» возраст и считаются уникальными из-за большого набора «ископаемых» молекул (*хемотрофосиллий*), таких как сесквитерпаны, стераны, секогепаны, олеанан и др. (Конторович и др., 2007). Как показывают наши данные, теперь к списку биомаркеров байкальской нефти можно добавить и ретен.

Эти результаты свидетельствуют о том, что исследования микроорганизмов, поступающих из глубинной зоны Байкала, могут быть информативны для установления источников образования ископаемых углеводородов и оценки роли микроорганизмов в процессах их образования и деструкции. Кроме того, учитывая то, что ретен обычно используется в качестве биомаркера хвойных растений при изучении изменений биологических сообществ в недавнем прошлом, эти данные дают возможность более корректно интерпретировать процессы, происходившие в далекие эпохи.

Бактерии рода *Paracoccus* – пример микроорганизмов с микотрофным (смешанным) метаболизмом, способных питаться как готовыми органическими, так и неорганическими веществами. По строению электрон-транспортной цепи они близки к митохондриям – внутриклеточным органеллам высших организмов, которые ведут свое происхождение от симбиотических бактерий. Эти особенности позволяют им выживать при различных концентрациях кислорода, «переключаясь» с кислородного (аэробного) на бескислородный (анаэробный) метаболизм (Baker et al., 1998)

Литература

Гранина Л.Э., Каллендер Е., Ломоносов И. С. и др. Аномалии состава поровых вод донных осадков Байкала // *Геология и геофизика*. 2001. Т. 42, № 1–2. С. 362–372.

Конторович А.Э., Каширцев В.А., Москвин В.И. и др. Нефтегазоносность отложений оз. Байкал // *Геология и геофизика*. 2007. Т. 48, № 12. С. 1346–1356.

Кузьмин М.И. Байкальский проект: основные результаты реализации // *Вестн. РАН*. 2000. Т. 7, № 2. С. 109–116.

Погодаева Т.В., Земская Т.И., Голобокова Л.П. и др. Особенности химического состава поровых вод донных отложений различных районов озера Байкал // *Геология и геофизика*. 2007. Т. 48, № 11. С. 1144–1160.

Bell E.M., Heuer V.B. The Deep Biosphere: Deep Subterranean and Seafloor Habitats // *Life at Extremes: Environments, Organisms and Strategies for Survival* (ed. E.M. Bell). CAB Intern. 2012. P. 554

Cragg B.A., Parkes R.J., Fry J.C. et al. Bacterial biomass and activity profiles within deep sediment layers // *Proc. Oce. Drill. Prog.* 1990. V. 112. P. 607–619.

Gold T. The Deep Hot Biosphere // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999. V. 89. P. 6045–6049.

Khlystov O., De Batist M., Shoji H. et al. Gas hydrate of Lake Baikal: Discovery and varieties // *Journ. of Asian Earth Sci.* 2013. V. 62. P. 162–166.

Parkes R.J., Cragg B., Roussel E. A review of prokaryotic populations and processes in sud-seafloor sediments, including biosphere interactions // *Mar. Geol.* 2014. V. 352. P. 409–425.

Verne J. A Journey to the Centre of the Earth. Penguin Books LTD. 1994. P. 256

Whitman W.B., Coleman D.C., Wiebe W.J. Prokaryotes: the unseen majority // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1998. V. 95. P. 6578–6583

Работа поддержана междисциплинарным интеграционным проектом СО РАН (№ 82) и грантом РФФИ (№ 16–04–00181)

Авторы благодарят академика М.А. Грачева за помощь в организации исследований глубинной биоты оз. Байкал