

кумулятивного построения, включает безрисковую ставку и риск, связанный с ведением сельского хозяйства [5].

С увеличением плотности радиоактивного загрязнения почв, удельная кадастровая стоимость земель снижается. Это связано с необходимостью внедрения реабилитационных технологий по минимизации накопления радионуклидов сельскохозяйственными культурами.

Библиографический список

1. Земельный кодекс Российской Федерации от 25.10.2001 N 136-ФЗ (ред. от 25.12.2018) (с изм. и доп., вступ. в силу с 01.01.2019) //Справочно-правовая система «Консультант Плюс», 2021.
2. Федеральный закон "О землеустройстве" от 18.06.2001 N 78-ФЗ (последняя редакция) //Справочно-правовая система «Консультант Плюс», 2021.
3. Алексахин Р.М., Булдаков Л.А., Губанов В.А. и др. Крупные радиационные аварии: последствия и защитные меры. М.: ИздАТ, 2020. 752 с.
4. Государственная кадастровая оценка земель сельскохозяйственного назначения Российской Федерации / Под ред. Сапожникова П.М., Носова С.И. М.: НИПКЦ Восход–А, 2019.
5. Ратников А.Н., Сапожников П.М., Санжарова Н.И., Свириденко Д.Г., Жигарева Т.Л., Попова Г.И., Панов А.В., Козлова И.Ю. Методика оценки кадастровой стоимости радиоактивно загрязненных земель сельскохозяйственного назначения / Св-во о депонировании результата интеллектуальной деятельности №22521 от 18.02.2019 г.

УДК 579.222.4

ГИДРОГЕНОГЕННЫЕ СО-ОКИСЛЯЮЩИЕ БАКТЕРИИ И ИХ СПОСОБНОСТЬ К АЗОТФИКСАЦИИ

Новомлинская Юлия Сергеевна, студентка 4 курса факультета Почвоведения, агрохимии и экологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, novomlinskaia.yu@yandex.ru

Соколова Татьяна Геннадиевна, д.б.н., с.н.с., ИНМИ РАН им. С.Н. Виноградского, ФИЦ "Основы биотехнологии" РАН, tatso2204@gmail.com

Аннотация: был получен устойчивый рост некоторых представителей гидрогеногенных карбоксидотрофных прокариот на среде, не содержащей растворимых источников азота, в атмосфере смеси N_2 и CO .

Ключевые слова: азотфиксация, гидрогеногенные карбоксидотрофные прокариоты, термофил, *BLAST*, ген, *nifH*.

Азотфиксация – процесс планетарного масштаба, его осуществляют некоторые прокариоты при температуре до 92° С (метаногенный архей

Methanocaldococcus sp.) [4], при pH от 3,9 (*Beijerinckia indica*, *B. mobilis*, *B. fluminensis*, *B. derxii*) до 7,2 [1]. Существуют экстремальные места обитания, такие как горячие источники, аналоги древней биосферы с эволюционно древними процессами, как, например, анаэробное окисление CO.

Гидрогеногенными карбоксидотрофными прокариотами называют микроорганизмы, которые используют CO как источник энергии и/или углерода, а в качестве восстановленного продукта образуют водород. Данная реакция описывает этот процесс.



По числу видов среди них преобладают термофилы. Это большая группа микроорганизмов, относящихся к более чем 22 таксонам разного ранга.

У *Rhodospirillum rubrum*, мезофильного представителя гидрогеногенных карбоксидотрофов, была обнаружена способность к азотфиксации в процессе роста на 1% CO. В то время как CO является одним из сильных ингибиторов нитрогеназы, на 34% ингибирует при 0,0008 атм, полностью при 0,005 атм, и продемонстрировано наличие специального белка, защищающего нитрогеназу от токсичного воздействия CO [4].

Мы провели BLAST анализ, для установления наличия генов азотфиксации, в частности *nifH* гена, отвечающего за синтез редуктазы динитрогеназы. Брали аминокислотную последовательность *nifH* гена *Azotobacter chroococcum*, осуществляли поиск относительно доступных геномов Gene Bank NSBI гидрогеногенных карбоксидотрофных прокариот, а именно *Desulfotomaculum nigrificans* штамм CO-1-SRB^T [2, 3], *Carboxydotherrmus hydrogenoformans* Z-2901, *Caldanaerobacter subterraneus* 2707, «*Thermincola potens*», *Thermincola ferriacetica* штамм Z-0001 [4].

У *Desulfotomaculum nigrificans* штамм CO-1-SRB^T был обнаружен данный ген с покрытием 94% и идентичностью 72%, у «*Thermincola potens*» с покрытием 95% и идентичностью 70%.

Лебединским Александром Владимировичем в результате поиска в базе IMG было установлено наличие *nifH* гена у *Thermincola ferriacetica* штамм Z-0001.

На основании BLAST анализа объектами нашего исследования стали такие виды термофильных гидрогеногенных карбоксидотрофных прокариот, как: *Desulfotomaculum nigrificans* штамм CO-1-SRB^T, *Thermincola ferriacetica* штамм Z-0001. А также на основании неопубликованных данных сотрудников института микробиологии им. С. Н. Виноградского - «*Thermincola norvegica*», который не является валидно описанным видом.

Производилось культивирование трех штаммов прокариот в среде, не содержащей растворимых источников азота в атмосфере смеси N₂ и CO в разных процентных соотношениях, в качестве источника углерода для *Desulfotomaculum nigrificans* штамм CO-1-SRB^T служил лактат, для *Thermincola ferriacetica* штамм Z-0001 и «*Thermincola norvegica*» - ацетат.

Специфика анаэробного культивирования заключается в создании и поддержании бескислородных условий. Для приготовления среды раствор кипятят, для того чтобы уменьшить растворимость воздуха, оставшийся газ вытесняют N₂ при охлаждении. Для удаления остатков кислорода и создания

низкого окислительно-восстановительного потенциала среды в среду добавляли сульфид натрия.

Анаэробность контролировали с помощью индикатора резазурина, синего цвета, который при окислении превращается в розовый резозурин.

Для культивирования *Thermincola ferriacetica* штамм Z-0001 и «*Thermincola norvegica*» отдельно готовили раствор аморфного гидроксида железа, так как железо используется ими в качестве акцептора электронов.

Культивирование производили при 55°C.

Был получен устойчивый рост культуры *Desulfotomaculum nigrificans* штамм CO-1-SRB^T в 3-х пересевах на среде, не содержащей растворимых источников азота. Максимальная плотность клеток составляла $1,8 \cdot 10^7$ клеток на 1 мл. *Desulfotomaculum nigrificans* штамм CO-1-SRB^T растет в среде без растворимых источников азота в атмосфере азота с 13% CO в присутствии Na₂SO₄, без Na₂SO₄ – при 17% CO.

В процессе гидрогеногенного роста на CO *Desulfotomaculum nigrificans* штамм CO-1-SRB^T растет и фиксирует азот при несколько более высокой концентрации CO, чем, когда он растет, как сульфатредуктор.

Показано, что гидрогеногенный карбоксидотроф *Thermincola ferriacetica* растет в среде без растворимых источников азота в атмосфере азота с 13% CO.

Установлено также, что «*Thermincola norvegica*» растет в среде без растворимых источников азота в атмосфере азота с 9% CO.

Все полученные данные косвенно свидетельствуют о способности к фиксации азота *Desulfotomaculum nigrificans* шт. CO-1-SRB^T, *Thermincola ferriacetica* шт. Z-0001, «*Thermincola norvegica*».

Библиографический список

1. Abramovich R.S. Nitrogen fixing potential in extreme environments/ R.S. Abramovich. – Thesis Doctor of Philosophy. Sydney, 2013. – 233 p.
2. Diender, M., Stams, A.J.M., and Sousa, D.Z. Pathways and bioenergetics of anaerobic carbon monoxide fermentation. *Front Microbiol* 2015;6: 1275.
3. Visser M, Parshina SN, Alves JJ, Sousa DZ, Pereira IA, Muyzer G, Kuever J, Lebedinsky AV, Koehorst JJ, Worm P, Plugge CM, Schaap PJ, Goodwin LA, Lapidus A, Kyrpides NC, Detter JC, Woyke T, Chain P, Davenport KW, Spring S, Rohde M, Klenk HP, Stams AJ. Genome analyses of the carboxydrotrophic sulfate-reducers *Desulfotomaculum nigrificans* and *Desulfotomaculum carboxydivorans* and reclassification of *Desulfotomaculum carboxydivorans* as a later synonym of *Desulfotomaculum nigrificans*. *Stand Genomic Sci.* 2014 Mar 1;9(3):655-75.
4. Sokolova T., Lebedinsky A. (2013). “CO-Oxidizing anaerobic thermophilic prokaryotes,” in *Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology. Biotechnology of Thermophiles*, eds Satyanarayana T., Littlechild J., Kawarabayasi Y. (Dordrecht: Springer;), 203–231. 10.1007/978-94-007-5899