

УДК 628.196:579.262

И.Ю. Рой, Н.А. Клименко, Г.М. Здоровенко, В.В. Гончарук

**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ
МИКРООРГАНИЗМОВ ВОДЫ, ВЫДЕЛЕННЫХ
ПОСЛЕ ДООЧИСТКИ ВОДОПРОВОДНОЙ ВОДЫ**

Институт коллоидной химии и химии воды им. А.В. Думанского
НАН Украины, г. Киев
roy_inka@ukr.net

*Проанализирован видовой состав бактериального сообщества питьевой водопроводной воды и проб воды, отобранной на различных этапах очистки на установке водоподготовки предприятия специальных напитков, по последовательностям гена 16S рРНК с использованием методов молекулярной биологии на основе филогенетического анализа. Идентифицированы следующие виды бактерий: *Bacillus nanhaiensis*, *Brevibacterium frigoritolerans* и *Lysinibacillus fusiformis*. Все изучаемые штаммы относятся к филуму *Firmicutes*, классу *Bacilli* – грамположительным микроорганизмам, которые не являются патогенными для человека. Присутствие исследуемых бактерий в различных средах обитания, в частности в питьевой хлорированной воде, при наличии стрессового фактора (засушливый климат, высокие или низкие температуры, истощенная почва, наличие дезинфектантов) свидетельствует о их способности легко адаптироваться к новым условиям существования, расширяя ареал обитания.*

Ключевые слова: биопленка, филогенетический анализ по последовательностям гена 16S рРНК, хлоррезистентность, *Bacillus nanhaiensis*, *Brevibacterium frigoritolerans*, *Lysinibacillus fusiformis*.

Введение. В технологиях очистки воды для хозяйственных целей одним из наиболее распространенных приемов является использование фильтров с активным углем (АУ). Характерная проблема таких систем очистки – микробиологические загрязнения, присутствующие либо в исходной воде, либо вносимые в очищаемую воду при ее обработке.

© И.Ю. Рой, Н.А. Клименко, Г.М. Здоровенко, В.В. Гончарук, 2014

При фильтровании воды через слой АУ важную роль играют бактериальные биопленки – сообщества микробов, прикрепленных к поверхности или друг к другу. Эти биопленки заключены в матрикс синтезированных ими внеклеточных полимерных веществ, имеют измененный фенотип, который проявляется другими параметрами роста, скоростью размножения и экспрессией специфических генов [1]. Сообщество микроорганизмов образует единую генетическую систему в виде плазмид, определяющих социальное поведение микроорганизмов – Quorum Sensing (QS) [2, 3]. Скоординированная активность сообщества микробов делает биопленки малоуязвимыми для действия дезинфектантов и факторов защиты макроорганизма [4].

Известно, что для каждого типа воды и системы ее очистки наблюдаются значительные различия филогенетического разнообразия бактериального состава. Многочисленные исследования микробных популяций питьевой воды с использованием молекулярных методов показали, что в хлорированной питьевой воде доминируют *Proteobacteria*, особенно классов *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria* и *Gammaproteobacteria* [5 – 9]. Использование серийного анализа рибосомных последовательных меток 16S рДНК (SARST – метод) позволило получить более ценную информацию о микробиологическом разнообразии и изобилии бактериального состава питьевой воды [10, 11].

В работе [12] была исследована вода из трех различных городских источников Парижа, которая прошла различающиеся по технологическим приемам стадии подготовки питьевой воды. Во всех случаях доминировал филум *Proteobacteria*, в частности классы *Beta* - и *Gammaproteobacteria*, включая *Escherichia coli*, которые были наиболее метаболически активными. Другие активные *Proteobacteria* классифицированы как *Porphyrobacteria* и *Sphingomonas*. Виды вышеназванных бактерий и других *Alphaproteobacteria* часто изолируются из образцов питьевой воды и некоторых водных источников [6, 13, 14, 15].

Особо следует отметить тот факт, что филогенетический анализ подтвердил наличие обильных неклассифицированных фило типов (до 333), которые могут присутствовать в такой олиготрофной среде, как хлорированная питьевая вода. Это намного больше, чем ранее было установлено авторами [6, 8]. В [6, 9, 13] отмечено доминирование филума *Proteobacteria* как в природной, так и хлорированной питьевой водах. Таким образом, фило типы из *Proteobacteria* филум составляют

значительную часть микробной флоры, которая присутствует в хлорированной питьевой воде.

Данные, полученные в [16], свидетельствуют, что некоторые бактерии в питьевой воде близко относятся к видам *Proteobacteria*, *Cyanobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* и *Planctomycetes*. *Planctomycetes* – подобные последовательности было трудно классифицировать, так как представители этого бактериального класса на сегодняшний день являются филогенетически непонятными. Они, по мнению авторов [9], не могут быть организмами, состоящими из наследственно различных клеток, так как существуют в нескольких банках клонов, и многие из них идентифицированы или близко идентичны ($\geq 97\%$) к последовательностям, полученным в других исследованиях, например в [17]. В этой работе также предположено, что указанные последовательности принадлежат к новой родословной, для которой в настоящее время нет доступных культивируемых образцов. Неклассифицированные последовательности были ассоциированы с редкими представителями образцов почвы прерий. Их наличие отмечается во всех процитированных выше работах, относящихся к питьевой воде, включая найденные последовательности из ДНК и РНК банка клонов. Это дает основание предположить, что указанные бактерии – общие представители систем распределения питьевой воды. Тот факт, что они являются обильными и потенциально активными, предполагает их важную роль в биогеохимических процессах в питьевой воде.

Авторами [13] получены последовательности из бактериальных групп жизнеспособных, но не культурабельных микроорганизмов, и труднорастущих бактерий, как, например, *Bacteroidetes* из водораспределительной системы. Наличие этих бактерий отмечено в работах [6, 9, 18], в которых показано, что некоторые роды этих жизнеспособных, но не культурабельных микроорганизмов широко представлены в водной среде. Также в [19] были проанализированы структура и состав бактериальных сообществ питьевой воды (Брауншвейг). Бактериальная флора данной воды прежде всего состояла из *Bacteroidetes* (25%), *Betaproteobacteria* (20%), *Actinobacteria* (16%) и *Alphaproteobacteria* (11%). Известно, что целенаправленные методы интерпретаций рРНК могут обеспечить надежную информацию об активных бактериальных популяциях в окружающей среде, включая водные распределительные системы [20 – 22].

При исследовании эффективности хлорирования вод в [23, 24] отмечено, что она снижается при увеличении дозы хлора. Это дает

основание предположить, что идентификация рРНК транскрипта может быть индикатором резистентности популяций к дезинфекции. Более того, в [25] показано, что 16S и 23S рРНК были среди всех жизнестойких транскриптов в клетках *Pseudomonas aeruginosa*, которые погибли в результате тепловой обработки. В [12] отмечено, что некоторая часть микробного сообщества может быть активной и, следовательно, жизнестойкой в условиях хлорирования. Определенную фракцию обитающих в сообществе бактерий сложно классифицировать, и поэтому она может представлять новую группу бактерий, рассматриваемую как эволюционировавшую из предшественников. Многие бактерии из таких фракций являются труднокультивируемыми в обычных условиях.

Молекулярный анализ многообразия бактериальных клонов демонстрирует филогенетическое разнообразие как в природных, так и хлорированных питьевых водах, и позволяет улучшить наше понимание генетического разнообразия и динамики распространения микробных сообществ питьевой воды. В дальнейшем эти исследования обеспечат образование фонда последовательностей для развития молекулярных испытаний, целью которых будет активная микрофлора питьевой воды, а также развитие стратегий по оптимизации технологических процессов водоподготовки.

Таким образом, для разработки методов управления свойствами бактериальных биопленок необходимы сведения о биологических особенностях бактерий, развивающихся в процессе водоподготовки. Следовательно, изучение филогенетического разнообразия контаминантов позволит разработать методы борьбы с ними.

Цель данной работы – определение видового состава преобладающих хлоррезистентных микроорганизмов, выделенных из проб питьевой водопроводной воды и проб воды, отобранной на различных этапах очистки на установке водоподготовки предприятия специальных напитков, по последовательностям гена 16S рРНК с использованием методов молекулярной биологии на основе филогенетического анализа.

Методика эксперимента. Исследовали таксономический статус выделенных нами ранее доминирующих бактериальных культур из проб питьевой водопроводной воды и проб воды, отобранной на различных этапах очистки установки водоподготовки предприятия специальных напитков. Данные микроорганизмы прошли все стадии

очистки установки водоподготовки в условиях периодической дезинфекции фильтров гипохлоритом натрия и тепловой обработки. Изучаемые культуры были обозначены как "V", "O", "W". Также ранее были исследованы культурально-морфологические свойства выделенных микроорганизмов и их устойчивость по отношению к хлору (NaOCl) как основного средства обеззараживания воды [26].

Генетическую идентификацию проводили в несколько этапов: выделение ДНК, полимеразная цепная реакция (ПЦР) гена 16S рРНК, секвенирование ПЦР-продуктов, анализ последовательностей 16S рРНК.

Выделение ДНК из биомассы бактерий проводили при помощи метода, описанного в [27]. Концентрация полученного препарата ДНК составляла 30 – 50 мкг/см³. Согласно данным электрофоретического анализа РНК в полученном препарате присутствует в следовых количествах (< 1%).

ПЦР гена 16S рРНК. Для проведения полимеразной цепной реакции и дальнейшего секвенирования ПЦР-фрагментов гена 16S рРНК была использована универсальная праймерная система [28]. Объем амплификационной смеси составлял 50 мкл и имел следующий состав: 1×буфер ДНК полимеразы BioTaq (17 мМ (NH₄)₂SO₄, 67 мМ трис-НСl, рН 8,8, 2 мМ MgCl₂); по 12,5 нмоль каждого из dNTP, 50 нг ДНК-матрицы; по 5 пмоль соответствующих праймеров и 3 ед. ДНК полимеразы BioTaq ("Диалат ЛТД", Россия).

Температурно-временной профиль ПЦР: первый цикл – 94 °С при 9 мин, 55 °С при 1 мин, 72 °С при 2 мин; последующие 30 циклов – 94 °С при 1 мин, 55 °С при 1 мин, 72 °С при 2 мин; завершающий цикл – 72 °С при 7 мин.

Продукты ПЦР анализировали при помощи электрофореза в 2%-ном геле агарозы при напряженности электрического поля 6 В/см.

Выделение и очистку продуктов ПЦР проводили из легкоплавкой агарозы с применением набора реактивов Wizard PCR Preps ("Promega", США) согласно рекомендациям производителя.

Секвенирование ПЦР-продуктов. Секвенирование полученных ПЦР-фрагментов генов, кодирующих 16S рРНК, проводили по методу, описанному в [29], с помощью набора реактивов Big Dye Terminator v.3.1 ("Applied Biosystems", Inc., USA) на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3730 ("Applied Biosystems", Inc., USA) согласно инструкциям производителя. При этом для секвенирования использовали праймеры [30], и чтение проводили в двух направлениях.

Анализ последовательностей 16S рРНК. Первичный анализ сходства нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК изучаемых штаммов проводили с помощью программного пакета BLAST [30].

Результаты и их обсуждение. Проведена генетическая идентификация выделенных ранее трех доминирующих бактериальных культур "V", "O", "W" из проб питьевой водопроводной воды и проб воды, отобранной на различных этапах очистки установки водоподготовки предприятия специальных напитков (последовательное фильтрование через кварцевые и угольные фильтры, заключительное обеззараживание гипохлоритом натрия). Для всех исследуемых образцов определена практически полная последовательность нуклеотидов амплификата гена, кодирующего 16S рРНК по номенклатуре *Escherichia coli*. Для бактериального изолята "O" была определена практически полная последовательность (1495 нуклеотидов) амплификата гена, кодирующего 16S рРНК, что соответствует позициям с 16 по 1517. Далее были проанализированы полученные последовательности путем сравнения с аналогичными, помещенными в базу данных GenBank [30].

Следует отметить, что филогенетически наиболее близкими к образцу "O" являлись *Bacillus nanhaiensis* и *Bacillus arsenicus*. Уровень сходства последовательностей исследуемого образца со штаммами *Bacillus nanhaiensis* strain K-W9 (JQ799063) и *Bacillus arsenicus* strain B3 (GQ304784) составил соответственно 100 и 99,9%. Уровень сходства последовательностей указанного образца и типового штамма *Bacillus nanhaiensis* strain JSM 082006 (GU477780) составил 100, а уровень сходства с типовым штаммом *Bacillus arsenicus* strain cop a/3 (AJ606700) – 97,4%. По существующим в настоящее время представлениям [31], обнаруженный уровень сходства последовательностей 16S рРНК позволяет отнести штамм "O" к виду *Bacillus nanhaiensis*.

Bacillus nanhaiensis – новая грампозитивная аэробная бактерия, изолированная от гомогената устрицы, собранной на острове Наочжоу в Южно-Китайском море (Китай) в 2011 г. Клетки имеют форму прямых палочек (~ 6,0 мкм в длину и ширину), располагающихся поодиночке, парами и короткими цепями; образуют овальные эндоспоры, которые лежат в субтерминальных невыпуклых спорангиях; каталазапозитивные; оксидазаотрицательные; подвижные за счет одного полярного жгутика; нитратов и нитритов не редуцируют; изолированно растут в 0 – 18% NaCl (оптимум 0,5 – 4,0%), при рН 6 – 10,5 (оптимум рН 8) и 15 – 45 °С (оптимум 30 °С) [32].

Для штамма "V" была определена последовательность (1439 нуклеотидов) амплификата гена, кодирующего 16S рРНК, что соответствует позициям с 40 по 1490. Также был проведен анализ полученных последовательностей путем сравнения с аналогичными, помещенными в базу данных GenBank [30]. Выявлено, что филогенетически наиболее близкими к образцу "V" были виды бактерий [*Brevibacterium*] *frigoritolerans*, *Bacillus simplex* и *Bacillus megaterium*. Уровень сходства последовательностей исследуемого образца со штаммами [*Brevibacterium*] *frigoritolerans* strain DSM 8801 (NR_042639), *Bacillus simplex* strain WN579 (DQ275178) и *Bacillus megaterium* strain NBRC 12068 (AB680229) составил соответственно 100; 100 и 99,9%. Уровень сходства последовательностей бактериального изолята "V" с типовыми штаммами [*Brevibacterium*] *frigoritolerans* strain 8801T (AM747813), *Bacillus simplex* strain DSM 1321T (AJ439078) и *Bacillus megaterium* strain IAM 13418 (D16273) составил соответственно 100; 99,5 и 94,8%. По существующим в настоящее время представлениям [31], обнаруженный уровень сходства последовательностей 16S рРНК позволяет отнести образец "V" к штамму вида [*Brevibacterium*] *frigoritolerans*.

Brevibacterium frigoritolerans была выделена в 1967 г из сухой почвы Марокко. Грампозитивные неспорообразующие палочки имели неправильную форму; температурный оптимум – 30 °С.

В 2013 г. из сельскохозяйственной почвы Пинджаба (Индия) выделены новые штаммы бактерий, которые разлагают форат – органо-фосфат, используемый в качестве инсектицида и акарицида [33]. Из 15-ти идентифицированных видов присутствовал и полученный нами *Brevibacterium frigoritolerans* штамм IMBL 2.1, оказавшийся одним из наиболее форатметаболизирующих бактерий, которые разлагали более чем 96 % фората при концентрации 50 мкг/0,1 см³ в течение двух суток и 100% фората в течение 13 сут.

При изучении микробного сообщества высокогорных и низкотемпературных почв долины Сон-Куль (Кыргызстан) на пойменных берегах р. Узун-Булак (высокогорная темно-каштановая почва, T – 9,5 °С, pH 8,1) среди выделенных типов неспорообразующих бактерий обнаружен *Brevibacterium frigoritolerans*, который участвует в разложении свежего растительного опада в высокогорных лугах [34].

Следует отметить, что *Brevibacterium frigoritolerans* присутствует не только в почве разных континентов, но также является представителем водных экосистем. Например, при изучении антибактериаль-

ной активности морских бактерий из Аравийского моря (Пакистан) активными продуцентами антимикробных метаболитов были следующие виды бактерий: *Bacillus subtilis*, *Bacillus lecheniformis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida* и *Brevibacterium frigoritolerans* [35]. Это свидетельствует о том, что выделенный нами из питьевой воды штамм *Brevibacterium frigoritolerans* может стать источником лекарственного средства и сыграть важную роль в медицине и фармакологии.

Также при изучении распределения культивируемых эндофитных бактерий на водных растениях и их потенциала для биоремедиации в загрязненных водах среди филогенетического разнообразия непатогенных и оппортунистически патогенных микроорганизмов для человека и животных был выделен *Brevibacterium frigoritolerans*, который, кроме почвенной и водной бактерии, является еще и эндофитным штаммом [36].

Для исследуемого образца "W", который показал высокую устойчивость к концентрациям NaOCl – 1,4; 3; 5; и 7 мг/дм³ в пределах 1 – 98%, также была определена практически полная последовательность (1493 нуклеотида) амплификата гена, кодирующего 16S рНК, что соответствует позициям с 20 по 1518. Проведен анализ полученной последовательности путем сравнения с аналогичными последовательностями, помещенными в базу данных GenBank [30].

Из полученных данных следует, что филогенетически наиболее близкими к образцу "W" были виды бактерий *Lysinibacillus fusiformis* и *Lysinibacillus sphaericus*. Уровень сходства последовательностей данного образца со штаммами *Lysinibacillus fusiformis* strain DSM 2898 (NR_042072) и *Lysinibacillus sphaericus* strain SEP-1 (KF228905) составил соответственно 100 и 99,8%. Уровень сходства последовательностей образца "W" и типового штамма *Lysinibacillus fusiformis* strain NRS-350 (AF169537) составил 99,7, а уровень сходства с типовым штаммом *Lysinibacillus sphaericus* strain B-23268 (AF169495) – 98,4%. По данным [32], обнаруженный уровень сходства последовательностей 16S рНК позволяет отнести образец "W" к виду *Lysinibacillus fusiformis*.

Lysinibacillus fusiformis – грампозитивные бактерии с палочковидными клетками; образуют эллипсоидальные или сферические споры, размещенные по центру или терминально в выпуклых спорангиях; температурный оптимум – 37 °С (диапазон от 16 до 45 °С) и оптимальный рН 7 – 8 (диапазон 5,5 – 9,5); подвижные; изолированы из почвы в 1988 г.; резистентны к хлорамфениколу (8 мкг/см³), эритро-

мицину (1 мкг/см³) и стрептомицину (8 мкг/см³); пептидогликан клеточной стенки *Lysinibacillus fusiformis* содержит лизин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту и аланин в молярном соотношении 1,81:1,0:0,69:0,64 как диагностические аминокислоты, представляющие тип пептидогликана клеточной стенки A4 α (Lys-Asp) [37].

В [38] была проанализирована питьевая вода 13 различных госпиталей региона Махабубнар (Индия). Из 55 выделенных штаммов бактерий преобладающее большинство относилось к филуму *Proteobacteria*, классам *Gammaproteobacteria* (*Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Pantoea*), *Alphaproteobacteria* (*Methylobacterium*) и филуму *Firmicutes*, классу *Bacilli* (*Bacillus*), за исключением 8 штаммов, которые не были связаны с представителями микрофлоры питьевой воды, относящимися к классу *Betaproteobacteria* (*Cupriavidus*, *Delftia*), филуму *Actinobacteria* (*Kocuria*) и филуму *Firmicutes*, классу *Bacilli* (*Exiguobacterium* и *Lysinibacillus*). Эти данные свидетельствуют, что *Lysinibacillus fusiformis* расширяет ареал обитания не только в рамках экологической ниши, но и континентально, заявляя о своем месте в микрофлоре питьевой воды как полноправного члена филогенетического разнообразия.

Также в 2014 г. в прибрежной зоне (Индия) был выделен микроб (продуцент биосурфактанта), который идентифицировали как *Lysinibacillus fusiformis* [39]. Биосурфактант показал отличное ингибирование биопленкообразования у таких бактерий, как *Escherichia coli* и *Streptococcus mutans*. В этой работе впервые сообщается о том, что *Lysinibacillus fusiformis* продуцирует гликолипид типа биосурфактанта, который способен ингибировать биопленкообразование у патогенных бактерий. Такая способность *Lysinibacillus fusiformis* может сыграть важную роль во многих биомедицинских манипуляциях, в которых молекула гликолипида должна помочь в предотвращении биологического загрязнения поверхностей разного плана оборудования, не будучи токсичной к биотической среде.

Тремя годами ранее в Китае изолировали углеводородрасщепляющую бактерию KL2-13 из почвы, загрязненной нефтью в Карамайском месторождении. Эта бактерия была идентифицирована как *Bacillus fusiformis* sp. (или *Lysinibacillus fusiformis* sp.). Несмотря на множество сведений о деградации нефтяных углеводородов бациллами, информации относительно деградации углеводородов палочкой *Lysinibacillus fusiformis* все еще недостаточно. По мнению авторов [40], эта бацилла является уникальным микроорганизмом, который может биологиче-

ски восстановить почву, будучи загрязненной нефтью в чрезвычайных условиях высокой температуры и очень засушливой окружающей среды в Карамае.

Таким образом, все вышеперечисленные особенности *Lysinibacillus fusiformis* характеризуют данный штамм микроорганизма как легко-адаптируемый в различных средах обитания и приобретающий качественно новые свойства для комфортного существования. Можно предположить, что наличие *Lysinibacillus fusiformis* в питьевой хлорированной воде связано с выработанной устойчивостью по отношению к хлору и его производным как к главному стрессовому фактору данной среды обитания.

Выводы. Проанализирован видовой состав бактериального сообщества питьевой водопроводной воды и проб воды, отобранной на различных этапах очистки на установке водоподготовки предприятия специальных напитков, по последовательностям гена 16S рРНК с использованием методов молекулярной биологии на основе филогенетического анализа.

Все идентифицированные виды бактерий, а именно *Bacillus nanhaiensis*, *Brevibacterium frigoritolerans* и *Lysinibacillus fusiformis*, относятся к филуму *Firmicutes*, классу *Bacilli* – грамположительным микроорганизмам, которые не являются патогенными для человека.

Данные штаммы изначально были обнаружены на разных континентах и выделены из различных сред обитания (вода, почва, многоклеточный организм). Все они также являются представителями филогенетической группы микробного сообщества природной и питьевой вод. Присутствие исследуемых бактерий в различных средах обитания, в частности в питьевой хлорированной воде, при наличии стрессового фактора (засушливый климат, высокие или низкие температуры, истощенная почва, наличие дезинфектантов), позволяет судить о их способности легко адаптироваться к новым условиям существования, расширяя ареал обитания.

Благодарим сотрудников Центра "Биоинженерия" и лаборатории молекулярной диагностики (ЦКП) Российской академии наук за проведение генетической идентификации бактериальных культур.

Резюме. Проаналізовано видовий склад бактеріальної мікрофлори питної водопровідної води та проб води, відібраної на різних ета-

пах очистки на установці водопідготовки підприємства спеціальних напоїв, за послідовностями гена 16S рРНК з використанням методів молекулярної біології на основі філогенетичного аналізу. Ідентифіковані наступні види бактерій: *Bacillus nanhaiensis*, *Brevibacterium frigoritolerans* и *Lysinibacillus fusiformis*. Всі вивчені штами відносяться до філуму *Firmicutes*, класу *Bacilli* – грампозитивним мікроорганізмам, які не є патогенними для людини. Присутність досліджуваних бактерій в різних середовищах існування, в присутності стресового фактора (посушливий клімат, високі чи низькі температури, виснажений ґрунт, наявність дезінфектантів), зокрема в питній хлорованій воді, говорить про здатність легко адаптуватися до нових умов середовища, розширюючи ареал існування.

I.Yu. Roi, N.A. Klymenko, G.M. Zdrovenko, V.V. Goncharuk

PHYLOGENETIC DIVERSITY OF MICROORGANISMS OF WATER ALLOCATED AFTER INSTALLING POTABLE TAP WATER

Summary

Analyzed the species composition of the bacterial community drinking tap water and water samples selected at various stages of purification in water treatment companies specially drinks 16S rRNA gene sequences using molecular biology techniques based on phylogenetic analysis. Identify the following types of bacteria: *Bacillus nanhaiensis*, *Brevibacterium frigoritolerans* и *Lysinibacillus fusiformis*. All studied strains belong to division *Firmicutes*, phylum *Bacilli* - Gram-positive microorganisms that are not pathogenic to humans. Investigated the presence of bacteria in different habitats in the presence of stress factors (arid, high or low temperatures, soil depletion, the presence of disinfectants), and in particular drinking chlorinated water, says the ability to easily adapt to the new conditions, expanding halo habitat.

Список использованной литературы

- [1] Tetz V.V. // Med. Microbiol. Lett. – 1996. – 5. – P. 426–36.
- [2] Watnick P., Kolter R. // J. Bacteriol. – 2000. – 182. – P. 2675–2685.
- [3] O'Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. // Ann. Rev. Microbiol. – 2000. – 54. – P. 49–79.

- [4] *Wolcott R.D., Ehrlich G.D. // J. Amer. Med. Assoc. – 2008. – 299. – P. 2682–2684.*
- [5] *Martiny A.C., Jorgensen T.M., Albrechtsen H.J., Arvin E., Molin S. // Appl. Environ. Microbiol. – 2003. – 69, N11. – P. 6899–6907.*
- [6] *Williams M.M., Santo Domingo J.W., Meckes M.C., Kelty C.A., Rochon H.S. // J. Appl. Microbiol. – 2004. – 96. – P. 954–964.*
- [7] *Hoefel D., Monis P.T., Grooby W.L., Andrews S., Saint C.P. // Appl. Environ. Microbiol. – 2005. – 71, N11. – P. 6479–6488.*
- [8] *Martiny A.C., Albrechtsen H.-J., Arvin E., Molin S. // Ibid. – 2005. – 71. – P. 8611–8617.*
- [9] *Eichler S., Christen R., Holtje C., Westphal P., Botel J., Brettar I., Mehling A., Hofle M.G. // Ibid. – 2006. – 72. – P. 1858–1872.*
- [10] *Sogin M.L., Morrison H.G., Huber J.A., Mark Welch D., Huse S.M., Neal P.R., Arrieta J.M., Herndl G.J. // Proc. Nation. Acad. Sci. USA. – 2006. – 103, N32. – P. 12115–12120.*
- [11] *Poitelona J.-B., Joyeuxa M., Welte B., Dugueta J.-P., Prestelb E., Lespinetb O., DuBowb M. // Water Res.. – 2009. – 43. – P. 4197–4206.*
- [12] *Williams M.M., Braun-Howland E.B. // Appl. Environ. Microbiol. – 2003. – 69. – P. 5463–5471.*
- [13] *Revetta R., Pemberton A., Lamendella R., Ikera B., Santo Domingo J. // Water Res. – 2010. – 44. – P. 1353–1360.*
- [14] *Takeuchi M., Hamana K., Hiraishi A. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2001. – 51. – P. 1405–1417.*
- [15] *Yoon J.H., Lee M.H., Oh T.K. // Ibid. – 2004. – 54. – P. 2231–2235.*
- [16] *Gomila M., Gasco J., Busquets A., Gil J., Bernabeu R., Buades J.M., Lalucat J. // FEMS Microbiol. Ecol. – 2005. – 52. – P. 101–114.*
- [17] *Elshahed M.S., Youssef N.H., Spain A.M., Sheik C., Najar F.Z., Sukharnikov L.O., Roe B.A., Davis J.P., Schloss P.D., Bailey V.L., Krumholz L.R. // Appl. Environ. Microbiol. – 2008. – 74. – P. 5422–5428.*
- [18] *O'Sullivan L.A., Fuller K.E., Thomas E.M., Turley C.M., Fry J.C., Weightman A.J. // FEMS Microbiol. Ecol. – 2004. – 47. – P. 359–370.*
- [19] *Karsten H., Kahlisch L., Brettar I., Hofle M. // Appl. Environ. Microbiol. – 2012. – 78. – P. 3530–3538.*
- [20] *Hoshino T., Yilmaz L.S., Noguera D.R., Daims H., Wagner M. // Ibid. – 2008. – 74. – P. 5068–5077.*
- [21] *Milner M.G., Curtis T.P., Davenport R.J. // Water Res. – 2008. – 42. – P. 2863–2872.*
- [22] *Miskin I.P., Farrimond P., Head I.M. // Microbiol. – 1999. – 145. – P. 1977–1987.*

- [23] *Giao M.S., Azevedo N.F., Wilks S.A., Vieira M.J., Keevil C.W.* // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2008. – **74**. – P. 5898–5904.
- [24] *Giao M.S., Wilks S., Azevedo N.F., Vieira M.J., Keevil C.W.* // *Biofouling.* – 2009. – **25**. – P. 335–341.
- [25] *Cenciarini C., Courtois S., Raoult D., La Scola B.* // *Publ. Lib. Sci.* – 2008. – **3**, N10. – P. 3443.
- [26] *Goncharuk V.V., Roi I.Yu., Klymenko N.A., Zdorovenko G. M.* // *J. Water Chem. and Technol.* – 2014. – **36**, N1. – P. 69–82.
- [27] *Булыгина Е.С., Кузнецов Б.Б., Марусина А.И., Кравченко И.К., Быкова С.А., Колганова Т.В., Гальченко В.Ф.* // *Микробиология.* – 2002. – **71**, №4. – С. 500–508.
- [28] *Lane D.J. 16S/23S rRNA sequencing.* / Eds. E. Stackebrandt, M. Goodfellow. – Chichester: John Wiley and Sons, 1991. – P. 115–175.
- [29] *Sanger F., Nicklen S., Coulson A.R.* // *Proc. Nation. Acad. Sci. USA.* – 1977. – **84**. – P. 5463–5467.
- [30] *Camacho C., Coulouris G., Avagyan V., Ma N., Papadopoulos J., Bealer K., Madden T.L.* // *BMC Bioinform.* – 2009. – **10**. – P. 421.
- [31] *Stackebrandt E., Ebers J.* // *Microbiol. Today.* – 2006. – **33**. – P. 152–155.
- [32] *Chen Y.G., Zhang L., Zhang Y.Q., He J.W., Klenk H.P., Tang S.K., Zhang Y.X., Li W.J.* // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2011. – **61**. – P. 888–893.
- [33] *Jariyal M., Gupta V.K., Mandal K., Jindal V., Banta G., Singh B.* // *Environ. Sci. Pollut. Res.* – 2014. – **21**, Issue 3. – P. 2214–2222.
- [34] *Дюлооткелдиева Т.Д., Бобушева С.Т., Бектурганова Б.Ш.* // *Фундамент. исслед.* – 2012. – №9. – С. 278–287.
- [35] *Ahmed N., Uzair B., Ayaz S., Ahmed V.* // *Int. J. Microbiol.* – 2008. – **4**, N 2. – P. 1–11.
- [36] *Wei-Min Chen, Yue-Qin Tang, Kazuhiro Mori, Xiao-Lei Wu* // *Aquat. Biol.* – 2012. – **15**. – P. 99–110.
- [37] *Ahmed I., Yokota A., Yamazoe A., Fujiwara T.* // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2007. – **57**. – P. 1117–1125.
- [38] *Kumar Pindi P., Raghuv eer Yadav P., Shiva Shanker A.* // *BioMed Res. Int.* – 2013. – Article ID 348250. – P. 10
- [39] *Pradhan A.K., Pradhan N., Sukla L.B., Panda P.K., Mishra B.K.* // *Bioproc. Biosyst. Eng.* – 2014. – **37**, N2. – P. 139–49.
- [40] *Dongfeng Z., Weilin Wu., Yunbo Z., Qiyou L., Haibin Y., Chaocheng Z.* // *Chin. Petrol. Proc. Petrochem. Technol.* – 2011. – **13**, N4. – P. 74–82.

Поступила в редакцию 17.03.2014г.