

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М.В.  
ЛОМОНОСОВА»

ФАКУЛЬТЕТ ПОЧВОВЕДЕНИЯ

*На правах рукописи*



**БЕЛОВ**

**Андрей Антонович**

**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКАЯ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ  
ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОКАРИОТНЫХ СООБЩЕСТВ НЕКОТОРЫХ  
АРИДНЫХ ПОЧВ И ОСАДОЧНЫХ ПОРОД**

Специальность – 03.02.03 – Микробиология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор

Наталия Александровна Манучарова

Москва 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>1. ВВЕДЕНИЕ</b> .....	<b>4</b>
<b>2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	<b>13</b>
<b>2.1 Бактериальные сообщества аридных экосистем</b> .....	<b>14</b>
2.1.1 Холодные аридные экосистемы .....	14
2.1.2 Жаркие аридные экосистемы.....	23
2.1.3 Экосистемы с высокой концентрацией водорастворимых солей .....	29
<b>2.2 Физиологические механизмы адаптации прокариот к низкой доступности воды</b> .....	<b>34</b>
<b>2.3 Физиологические механизмы адаптации прокариот к температуре окружающей среды</b> .....	<b>39</b>
<b>3. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	<b>44</b>
<b>3.1. Описание исследованных образцов</b> .....	<b>44</b>
<b>3.2. Методы исследования</b> .....	<b>48</b>
3.2.1 Люминесцентно-микроскопический учет общей численности прокариот в образцах.....	48
3.2.2 Учет численности метаболически активных прокариот методом флуоресцентной <i>in situ</i> гибридизации.....	50
3.2.3 Учет численности культивируемых бактерий методом посева на плотные питательные среды..	51
3.2.4 Анализ функциональной активности микробных сообществ методом мультисубстратного тестирования (МСТ) .....	53
3.2.5 Идентификация чистых культур бактерий методом секвенирования фрагментов гена 16S рРНК .....	54
3.2.6 Высокопроизводительное секвенирование образца геномной ДНК микробного сообщества мерзлой породы.....	55
3.2.7 Определение условий, пригодных для роста штаммов.....	57
<b>4. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ</b> .....	<b>59</b>
<b>4.1 Общая численность прокариот и численность культивируемых бактерий в     исследуемых образцах</b> .....	<b>59</b>
<b>4.2 Численность метаболически активных <i>in situ</i> прокариот</b> .....	<b>65</b>
<b>4.3 Мультисубстратное тестирование бактериальных сообществ исследуемых образцов     почв и пород</b> .....	<b>73</b>
<b>4.4 Филогенетическая структура бактериального комплекса мерзлой осадочной породы     архипелага Новая Земля <i>in situ</i></b> .....	<b>79</b>
<b>4.5 Структура сообществ культивируемых бактерий</b> .....	<b>84</b>
<b>4.6 Диапазоны устойчивости выделенных штаммов</b> .....	<b>108</b>

<b>5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	<b>124</b>
<b>6. ВЫВОДЫ</b> .....	<b>127</b>
<b>7. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	<b>129</b>
<b>8. ПРИЛОЖЕНИЯ</b> .....	<b>182</b>
<b>Приложение 1. Физиологические характеристики наиболее устойчивых штаммов</b> .....	<b>182</b>
<b>Приложение 2. Чувствительность к антибиотикам множественно устойчивых штаммов</b> .....	<b>185</b>
<b>Приложение 3. Филогенетические деревья изолятов</b> .....	<b>186</b>

## 1. ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день около 30% земной поверхности представлено экосистемами, испытывающими периодический или длительный дефицит влаги и, согласно прогнозам, эта площадь существенно увеличится в результате изменения климата, процессов опустынивания, деятельности человека (Li et al., 2020). Вода необходима для всех живых организмов, ввиду ее участия в большинстве биохимических процессов в организме, включая процессы фолдинга белков и поддержания их стабильной конформации, фермент-субстратного взаимодействия и других процессов. Воздействие засушливых условий, таким образом, может серьезно препятствовать функционированию и выживанию клетки. Возникновение дефицита доступной для микробной клетки воды может быть вызвано нехваткой воды при высушивании или замораживании (матричный стресс) окружающей клетку среды или же чрезмерными концентрациями растворенных веществ в ней (осмотический стресс) (Lebre et al., 2017). Таким образом, аридные экосистемы – это экосистемы, в которых микроорганизмы лимитированы наличием доступной воды. Они представлены жаркими и холодными пустынями, полярными ледниковыми и внеледниковыми ландшафтами, а также высокогорными территориями. Дефицит доступной для микроорганизмов воды также наблюдается на различных засоленных и загрязненных территориях, однако их отношении термин «аридные» не используют. В большинстве экосистем, испытывающих дефицит доступной для микроорганизмов влаги, складывается контрастный физико-химический режим: наблюдаются высокоамплитудные температурные колебания, как в течение суточных, так и сезонных и годовых циклов; неравномерное распределение атмосферных осадков в течение года, нестабильный химический состав почвенных растворов.

Микроорганизмы, существующие в подобных условиях, вынуждены адаптироваться как к дефициту доступной воды, так и к другим экстремальным воздействиям (низкие или высокие температуры, химический

состав растворенных веществ) и их флуктуациям, способным ограничить их развитие. Под действием этих стрессовых агентов, следовательно, формируются сообщества, приспособленные к выживанию в подобных агрессивных условиях. Проведенные ранее исследования различных природных аридных экосистем показали наличие в них сложных микробных сообществ, включающих в себя, в том числе, ранее не известные виды микроорганизмов, хорошо адаптированных к существованию агрессивных условиях окружающей среды (Amils et al., 2007; Oarga, 2009; Makhalanyane et al., 2015). Обнаружены организмы-экстремофилы, достигшие в своей адаптации к существованию в экстремальных экотопах такого уровня, что не способны размножаться в «нормальных» условиях. Во многих работах было показано присутствие жизнеспособных микроорганизмов в вечномерзлых, пустынных, гидротермальных и других экстремальных местообитаниях (Rothschild et al., 2001; Dion, 2008; Jansson et al., 2014).

Накопленные данные свидетельствуют о способности отдельных микроорганизмов и микробных сообществ жить в условиях экстремальной факторной нагрузки: известны штаммы бактерий, сохраняющие способность к размножению при температурах выше 100°C (Antranikian et al., 2017; Amin et al., 2017; Hirota et al., 2019), ниже 0°C (Mykytczuk et al., 2013), способные сохранять метаболическую активность при температурах близких к -20°C (Rivkina et al., 2000; Junge et al., 2004); известны штаммы прокариот, растущие в экстремально кислых или экстремально щелочных условиях при рН среды ниже 1 и выше 14 (Rampelotto, 2016; González-Toril et al., 2019); способные размножаться в насыщенных растворах различных солей (Goordial et al., 2016; Takai, 2019).

Исследования биоразнообразия прокариот, существующих в аридных условиях, и их физиолого-биохимических механизмов экстремотолерантности и экстремофилии актуальны как для исследования микробной экологии, так и в прикладных областях знания. В то же время, ввиду разнообразия различных экстремальных местообитаний, в частности,

испытывающих дефицит влаги, а также высокой гетерогенности почв и осадочных пород как сред обитания микроорганизмов, остаются мало исследованными микробные сообщества многих экстремальных биотопов. На сегодняшний день исследовано ограниченное число микробных сообществ, существующих в экстремальных природных условиях окружающей среды: не выявлены пределы их метаболической активности, вклад в биосферные процессы и не до конца ясны физиологические механизмы устойчивости клетки к различным стрессовым воздействиям (Dion, 2008; Stan-Lotter, Fendrihan, 2012; Heinrich, 2013; Merino et al., 2019). Накоплено относительно мало данных о микробных сообществах аридных экосистем, ксеротолерантных прокариотах: их филогенетическом разнообразии, распространении и физиологических особенностях (Qin et al., 2016; Schmid et al., 2020). Как правило, при изучении микроорганизмов экстремальных местообитаний, исследуются единичные устойчивые штаммы, при этом масштабный скрининг и исследования физиологических особенностей широкого разнообразия микроорганизмов, выделенных из подобных экотопов, редки.

Отдельно стоит отметить, что за последние десятилетия накоплено много данных о физико-химических свойствах, климатическом и космическом режиме различных инопланетных тел, в частности Марса (Scott et al., 2009; Beblo-Vranesevic, et al., 2020). Показано, что потенциально обитаемые объекты космического пространства подвергаются экстремальному воздействию ряда факторов, среди которых: высокая интенсивность ионизирующего излучения, пониженное давление, контрастный температурный режим, низкая доступность воды, присутствие соединений окислителей и другие (Cloutis et al., 2008; Davila et al., 2013). Также выявлено, что в современной биосфере нашей планеты имеются экосистемы, характеризующиеся сходными условиями по одному или нескольким параметрам. Такими экосистемами являются, в частности, жаркие-аридные и крио-аридные пустыни, вечномерзлые осадочные породы и некоторые пустынные и полупустынные

почвы (Gilichinsky et al., 2003; Dion, 2008; Smith, 2014), которые рассматриваются как земные аналоги инопланетных тел и могут являться модельными объектами для астробиологических экспериментов, ввиду сходства физико-химических условий и режимов, ведущую роль, среди которых, играет доступность воды. Изучение многообразия устойчивых в агрессивных условиях микроорганизмов и механизмов необходимо как для выбора критериев поиска жизни вне Земли, так и для понимания процессов, протекающих в ходе эволюции биосферы и ее современного функционирования в условиях антропогенной нагрузки (Des Marais et al., 2008).

**Актуальность** исследования обусловлена, с одной стороны, возросшим в последние десятилетия интересом к изучению биоразнообразия прокариотных сообществ и их экологических функций, а с другой стороны с распространением процессов деградации почвенного покрова, аридизации экосистем и изменения циклов многих химических элементов. Изучение бактериального биоразнообразия и создание коллекций штаммов, выделенных из уникальных экосистем, являются, на сегодняшний день, одними из приоритетных проблем микробиологии. Изучение экстремальных экосистем актуально в связи с активным развитием междисциплинарных научных направлений, таких как астробиология, биотехнология и другие, для которых подобные экотопы являются модельными объектами или источниками рабочих штаммов, ферментативных систем или функциональных генов.

### **Цель исследования**

Изучение и сравнительный анализ таксономической структуры прокариотных сообществ почв и осадочных пород аридных экосистем; физиологическая характеристика сообществ и штаммов-изолятов.

### **Задачи исследования**

1. Оценка общей численности и биомассы прокариотных клеток и выявление доли метаболически активных прокариот в образцах почв и пород аридных экосистем;
2. Описание таксономической структуры культивируемых бактериальных комплексов;
3. Физиологическая характеристика штаммов-изолятов (диапазон температур и рН, пригодных для роста, чувствительность к присутствию различных солей и клинических антибиотиков);
4. Сравнительный анализ сообществ по физиологическим и филогенетическим характеристикам;
5. Создание коллекции бактерий, выделенных из исследованных образцов.

**Объектами исследования** являлись сообщества культивируемых бактерий, выделенных из различных почв и осадочных пород, отобранных в аридных экосистемах Земного шара.

**Предмет исследования** - численность прокариотных сообществ, исследованных образцов, таксономический состав метаболически активных *in situ* прокариот и сообществ культивируемых бактерий, а также оценка физиологических характеристик изолятов.

### **Научная новизна**

В работе проведен анализ широкого спектра прокариотных сообществ различных аридных экосистем. Отбор образцов почв и осадочных пород был проведен в малоизученных областях: антарктических долинах, архипелагах Северная и Новая Земля, пустынях Сахара, Мохаве, Гибсона. В работе впервые проведена микробиологическая характеристика образцов, отобранных на севере Северного острова архипелага Новая Земля. Создана коллекция бактерий, выделенных из исследуемых образцов, насчитывающая 430 штаммов аэробных гетеротрофных бактерий. Впервые проведен масштабный скрининг штаммов, выделенных из почв и осадочных пород

аридных экосистем, на способность к росту в широких диапазонах физико-химических воздействий. Проведенный анализ физиологических характеристик штаммов не имеет аналогов в литературе как по набору анализируемых параметров, так и по объему исследованной выборки. В ходе исследования показано, что полиэкстремотолерантность характерна для большинства штаммов аэробных гетеротрофных бактерий, выделенных из почв и пород аридных биотопов.

### **Теоретическая и практическая значимость**

В ходе исследования выделены полиэкстремотолерантные штаммы аэробных гетеротрофных бактерий, способные сохранять метаболическую активность *in vitro* в широких диапазонах физико-химических условий, которые могут быть использованы в биотехнологических целях. Обнаружение антибиотикоустойчивых штаммов (в том числе характеризующихся множественной устойчивостью к антибиотикам) свидетельствует о перспективности их дальнейшего изучения как потенциальных продуцентов новых антибиотиков. Результаты исследования могут быть использованы также для прогнозирования последствий процессов опустынивания и смены микробных сообществ и их активности в почвах, подвергающихся аридизации и опустыниванию, а также в оттаивающих ввиду изменения климата вечномёрзлых почвах и породах. Созданная коллекция бактерий может быть использована в качестве объекта для исследования потенциальной выживаемости бактерий в условиях внеземного пространства и разработки протоколов планетарного карантина.

### **Методология диссертационного исследования.**

В работе использовали стандартизированные современные и традиционные методы и подходы микробиологии и молекулярной биологии. Эксперименты выполняли в лабораторных условиях, полученные результаты подвергали статистической обработке.

Для идентификации микроорганизмов применяли метод секвенирования участков гена 16S рРНК, исследование бактериальных сообществ *in situ* проводили на базе платформы Illumina MiSeq.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Сообщества культивируемых бактерий исследованных образцов почв и осадочных пород аридных экотопов характеризуются высоким биоразнообразием, сходной таксономической структурой с доминированием представителей филумов *Actinobacteria*, *Proteobacteria* и *Firmicutes* и невысокой долей метаболически активных *in situ* прокариот.
2. Наиболее разнообразные в таксономическом и функциональном отношении бактериальные сообщества выявлены в мерзлых породах острова Северного архипелага Новая Земля и поверхностном горизонте почвы пустыни Мохаве.
3. Прокариотное сообщество мерзлой осадочной породы Северного острова архипелага Новая Земля, ранее не описанное в научной литературе, характеризуется высоким разнообразием: *in situ* доминируют представители филума *Proteobacteria*, субдоминантные позиции занимают представители филумов *Actinobacteria* и *Bacteroidetes*; *in vitro* преобладают представители филумов *Actinobacteria* и *Proteobacteria*.
4. Большинство представителей исследованных сообществ культивируемых бактерий проявляют полиэкстремотолерантность к широким диапазонам температур и рН среды, концентрациям различных водорастворимых солей, присутствию различных клинических антибиотиков, а отдельные штаммы характеризуются множественной антибиотикорустойчивостью.

#### **Личный вклад автора**

Работа является результатом оригинальных исследований. Автор принимал участие в определении направлений исследований, разработке схем

экспериментов, получении и обработке данных, обсуждении полученных результатов и подготовке публикаций. Основные экспериментальные результаты получены лично автором.

### **Степень достоверности результатов и апробация работы**

Все полученные результаты являются оригинальными, их достоверность обусловлена большим объемом полученных данных, воспроизводимостью результатов в повторностях, использовании классической и современных подходов и методов, статистической обработке полученных данных. Степень достоверности подтверждается опубликованными по теме работы статьями в рецензируемых научных журналах. Основные результаты диссертационной работы были доложены на следующих всероссийских и международных конференциях:

- 1) XXII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов-2015" (Москва, 2015),
- 2) XI Международная школа-конференция с международным участием "Актуальные аспекты современной микробиологии" (Москва, 2016),
- 3) Микробные сообщества в эволюции биосферы с древнейших времен до наших дней (Москва, 2016)
- 4) Современные аспекты сельскохозяйственной микробиологии (Москва, 2016),
- 5) The Eighth Moscow Solar System Symposium (Москва, 2017),
- 6) 1-ый Российский Микробиологический Конгресс, (Пушино, 2017),
- 7) XXXVII Annual Meeting Of The European Culture Collections' Organisation Conference (Москва, 2018),
- 8) The Ninth Moscow Solar System Symposium (Москва, 2018),
- 9) Эволюция биосферы с древнейших времен до наших дней (Москва, 2018),
- 10) III Молодежная конференция «Почвоведение: Горизонты будущего» (Москва, 2019),
- 11) Venera-D Joint Science Definition Team Workshop: Potential Landing Sites and Cloud Layer Habitability (Москва, 2019),
- 12) The Tenth Moscow Solar System symposium (10MS-3) (Москва, 2019),
- 13) IV Молодежная конференция «Почвоведение: Горизонты будущего» (Москва, 2020),
- 14) The Eleventh Moscow Solar System Symposium (Москва, 2020).

## **Публикации**

По материалам диссертации опубликованы 22 работы: из них 6 статей в рецензируемых научных изданиях, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus) и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В. Ломоносова, 2 статьи, входящих в перечень изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки РФ, 1 статья в сборнике, 13 публикаций в сборниках материалов и тезисах докладов на российских и международных научных конференциях.

## **Объем и структура диссертации**

Диссертационная работа состоит из 8 разделов: введения, обзора литературы, объектов и методов исследования, результатов и обсуждения, заключения, выводов, списка литературы и приложений. Работа изложена на 181 странице машинописного текста, содержит 28 рисунков и 5 таблиц. Список литературы включает 450 источников, из них 26 на русском и 424 на иностранных языках.

**Выполнение работы было поддержано** грантами РФФИ № 18-34-00331 мол\_А «Устойчивость почвенных бактерий из экстремальных местообитаний к различным видам стресса» и РФФИ № 14-50-00029 «Научные основы создания Национального банка-депозитария живых систем».

**Благодарности.** Автор признателен своему первому научному руководителю Е.А. Воробьевой за помощь с выбором тематики исследований. Автор благодарен научному руководителю Н.А. Манучаровой за ценные советы и помощь при подготовке и описании диссертационных исследований. Автор благодарен В.С. Чепцову за помощь и поддержку на всех этапах работы. Автор выражает благодарность Бадюкову Д.Д., Ежелеву З.С., Смирновой И.Е., и Ульяновой Т.Ю. за помощь в отборе образцов для исследования, Лысак Л.В. за ценные советы при подготовке текста диссертационной работы, Розановой М.С. за консультации и помощь в проведении химических анализов, Петровой М.А. за обучение основам молекулярно-биологических методов.

## 2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Аридными называют экосистемы, по тем или иным причинам, испытывающие дефицит влаги. К таким экосистемам относят жаркие пустыни, где наблюдается сочетание высоких температур воздуха, их значительные суточные колебания, и низкое количество атмосферных осадков (100 – 200 мм/год и менее) (Makhalanyane et al., 2015). Для жарких аридных экосистем характерна жаркая погода в течение всего года с абсолютными максимумами температур вплоть до более 45°C и контрастными колебаниями температур в ночное время суток вплоть до ниже 0°C. К таким экосистемам относятся, в частности, пустыни Сахара, Намиб и Калахари в Африке, пустыня Тар в Индии, пустыни Мохаве, Сонора, Чиуауа в Северной Америке, пустыни Симпсона, Гибсона и Большая пустыня Виктория в Австралии.

Аридными экосистемами также являются холодные и полярные пустыни. Для холодных пустынь характерно жаркое засушливое лето и холодные зимы со средними температурами, опускающимися ниже 0°C. Малое количество осадков в этих экосистемах обычно обусловлено близостью горных цепей, ограничивающих поступление влажных воздушных масс. Типичным примером холодных пустынь является пустыня Гоби в Монголии.

Области с полярным климатом, характеризующимся круглогодичными отрицательными температурами воздуха и количеством осадков 100-200 мм в год и менее, также являются аридными. Экосистемы с таким типом климата распространены в полярных областях нашей планеты: в Арктике и в Антарктике. Минимальные температуры в этих районах снижаются до –50°C и ниже. Летние температуры редко превышают 15°C (Cowan et al., 2014).

Во всех этих экосистемах наблюдается низкое количество осадков и, следовательно, дефицит воды для организмов, доступность которой может дополнительно снижаться ввиду быстрого ее испарения или кристаллизации (Chattopadhyay, 2006; Lebre et al., 2017). Низкая влажность воздуха и почв в этих регионах приводит также к значительным колебаниям температуры

воздуха и почв и другим контрастным изменениям физико-химических параметров среды, что приводит к множественным неблагоприятным воздействиям на микробные сообщества, существующие в почвах и осадочных породах этих экосистем. И в то же время, почвы и породы этих экосистем не безжизненны, в них развиваются и функционируют микробные сообщества, которые называют экстремофильными, ввиду их существования в столь агрессивных условиях (Dion, 2014; Rampelotto, 2016).

Кратко рассмотрим имеющиеся данные о таксономическом разнообразии и физиологических особенностях прокариотных сообществ различных аридных экосистем.

## **2.1 Бактериальные сообщества аридных экосистем**

### **2.1.1 Холодные аридные экосистемы**

Обширные территории нашей планеты характеризуются низкой температурой: около 71% земной поверхности занимает мировой океан, большая часть которого (90%) имеет температуру ниже 5°C (Hartmann, 2015). Полярные области, включая континент Антарктиду и холодные зоны Арктики, занимают примерно 20% поверхности суши (Steven et al., 2006; Jansson et al., 2014).

Низкотемпературные среды обитания делят на две основные группы: постоянно холодные термостабильные среды (грунт океанов и полярных озер, водная толща ниже уровня термоклина, холодные моря, а также толща льдов, пещеры с постоянно низкими температурами и многолетне-мерзлые породы) и среды, которые подвержены периодическим температурным флуктуациям. К последней группе относят антарктические полярные и арктические тундровые почвы, которые могут испытывать колебания температур от -88°C до 15°C (Chesworth, 2007).

Многолетне-мерзлые породы - часть литосферы, характеризующаяся отсутствием периодического протаивания. Общая площадь многолетне-мерзлых пород на Земле составляет порядка  $3.5 \times 10^6$  км<sup>2</sup>, что составляет около

7% поверхности Земли и 23% суши. Основные регионы распространения – северные районы Аляски, Канады, Евразии, острова Северного Ледовитого океана и Антарктида (Vaughan et al., 2013).

Температура является одним из важных параметров, который регулирует активность микроорганизмов в естественной среде. Температурный диапазон, в котором возможен активный рост, сильно различается у разных микроорганизмов. Из различных природных и искусственных холодных местообитаний выделены бактерии, способные осуществлять процессы метаболизма и роста при температурах около 0°C и ниже (Rothschild et al., 2001). Первое упоминание о жизнеспособных микроорганизмах, выделенных из многолетне-мерзлых пород, встречается в работах Омелянского и датируется 1911 годом и, следовательно, исследования продолжаются уже чуть более века, однако до сих пор не исчерпали себя (Пиневиц, 2006).

Важной биосферной функцией многолетне-мерзлых пород является криоконсервирование в них клеток различных микроорганизмов (бактерий, архей и грибов) в состоянии метаболического покоя. Этому способствует структурно-минералогическая гетерогенность гетерофазных твердых сред, таких как почва и осадочные породы, в горизонтальном и вертикальном направлении, что приводит к формированию на ограниченных площадях чрезвычайно высокого разнообразия микролокусных местообитаний (Jansson et al., 2014).

Считается, что нижний температурный предел сохранения метаболической активности прокариот составляет -18°C (Rivkina et al., 2000). Вероятно, при температурах ниже -20°C рост клеток прокариот невозможен, т.к. происходит их витрификация (Clarke et al., 2014). В таком состоянии микроорганизмы могут сохраняться в течение длительного времени, при наступлении же благоприятных для метаболизма условий они способны вернуться в активное состояние.

Нуклеотидные последовательности гена 16S рРНК, полученные из арктических и антарктических почвенных образцов принадлежат бактериям различных филумов и функциональных групп, преимущественно анаэробных, в том числе различных метаногенных, сероокисляющих, железоредуцирующих и денитрифицирующих бактерий. Бактериальное разнообразие в вечномёрзлых породах значительно превышает разнообразие архей и грибов; наиболее типичными филумами являются *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Chloroflexi*, *Acidobacteria*. Отдельно стоит отметить, что метагеномные данные, полученные из вечномёрзлых почв и пород, нередко содержат нуклеотидные последовательности ранее не описанных филумов (Jansson et al., 2014).

Нуклеотидные последовательности архей, идентифицированные в вечномёрзлых породах относились к филумам *Euryarchaeota*, *Crenarchaeota* и *Thaumarchaeota*, что свидетельствует о функциональном разнообразии представителей данного домена в подобных экотопах, несмотря на обычно низкую, по сравнению с бактериями, их численность в прокариотных сообществах (Wilhelm et al., 2012).

Анализ тотальной ДНК выявляет, что в микробных сообществах вечномёрзлых экосистем широко распространены гены, связанные с различными процессами круговоротов углерода и азота, в том числе гены, кодирующие хитиназы, целлюбиазы,  $\beta$ -гликозидазы и  $\beta$ -галактозидазы. Также выявлены гены, связанные с процессами эмиссии, трансформации и микробной деградации парниковых газов, таких как  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  и  $\text{N}_2\text{O}$  (Yergeau et al., 2010; Taş et al., 2014).

Филогенетический анализ поверхностных и нижележащих слоев мерзлоты Западной Антарктиды выявил во всех исследованных образцах две доминирующие группы, относящиеся к филумам *Proteobacteria* и *Actinobacteria*. По данным анализа клоновых библиотек общей ДНК из образцов ледового щита центральной Антарктиды, во всех образцах

доминировали бактерии родов *Arthrobacter*, *Nocardioides*, *Bacillus*, *Caulobacter*, *Comamonas*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* и *Sphingobacterium*. Также были выявлены анаэробные денитрифицирующие (2-18 КОЕ/г), метаногенные (2-22 КОЕ/г) и сульфатредуцирующие ( $10^2$ - $10^3$  КОЕ/г) бактерии (Gilichinsky et al., 2007).

Анализ поверхностного грунта Сухих Долин Антарктиды молекулярно-генетическими методами выявляет присутствие в образцах представителей классов  $\gamma$ -*Proteobacteria* (25%),  $\beta$ -*Proteobacteria* (9%) и филумов *Firmicutes*, *Actinobacteria* и *Bacteroidetes*. Из этих же образцов выделены в чистые культуры представители родов *Rhodococcus*, *Methylobacterium*, *Sphingomonas*, *Bacillus* (Goordial et al., 2016). Анализ состава бактериального сообщества верхних горизонтов почв и поверхностных льдов Сухих Долин Мак-Мердо методами количественной ПЦР выявил присутствие в составе сообщества бактерий видов *Achromobacter xylosoxidans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Geobacter toluenoxidans*, *Devosia insulae*, *Azomonas* sp. (Mahaney et al., 2012). Молекулярно-генетические исследования таксономического разнообразия бактерий антарктических почв (Yergeau et al., 2007; Zeng et al., 2013), выявили присутствие представителей родов *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Brevibacterium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Nocardia*, *Flavobacterium*, *Streptomyces*, *Alcaligenes*, *Chromobacterium*, *Aeromonas* и *Planococcus*. Среди жизнеспособных микроорганизмов, выделенных из ледового щита Антарктиды (станция Восток), обнаружены представители различных таксономических групп: неспорообразующие бактерии рода *Pseudomonas*, спорообразующие бактерии рода *Bacillus*, актиномицеты родов *Nocardiopsis*, *Nocardia* и *Streptomyces*, а также дрожжи и мицелиальные грибы. Споробразующие бактерии встречались по всей толще ледника вплоть до глубины более 2000 метров (de Los Ríos et al., 2004; Bulat et al., 2016).

В образцах снега, отобранных в районе антарктических станций Дружная и Ленинградская, методом эпифлуоресцентной микроскопии показано присутствие бактерий в количестве  $10^3$  клеток/мл; 45.8% из них были метаболически активны; культивировались на питательных средах представители родов *Bacillus*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Roseococcus*, *Phyllobacterium*, *Rhodococcus*, *Acinetobacter*, *Comamonas*, *Stenotrophomonas*, *Ochrobastrum*, *Methylobacterium* и *Sphingomonas*, причем представители класса  $\beta$ -*Proteobacteria* доминировали во всех образцах. Способны к формированию макроколоний на питательных средах при 4°C были *Acinetobacter* sp., *Bacillus* sp., *Ochrobastrum* sp., *Pseudomonas* sp., *Rhodococcus* sp. Причем все изоляты были способны к быстрому росту при 37°C, следовательно, имели широкий диапазон температур пригодных для роста (Lopatina et al., 2013).

Исследования оазисов Ларсеманн (станция “Прогресс”) и Холмы Тала (станция “Молодежная”) Восточной Антарктики показали максимальную численность бактерий в верхних органогенных горизонтах на уровне 230-730 млн. клеток в 1 г почвы, причем доля представителей домена *Archaea* составляла не более 20%, в то время как на долю представителей домена *Bacteria* приходилось около 80% от числа всех клеток, выявленных методом флуоресцентной *in situ* гибридизации: численность метаболически активных клеток была на порядок ниже общей численности в образцах (Кудинова и др., 2015). Высокопроизводительное секвенирование тотальной ДНК из ghlb почв оазисов Холмы Ларсеманн и Холмы Бангера выявило преобладание представителей филумов *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Patescibacteria*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia* (Кудинова и др., 2020).

Метагеномный анализ грунтов Сухих Долин Антарктиды показал доминирование представителей филума *Proteobacteria* в микробных комплексах:  $\gamma$ -*Proteobacteria* (25%),  $\beta$ -*Proteobacteria* (9%). Так же были

обнаружены представители филумов *Firmicutes*, *Actinobacteria* и *Bacteroidetes* (представители родов *Burkholderia*, *Ralstonia*, *Sphingomonas*, *Bradyrhizobium*, *Alcanivorax*, *Pelagibacter*, *Gillisia*). Микробные сообщества функционально разнообразны: обнаружены представители родов, способных к брожению (*Clostridia*, *Anaerolineae*), метилотрофии (*Methylobacteria*, *Methylophilus*, *Methylobacillus*), сульфатредукции (*Desulfovibrio*), редукции перхлорат-иона (*Dechloromonas*), серо- и сульфитокисляющие (*Sulfuricella*, *Sulfitobacteria*), нитрит-окисляющие (*Nitrospira*) и фототрофные бактерии (представители филума *Cyanobacteria* и семейства *Rhodobacteraceae*) (Goordial et al., 2016). В антарктической мерзлоте острова Короля Георга прямым методом обнаружена численность прокариот на уровне  $10^7$  клеток/г, из которых метаболически активными (по данным FISH-анализа) являлись  $1 \times 10^6$  клеток/г. Метагеномный анализ выявил в составе микробного комплекса представителей филумов *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia* и *Acidobacteria*, причем метаболически активными являлись представители филумов *Proteobacteria*, *Firmicutes* и *Actinobacteria* (Manucharova et al., 2016).

В составе аэробных гетеротрофных бактериальных сообществ почв высокой Арктики восточного полушария доминируют представители родов *Acetobacterium*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Flavobacterium*, *Methanosarcina*, *Methylobacter*, *Micrococcus*, *Nitrobacter*, *Nitrosomonas*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus* и *Streptomyces*; общая численность культивируемых бактерий составляет порядка  $4 \times 10^7$  КОЕ/г почвы, причем выявлена прямая зависимость между микробным разнообразием и количеством органического вещества в образцах (Wagner et al., 2005).

В образцах почв, отобранных в высокой Канадской Арктике в доминантных позициях выявлены бактерии филума *Firmicutes*, известные своей способностью формировать высокоустойчивые споры, а также бактерии филума *Actinobacteria*, характеризующиеся высокой устойчивостью к

высушиванию (в том числе криогенному) и окислительному стрессу (Steven et al., 2008).

В почвенных образцах полигональной тундры дельты реки Лена выявлено высокое разнообразие бактерий, принадлежащих к филумам *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia* (Steven et al., 2007).

Численность бактерий в «активном слое» арктических почв, лежащем выше многолетней мерзлоты, почти не отличается от их численности в почвах умеренного климата, где она составляет в среднем  $10^4$ - $10^6$  клеток на 1 г почвы и резко уменьшается с глубиной. Люминесцентно-микроскопические исследования почв высокой Канадской Арктики показали низкую численность клеток на уровне  $10^3$ - $10^4$  клеток/г в поверхностном активном слое, в то время как нижележащие вечномерзлые слои характеризовались численностью  $10^5$ - $10^6$  клеток/г. На питательных средах выделены и идентифицированы в культуре представители родов *Arthrobacter*, *Nocardioides*, *Bacillus*, *Caulobacter*, *Comamonas*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* и *Sphingobacterium*. Доминировали в исследованных сообществах протеобактерии (рода *Pseudomonas*) и актинобактерии. В качестве минорных компонент выделены *Nitrospina*, зеленые несерные бактерии, *Fibrobacter*, *Acidobacterium* и представители группы *Flexibacter-Cytophaga-Bacteroides* (Juck et al., 2005).

Одними из наиболее подверженных частым флуктуациям температуры и доступности воды являются поверхности снега, льда и почвенные или минеральные поверхностные горизонты неполярных ледников. В работах разных авторов (Foght et al., 2004; Hallbeck et al., 2009) отмечается численность бактерий в поверхностных слоях льда и снега различных ледников в диапазоне от 0.01 до  $2.7 \times 10^6$  КОЕ/г (КОЕ/мл). Обнаружена численность способных к репродукции клеток от  $<10^2$  до  $10^6$ - $10^7$  КОЕ/г в поверхностных и древних льдах возрастом до 750 000 лет (Christner et al., 2003). Среди выделенных из льдов

изолятов доминируют представители родов *Bacillus*, *Paenibacillus* и *Actinobacterias*, также идентифицированы бактерии родов *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Aureobacterium*, *Cellulomonas*, *Clavibacter*, *Methylobacterium*, *Microbacterium*, *Nocardioides*, *Paenibacillus* и *Sphingomonas* (Yao et al., 2006; Zhang et al., 2007; Miteva et al., 2009)

В составе бактериального сообщества ледника Куйтун (Тянь-Шань) отмечено доминирование представителей филума *Proteobacteria*, в частности, рода *Pseudomonas*, и присутствие в виде минорных компонент грамположительных бактерий представителей филумов *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Deinococcus/Thermus* (Xiang, et al., 2009). Из образцов льда и ледогрунта центральных Альп на территории Австрии были выделены при 25°C бактерии численностью  $10^6$  КОЕ/г; в субальпийских почвах того же горного массива -  $10^7$  КОЕ/г; численность бактерий, способных к росту при температуре 1°C, в этих образцах составляла  $(2.1-8.2) \times 10^6$  КОЕ/г и  $(0.95-2.1) \times 10^6$  КОЕ/г, соответственно. Филогенетически изоляты относились к филумам *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, и *Bacteriodetes* (Margesin et al., 2009).

Из глубинных слоев ледников Гренландского щита были изолированы ультра-мелкие формы бактерий, формирующие пигментированные колонии, сохраняющие на питательных средах ультрамелкие размеры. Идентифицированы эти бактерии как представители филумов *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*: *Microbacterium aurum*, *Arthrobacter globiformis*, *Paenibacillus wynnii*, *Sphingomonas faeni*, *Chryseobacterium proteolyticum*, *Sphingomonas aerolata*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Curtobacterium flaccumfaciens*, *Janthinobacter agaricidamnosum*, *Bacillus mucilaginosus* (Miteva et al., 2005). В ледниках Тибетского плато методами молекулярно-генетического анализа гена 16S рРНК показано присутствие бактерий филумов *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes* и *Bacteroidetes*. На питательных средах изоляты способны к формированию колоний в диапазоне

температур от 5 до 35°C и идентифицированы как *Halomonas boliviensis*, *Bacillus stratosphericus*, *Mycetocola manganoxydans*, *Brevibacterium frigoritolerans*, *Streptomyces scabrisporus*, *Novosphingobium resinovorum*, *Pseudomonas koreensis*, *Cryobacterium arcticum*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Arthrobacter agilis*, *Promicromonospora vindobonensis*, *Mycobacterium vanbaalenii* и *Rhodococcus qingshengii* (Shen et al., 2014).

Таким образом, проведенные исследования показали таксономическое разнообразие прокариотных сообществ почв и пород низкотемпературных аридных экосистем, в качестве доминирующих выступают представители филумов *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Firmicutes*. В сообществах культивируемых бактерий наблюдается схожая филогенетическая структура, показана доля культивируемых бактерий на уровне 0.1-1% от общего числа прокариот. Выявлены *in situ* представители различных экологических групп, что свидетельствует о функциональном разнообразии этих сообществ. В то же время, исследования физиологических особенностей выделенных бактерий малочисленны: как указано выше, в некоторых экспериментах были проведены оценки диапазонов температур, пригодных для роста выделенных организмов, их устойчивости к высушиванию или же дана оценка численности культивируемых бактерий при различных температурах культивирования (Steven et al., 2008; Margesin et al., 2009; Lopatina et al., 2013; Shen et al., 2014).

В заключение следует отметить, что последние исследования холодо-адаптированных организмов и их биомолекул выявили чрезвычайно высокий потенциал психрофилов в биотехнологическом применении. Причем психрофильные или психротолерантные штаммы оказываются более перспективными по сравнению с термофильными ввиду, с одной стороны, их большего биоразнообразия, а с другой стороны, в связи с экономией энергоресурсов при производстве и большей экологической безопасностью (Margesin et al., 2010; Rampelotto, 2016).

## 2.1.2 Жаркие аридные экосистемы

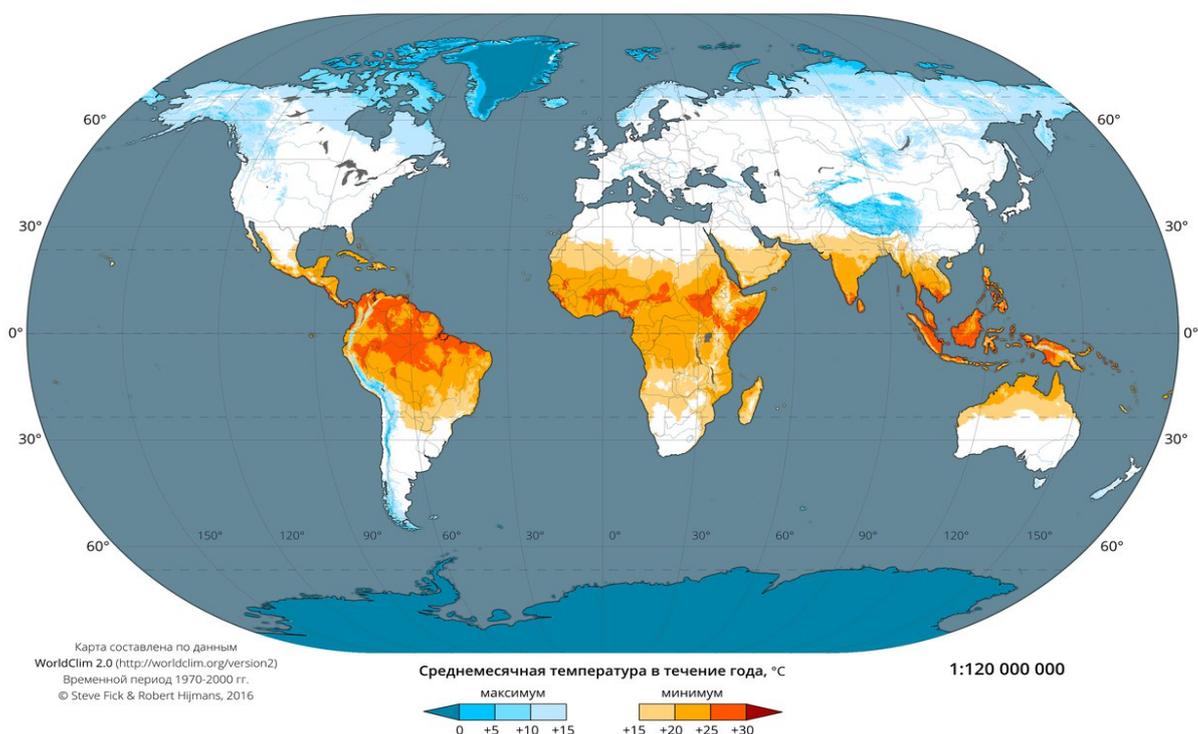
Жаркими аридными экотопами кроме почв и пород экваториальных пустынь, являются также почвы и осадочные породы действующих вулканов, поверхностей, нагреваемых Солнцем, в частности почв и скальных пород горных пустынь и полупустынь (Schwinning et al. 2004). Постоянно жаркие биотопы, в противоположность постоянно холодным, являются относительно редким явлением. В частности, средняя температура 30°C и выше в течение всего года регистрируется исключительно на небольшом участке суши, расположенном в Кении (New et al., 2006).

Из всего многообразия высокотемпературных аридных местообитаний (рис.1) наиболее интересным объектом для изучения являются пустынные почвы и породы, так как они характеризуются сочетанием низкой доступности влаги, значительными флуктуациями температуры, как в течение суток, так и в течение года и нередко накоплением в почвах или породах водорастворимых солей вплоть до высоких концентраций (Makhalanyane et al., 2015).

Всего пустыни занимают более  $16.5 \times 10^6$  км<sup>2</sup> планеты (без учёта площади Антарктиды), что составляет около 11% поверхности суши (Marshak, 2011). Абсолютный максимум температур в пустынях зарегистрирован в пустыне Сахара (Северная Африка) и составляет 59°C; годовые температурные флуктуации в пустынях могут достигать 82°C (Makhalanyane et al., 2015). Ввиду высокого разнообразия пустынь и обширных площадей суши, которые они занимают, микробиологические исследования подобных экосистем охватывают, на сегодняшний день, весьма ограниченный набор пустынь и выполнены с привлечением преимущественно молекулярно-биологических методов анализа (Dion, 2008; Li et al., 2020).

Не возникает сомнений, что микроорганизмы, населяющие эти биотопы, должны иметь специальные механизмы поддержания жизнеспособности в столь непостоянных и агрессивных физико-химических условиях (McHugh et al., 2017). В высокотемпературных местообитаниях активность эукариот

ограничена температурами 45-55°C (Atkinson, 2012), поэтому микробные сообщества этих экосистем, в основном, прокариотные и, по мнению исследователей, являются аналогами сообществ, доминировавших на ранних этапах развития жизни на Земле (Заварзин, 2001).



**Рисунок 1.** Карта-схема природных областей с низкими и высокими среднемесячными температурами. Карта составлена по данным WorldClim 2.0 за временной период 1970-2000 гг.

Верхний температурный предел, при котором возможен рост архей превышает 100°C: *Methanopyrus kandleri* (штамм 116) в лабораторных условиях растет при 122 °C (Takai, 2008), *Pyrodictium occultum*, способны к росту в диапазоне температур от 82 до 110°C с оптимумом при 105°C (Пиневич, 2006). Разнообразие бактерий, способных к репродукции при высоких температурах достаточно велико. Ранее проведенные исследования выявили в грунте пустыни Мохаве (Юго-запад США) большое количество и разнообразие фототрофных прокариот, приуроченных к гиполитным сообществам и способных осуществлять фотосинтез в агрессивных условиях

среды: при температуре 67°C *in situ* и вплоть до более чем 90°C *in vitro* (Schlesinger et al., 2003; Smith et al., 2014).

Метагеномный анализ образцов аридных и семи-аридных почв Мексики и Калифорнии, выявил широкое распространение в жарких аридных экосистемах представителей филумов *Actinobacteria* и *Proteobacteria*, высокая доля которых растет на питательных средах (Makhalanyane et al., 2015). В образцах аридных почв пустыни Атакама (Чили) молекулярно-генетическими методами выявляются в качестве доминант представители филумов *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, и *Verrucomicrobia*, а также метаногенные археи (Costello et al., 2009). Другим исследовательским коллективом аналогичными методами идентифицированы представители порядков *Rubrobacterales*, *Actinomycetales*, *Acidimicrobiales* и *Thermoleophilia*. Отмечается прямая зависимость между микробным разнообразием и влажностью почв (Crits-Christoph et al., 2013).

Почвы пустынь Атакама, Мохаве, Сонора и Негев рассматриваются как астробиологические модели Марсианского грунта (реголита) ввиду низкого содержания органического вещества и степени его трансформации, низкой обогатенности микроорганизмами, в отдельных случаях даже не детектируемой методами амплификации тотальной ДНК, и присутствию в среде окисляющих агентов, способных окислять аминокислоты и сахара (Gómez-Silva et al., 2008). В почвах пустыни Атакама показана численность культивируемых бактерий в окраинных районах на уровне  $10^7$  КОЕ/г почвы, в то время как в экстремально аридных почвах центральной части, их численность снижается от  $10^4$  до менее  $10^2$  КОЕ/г почвы. Таксономически изоляты из почв Атакамы принадлежат к филумам *Actinobacteria* и *Firmicutes* с незначительным участием представителей филума *Proteobacteria*; до рода идентифицированы *Bacillus*, *Sphingomonas*, *Asticcacaulis*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium* и *Afipia*; методами дифференциального градиентного гелевого электрофореза идентифицированы представители семейства

*Gemmatimonadetes*, филумов *Actinobacteria*, *Planctomycetes*, *Thermomicrobia* и *Proteobacteria* (Lester et al., 2007).

Исследования гипераридных почв национального парка Юнгай (Перу) выявили чрезвычайно низкую обогащенность этих почв микроорганизмами: две трети отобранных образцов не содержали культивируемых гетеротрофных бактерий. Численность культивируемых бактерий составляло менее  $10^3$  КОЕ/г почвы, лишь отдельные наиболее удаленные от пустынных зон образцы почв содержали гетеротрофные бактерии в количестве  $10^5$  КОЕ/г почвы. Изолированные бактерии преимущественно принадлежали к филуму *Actinobacteria*, в частности, к семейству *Geodermatophilaceae*. В культуре идентифицированы *Sphingomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Brevibacillus*, *Kocuria*, *Cellulomonas* и *Hymenobacter* (Navarro-Gonzalez et al., 2009).

Исследования тотальной ДНК в грунтах пустыни Мохаве, рассматривающейся в качестве одного из земных аналогов марсианского реголита, выявили 31 уникальный фрагмент гена 16S рРНК, 26 из которых идентифицировались как цианобактерии родов *Chroococcidiopsis*, *Microcoleus* и *Scytonema* (Schlesinger et al., 2003). Обнаружение этих микроорганизмов интересно как с позиций возможности протекания бактериального фотосинтеза в чрезвычайно жарких условиях, так и с позиций более полного понимания структуры микробных комплексов пустынь, источников в них первичного органического вещества и его дальнейшей трансформации в гетеротрофных бактериальных сообществах.

В образцах почв, отобранных в пустыне Сонора методами сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии, а также культуральными методами показано участие грибов в процессе появления пустынного загара минералов. На сегодняшний день этот процесс связывают в том числе с деятельностью марганец-окисляющих бактерий и, в связи с этим, проводятся исследования бактериальных комплексов, обнаруженных на поверхности скальных пород в пустынях, подвергающихся воздействию экстремальных

температур и высокого уровня солнечной радиации. В частности, показано преобладание грамположительных бактерий на поверхности «загорающих» скал в пустынях Сонора и Мохаве (Schelble et al., 2005).

В связи с активным проявлением процессов опустынивания на больших площадях в последние десятилетия, особое внимание уделяется эмиссии CO<sub>2</sub> и оксидов азота из почв и изучению динамики этих процессов. Показана низкая интенсивность эмиссии CO<sub>2</sub> *in situ* и лимитирование развития прокариот в пустынных условиях по доступности углерода (Nguyen et al., 2011); также лимитированы по углероду и влажности процессы азотфиксации (Billings et al., 2002).

Молекулярно-генетическими методами анализировались поверхностные слои почв в Сахаре и пыль этой пустыни, разносимая по Европе и оседающая, в частности, в Альпах. Обнаружены представители филумов *Gemmatimonadetes*, *Deinococcus-Thermus*, *Bacteroidetes* и *Chloroflexi*; в доминантных позициях были выявлены *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Firmicutes*, в отдельных образцах обнаруживали представителей *Acidobacteria* и *Cyanobacteria*, во всех образцах минорные компоненты представлены *Elusimicrobia* и *Planctomycetes*.  $\beta$ -*Proteobacteria* представлены родами *Variovorax*, *Polaromonas*, *Delftia*, *Janthinobacterium*, семейством *Oxalobacteraceae*;  $\gamma$ -*Proteobacteria* - в первую очередь, представители рода *Pseudomonas*;  $\alpha$ -*Proteobacteria* - род *Sphingomonas*; *Actinobacteria* - *Salinibacterium*, *Micrococcaceae*, *Microbacteriaceae*; *Firmicutes* - *Bacilli*, *Staphylococcus* (Meola et al., 2015).

Почва пустыни Сонора использовалась в модельном эксперименте по влиянию ионизирующего излучения на микробные сообщества (Rainey et al., 2005). Было произведено облучение почвенных образцов гамма-излучением дозами вплоть до 30 кГр. В необлученных почвах численность аэробных гетеротрофных бактерий составляла от  $5.5 \times 10^6$  до  $1.3 \times 10^7$  КОЕ/г в зависимости от типа питательной среды. В посевах из облученных образцов доминировали

пигментированные (в желтый, розовый и красный цвета) колонии, в то время как в необлученных образцах они составляли малую часть. После облучения дозой 17 кГр численность культивируемых бактерий составляла порядка  $6.6 \times 10^6$  КОЕ/г, после дозы 30 кГр - порядка  $4.4 \times 10^2$  КОЕ/г. Из облученных образцов выделялись представители родов *Deinococcus*, *Geodermatophilus* и *Hymenobacter* (Rainey et al., 2005). Авторы выдвигают гипотезу, что устойчивый к ионизирующему излучению фенотип обладает мощной системой репарации ДНК, которая возникает в эволюционном отборе экстремальных экотопов в ответ на внешние стрессовые физико-химические воздействия, в частности, высушивание, вызывающие в клетках окислительный стресс (Lushchak et al., 2011). Из облученных почв получены радиорезистентные представители родов *Deinococcus*, *Acinetobacter*, *Chroococcidiopsis*, *Hymenobacter*, *Kineococcus*, *Kocuria*, и *Methylobacterium*. Гипертермофильные эвриархеоты родов *Thermococcus* и *Pyrococcus* также проявили радиорезистентные свойства. Обнаруженные авторами новые виды рода *Deinococcus* способны к активному метаболизму в диапазоне от 10°C до 45°C, что свидетельствует о потенциальной высокой физиологической мобильности.

Исследования молекулярных механизмов выживания микроорганизмов в различных экстремальных условиях (в частности, в высокотемпературных условиях) выявили высокий биотехнологический потенциал термотолерантных штаммов бактерий. Показано, что бактерии, приспособившиеся к выживанию в поверхностном грунте пустыни Атакама обладают множественными уникальными молекулярными стратегиями защиты от абиотического стресса (в частности высушивания) и являются новым источником ценных метаболитов, генов и генных кластеров для биотехнологического применения (Bergquist et al., 2014). Разработаны технологии биологического выщелачивания меди и других промышленно значимых металлов с использованием штаммов, изолированных из жарких пустынных экосистем, известны продуценты новых антибиотиков,

выделенные из грунта пустыни Атакама, относящиеся к видам *Streptomyces* spp., *Bacillus subtilis*, *Bacillus brevis*, *Bacillus cereus* и *Micrococcus caseolyticus*. Разработан микробный препарат для биоремедиации ртутных загрязнений на основе бактериального сообщества, выделенного из грунта этой пустыни (Azua-Bustos et al., 2014).

Подводя краткий итог можно отметить, что таксономическое разнообразие прокариот, существующих в условиях жаркого аридного климата, в целом схоже с наблюдаемым в низкотемпературных аридных экотопах: доминирующими филумами домена *Bacteria* являются *Actinobacteria*, *Proteobacteria* и *Firmicutes*, с преимущественным доминированием *Actinobacteria* (в то время как в низкотемпературных условиях доминируют чаще всего представители филума *Proteobacteria*), доля культивируемых бактерий так же составляет около 0.1 – 1%. Проведенная оценка физиологических особенностей свидетельствует об устойчивости отдельных выделенных штаммов к окислительному стрессу и воздействию ионизирующего излучения *in situ*, показано распространение пигментированных форм культивируемых бактерий и наличие сегмента сообщества устойчивого к ионизирующему излучению и окислительному стрессу.

### **2.1.3 Экосистемы с высокой концентрацией водорастворимых солей**

Как уже отмечалось ранее, во многих аридных и семи-аридных почвах и породах происходит накопление водорастворимых соединений, в первую очередь солей, которые снижают доступность воды для микробных клеток, что приводит к осмотическому стрессу. Различные изменения в концентрации и составе растворенных веществ, в растворах, где существуют клетки, могут приводить к значительным физиологическим эффектам, среди которых снижение доступности воды для бактериальных клеток (Пиневиц, 2006).

Экстремальными для прокариот являются условия существования в растворах, где концентрация растворенных веществ превышает

внутриклеточные значения. Почвенные бактерии, закрепленные на твердом носителе в виде минеральных зерен или почвенных агрегатов или находящиеся в почвенном растворе, существуют в условиях с высокими концентрациями растворенных веществ и, следовательно, подвергаются разной степени дефициту воды *in situ* (Redman, 2004). В жарких аридных экосистемах повышение концентраций водорастворимых веществ в почвах и породах происходит за счет перемещения растворов к поверхности почв и пород и испарению воды, а также перемещению вод соленых озер и кристаллов солей с ветром (Boutaïba et al., 2011), в холодных аридных почвах и толщах ледников наблюдается формирование незамерзающих солевых растворов и линз, а также повышение концентрации растворенных веществ в почвенном растворе при кристаллизации воды (Gilichinsky et al., 2005; Oren, 2008; Jansson et al., 2014; Ward et al., 2018).

Экстремально засоленные экотопы на Земном шаре представлены солеными озерами, солончаками и засоленными почвами, месторождениями водорастворимых минералов и поровыми растворами вечномерзлых пород (Jansson, et al., 2014), где концентрация разнообразных солей достигает вплоть до состояния насыщенных растворов; нередко эти экотопы формируются в аридных климатических условиях (Manefield et al., 2017). Значительную часть обнаруженных в различных соленых озерах микроорганизмов составляют представители рода *Bacillus* (Margesin, 2001). Почвенные галофильные и галотолерантные бактерии характеризуются высоким биоразнообразием: Выделенные из засоленных почв Испании, содержащих хлорид натрия в концентрациях от 5.0 до 10.7%, галофильные бактерии имели оптимум роста при содержании хлорида натрия от 5 до 15% и многие из них способны к репродукции при содержании соли 0.9%. Большинство изолятов представляли собой грамотрицательные палочки (46.6%), идентифицированные как представители родов *Pseudomonas* (22%), *Alcaligenes* (11%), *Vibrio* (3%), *Flavobacterium* (3%) и *Acinetobacter* (1%). Грамположительные палочки и кокки, составлявшие 35.9% и 17.5% от всех культивируемых бактерий

соответственно были идентифицированы как представители родов *Bacillus* (19%), *Micrococcus* (8%), *Arthrobacter* (6%), *Planococcus* (5%), *Staphylococcus* (3%), *Corynebacterium* (2%), *Brevibacterium* (1%), *Nocardia* (1%) и *Actinomyces* (1%) (Ventosa, 2008).

Экстремально галофильные прокариоты в почве представлены чаще всего представителями рода *Halobacterium* (домен *Archaea*). Экстремально галотолерантные бактерии, относящиеся к виду *Micrococcus halobius* были изолированы из засоленных почв разных регионов Антарктиды (Liu et al., 2000; Robertson et al., 2005). Молекулярно-генетическими и классическими микробиологическими методами было проанализировано микробное разнообразие и численность в гиперсоленом озере Чака (Chaka) в северо-западном Китае. Численность прокариот в осадках исследуемого озера составляла  $10^8$  клеток/г на границе осадок – водная толща и  $10^7$  клеток/г на глубине 42 см. Изоляты из этих осадков проявляли галотолерантные свойства с оптимумом роста при 5% NaCl и ниже и принадлежали к филуму *Firmicutes* (Jiang et al., 2006).

Большинство галофильных и галотолерантных микроорганизмов выделены из солончаков и засоленных почв и являются гетеротрофными прокариотами. Среди автотрофных прокариот, галофильные виды обнаружены среди представителей семейства *Halobacteriaceae* филума *Euryarchaeota*. Эти организмы имеют потребность в присутствии хлорида натрия в концентрации не менее 9% и проявляют оптимальный рост на средах с содержанием NaCl 20-25% (Grant et al., 1998). На сегодняшний день галоархеи представлены более чем 60 видами, объединенными в 22 рода; некоторые галоархеи - автотрофные организмы, способные уникальному аноксигенному бактериородопсиновому фотосинтезу (Ventosa, 2006).

Наиболее часто из почв выделяются галотолерантные и галофильные бактерии родов *Halobacillus*, *Filobacillus*, *Tenuibacillus*, *Lentibacillus* и *Thalassobacillus*, умеренные галофилы встречаются среди представителей

рода *Nocardiopsis*: *Nocardiopsis halophila*, *Nocardiopsis halotolerans* (Al-Zarban et al., 2002), *Nocardiopsis xinjiangensis* (Li et al., 2003), *Nocardiopsis salina* (Li et al., 2004), *Nocardiopsi sgilva*, *Nocardiopsis rosea*, *Nocardiopsis rhodophaea*, *Nocardiopsis chromatogenes* и *Nocardiopsis baichengensis* (Li et al., 2006).

Выделенные из почв грамотрицательные галофильные и галотолерантные бактерии относятся к семейству *Halomonadaceae* (класс  $\gamma$ -*Proteobacteria*); экстремально-галофильные свойства проявляют представители родов *Halomonas*, *Chromohalobacter*, *Cobetia*, *Zymobacter* и *Carnimonas* (Arahal et al., 2005; 2009).

В образцах грунта и соли, отобранных вблизи Мертвого моря, обнаружены культивируемые умеренно-галофильные бактерии видов *Vibri ocosticola*, *Micrococcus halobius*, *Paracoccus halodenitrificans*, *Flavobacterium halmephilum*, *Planococcus halophilus*, и *Spirochaeta halophila*. У большинства изолятов оптимальный рост наблюдался в присутствии 10% хлорида натрия (по численности КОЕ при посеве исследуемых образцов на среды с разным содержанием солей), отдельные виды способны репродуцировать на средах с концентрацией солей 25% (Лысак и др., 1994; Oren et al., 2002).

Бактериальные сообщества береговой линии соленых озер Австралии были изучены методом амплификации гена 16S рРНК из тотальной ДНК. Были выявлены представители 21 филума, среди которых *Cyanobacteria*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Firmicutes* были наиболее представленными филумами во всех исследованных образцах. Идентифицированы представители родов *Azospirillum*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Defluviicoccus*, *Delftia*, *Magnetospirillum*, *Microvirga*, *Patulibacter*, *Pseudomonas*, *Rhodovibrio*, *Roseomonas*, *Rubellimicrobium*, *Rubrobacter*, *Skermanella*, *Staphylococcus* и *Thermoleophilum*. В отдельных образцах обнаружены бактерии филумов *Bacteroidetes*, *Deinococcus/Thermus*, *Sphingobacteria*, *Planctomycetes*, *Chloroflexi* и *Gemmatimonadetes* (Abed et al., 2012).

Из различных почвенных образцов выделены бактерии, способные к репродукции на средах, содержащих 1.75 М (10%) NaCl, относящиеся к родам *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Planococcus*, *Zhihengliuella*, *Exiguobacterium*, *Halomonas*, *Oceanimonas*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter* и *Micrococcus* (Siddiquee et al., 2010).

Исследования грунтов пустыни Атакама (Чили) выявили галотолерантных представителей родов *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Marinomonas* и *Alteromonas* (Moreno et al., 2012). Много штаммов умеренно-галофильных бактерий, принадлежащих к родам *Halomonas*, *Flavobacterium* и *Cytophaga*, было изолировано из пород Сухих Долин Антарктиды; эти бактерии были способны к росту в диапазоне 0.5-20% NaCl и при температурах от 0 до 5°C (Cary et al., 2010). Исследования образцов из пустыни Негев (Израиль) выявили высокую активность процессов нитрификации в экстремально засушливых засоленных, в том числе нитратами, почвах; ответственны за этот процесс бактерии родов *Nitrosospira* и *Nitrosomonas* (Nejidat et al., 2005).

В исследовании алкалогалотолерантных полиэкстремофилов, проведенном Mesbah с соавторами (Mesbah et al., 2009), обнаружены галофильные алкалотермофилы, относящиеся к филуму *Firmicutes*. В частности, изолят *Bacillus* sp. BG-11, выделенный из высокотемпературных грунтов Индии, способен к росту при температуре выше 55°C, содержании NaCl выше 1.5 М, и pH в диапазоне 7.5-9.5. *Desulfobacter halotolerans*, выделенный из осадков Великого соленого озера в штате Юта (США) способен к репродукции при концентрации NaCl более 130 г/л. Обнаружены ДНК-маркеры этого вида в водах, содержащих 475 г/л соли (Foti et al., 2007).

Особый интерес представляет устойчивость прокариот к присутствию других солей помимо хлорида натрия. Имеются данные о наличии в реголите Марса сульфата магния, перхлората натрия и других водорастворимых солей (Vaniman, 2004; Navarro-González et al., 2010). В частности, для оценки потенциальной обитаемости инопланетных тел, а также для изучения их

физиологических эффектов на микробные клетки проводят исследования устойчивости бактерий в присутствии различных солей: обнаружены несколько видов галофильных архей, выделенных из Мертвого моря, способных к росту на среде, содержащей 9.5%  $MgCl_2$  (van der Wielen, 2005), показана устойчивость почвенных микробных сообществ *in situ* в присутствии перхлората натрия в концентрации 5% (Cheptsov et al., 2020), а также устойчивость *Sphingomonas desiccabilis* в солевых растворах, имитирующих марсианские временные водотоки.

Пределными для прокариот концентрациями перхлората натрия, при которых возможен рост *in vitro*, являются 0.8 М (9.8% масса/объем) для архей (*Halorubrum lacus profundum*) и 1.1 М (13.6%) для бактерий (*Planococcus halocryophilus*) (Heinz et al., 2020).

## **2.2 Физиологические механизмы адаптации прокариот к низкой доступности воды**

Считается, что функциональные границы биосферы по активности воды ( $a_w$ , равной отношению давления паров воды над исследуемым раствором к давлению паров воды над чистой водой) составляют от 1 до примерно 0.60. Большинство микроорганизмов развиваются в диапазоне  $a_w$  от 1 до 0.90 (Grant, 2004). Для почвенных микробных сообществ есть сведения о метаболической активности при  $a_w$  равной 0.89 (Moyano et al., 2013; Stevenson et al., 2014). Нижнее значение активности воды, при котором сохраняется репродуктивная активность клеток микроорганизмов, составляет около 0.605: в этих условиях развиваются ксеротолерантные микроскопические грибы вида *Xeromyces bisporus* (Stevenson et al., 2015). В то же время, разнообразие ксеротолерантных бактерий изучено слабо (Lebre et al., 2017). Имеются данные о репродуктивной активности представителей родов *Streptomyces* в условиях активности воды равной 0.5 (Zvyagintsev et al., 2009; Zvyagintsev et al., 2012). В то же время, опубликованы исследования, свидетельствующие о невозможности

репродукции данных видов в условиях активности воды ниже  $a_w$  равной 0.895 (Stevenson et al., 2014). Серия ранее проведенных исследований была сконцентрирована на выделении организмов, существующих в экосистемах с пониженными значениями активности воды, в которых, в частности, было показано, что микобактерии, выделенные из засушливых почв способны развиваться вплоть до активности воды 0.80, обусловленной добавлением солей в питательные среды, причем, наблюдается изменение жирнокислотного состава мембран, что свидетельствует об активных физиологических процессах адаптации (Santos et al., 2015). Среди представителей филума *Actinobacteria* известен чрезвычайно ксеротолерантный род *Geodermatophilus* (наиболее засухоустойчивые представители *G. arenarius* и *G. siccatus*), представители которого накапливают в клетках осмопротекторные соединения (трегалоза, глицерин) при высушивании; большинство представителей были выделены из жарких аридных пустынь, в частности, Сахары, Негев, Мохаве, Тар (Добровольская и др., 1993; Kurarova et al., 2012; Harwani, 2013; Montero-Calasanz et al., 2013).

Существуя в условиях дефицита воды, бактерии, адаптированные к сохранению метаболической активности, вынуждены расходовать большее количество энергии для обеспечения клетки необходимым количеством воды, в то время как неадаптированные к метаболизму в данных условиях бактерии переходят в состояние гидробиозиса, при котором клетки большинства бактерий метаболически не активны, но жизнеспособны; точкой гидробиозиса считается значение  $a_w$  равное 0.88 (Connon et al., 2007).

Одним из механизмов, обуславливающих сохранение жизнеспособности прокариот в условиях дефицита влаги, является их способность к формированию спор и покоящихся форм, характеризующихся низким содержанием воды в цитоплазме, которые способны к возвращению в метаболически активное состояние после различных стрессовых воздействий, в том числе после экстремального высушивания, воздействия высоких доз ультрафиолетового облучения, высокого давления и контрастных температур,

в том числе в при длительном воздействии указанных факторов (Rittershaus et al., 2013; Setlow, 2014). В таком виде многие прокариоты способны переживать особо засушливые или стрессовые периоды.

Другим механизмом, способствующим сохранению метаболической активности прокариот *in situ* в условиях дефицита воды, является формирование биопленок, в которых в толще внеклеточного полисахаридного матрикса существует сообщество. Показано, что микробные сообщества засушливых экосистем чаще всего существуют именно в виде биопленок (Gómez-Silva et al., 2008; Wierzchos et al., 2012; Pointing et al., 2012; Steven et al., 2013). В биопленках экзополисахариды выступают в качестве внешних ксеропротекторных соединений и в качестве среды для обмена метаболитами, что способствует повышению устойчивости микробного сообщества к засухе и другим стрессовым воздействиям (Lebre et al., 2017).

Накопление осмопротекторных соединений является важным механизмом, способствующим выживанию бактерий в условиях низкой доступности воды. Для ксеротолерантных бактерий показано накопление ионов калия и глутаминовой кислоты в ответ на осмотрический стресс, сменяющиеся затем накоплением (или синтезом *de novo*) в цитоплазме трегалозы, глицина и/или бетаина. Эти вещества выступают в роли осмопротекторов у различных в таксономическом отношении прокариот и способствуют стабилизации мембраны, сохранению текучести цитоплазмы и сохранению конформации и активности клеточных белков (Santos et al. 2002; Oren, 2008).

Метагеномные исследования функциональных генов микробных сообществ, существующих в условиях дефицита влаги, показали широкое распространение в них генов, ответственных за синтез осмопротекторных соединений, свойственных представителям филумов *Actinobacteria* и *Proteobacteria*, которые, как отмечалось ранее, являются доминирующими в микробных сообществах аридных экосистем (Varin et al., 2012; Phuong et al., 2016; Le et al., 2016).

Показано изменение интенсивности метаболических процессов в условиях дефицита воды, в частности, преобладание катаболических процессов, приводящих к накоплению АТФ, а также активизация анаболических процессов синтеза протекторных белков, так называемых белков позднего эмбриогенеза (LEA-белки), белков-шаперонов и ферментов окислительного стресса которые способствуют стабилизации жизненно важных ферментативных систем и нуклеиновых кислот в бактериальной клетке при высушивании, а также участвуют в разрушении соединений окислителей (Grant, 2004; Bhaganna et al., 2010; Lebre et al., 2017). В то же время, показано протекание аналогичных биохимических изменений в клетках в ответ на другие стрессовые воздействия, что свидетельствует о некотором единстве внутриклеточных механизмов адаптации к различным экстремальным воздействиям (Azua-Bustos et al., 2012; Świącilo et al., 2013).

Также, в условиях дефицита доступной воды иссушение приводит к повреждениям ДНК и развитию физиологических механизмов ее репарации, обуславливающих, в том числе, устойчивость к ультрафиолетовому излучению и ионизирующей радиации (Makarova et al., 2001). Все это добавляет астробиологическую значимость изучению влияния активности воды на прокариотные сообщества как модели изучения потенциальной жизнеспособности земных микробных сообществ в инопланетных условиях (в частности, Марса) и в условиях открытого космоса (Neilson et al., 2012; Stevenson et al., 2014 ; Stevenson et al., 2015).

Опубликована серия работ, свидетельствующих о взаимосвязи механизмов устойчивости микроорганизмов к пониженной температуре и низкой доступности влаги (Gunde-Cimerman et al., 2003), а также между устойчивостью к ионизирующему излучению, УФ-радиации и присутствию высоких концентраций водорастворимых солей и соединений окислителей (Shukla et al., 2007). Развитие представлений об устойчивости бактерий к высушиванию может внести ценный вклад в накопленные данные о множественной устойчивости прокариот и улучшить понимание

внутриклеточных механизмов стресс-толерантности и защиты клетки от неблагоприятных внешних условий.

Действие высоких концентраций растворенных веществ на микроорганизмы может быть обусловлено самим растворенным веществом или его влиянием на активность воды  $a_w$ . Различия в концентрациях растворенных веществ в цитоплазме и окружающей клетку среде влияет как на транспорт растворенных ионов, так и на транспорт воды через мембрану. Основные механизмы, обеспечивающие функционирование клеток в условиях низкой активности воды мы рассмотрели выше.

Высказана гипотеза, что способность существовать в растворах с высокой концентрацией растворенных веществ обусловлена специфическим строением клеточной стенки, предотвращающей лизис клеток в результате высокого осмотического давления, возникающего внутри этих клеток (Oren, et al., 2002).

Для компенсации осмотических сил клетки синтезируют специфические вещества-осмопротекторы, препятствующие нарушению транспорта веществ и повреждению клетки (Нетрусов и др., 2009). В частности, показано ингибирование ферментов высокими концентрациями NaCl, однако, эквивалентные концентрации глицерина, играющего роль внутриклеточного осмопротектора, не оказывают ингибирующего действия (Gouffi, 2000). Рибосомы *E. coli* подвергаются агрегации в 0.5 М растворе NaCl *in vitro*, тогда как клетки сохраняют метаболическую активность в этих условиях, что свидетельствует об иной концентрации ионов натрия в цитоплазме или о наличии дополнительных, пока не известных факторов стабилизации рибосом (Graziano et al., 2014). Показаны структурные изменения ДНК-зависимой РНК-полимеразы и рибосом галотолерантных штаммов *Bacillus cereus*, обуславливающих, кроме того, устойчивость этой бактерии к тяжелым металлам и некоторым антибиотикам (Singh et al., 2010).

К наиболее изученным солям в отношении их действия на ферменты экстремально галофильных бактерий относятся NaCl и KCl — главные соли, находящиеся соответственно вне и внутри клеток этих бактерий. Многие ферменты в присутствии KCl обнаруживают значительно более высокую активность, чем в присутствии NaCl, показано наличие специфических Na, K и Na-K мембранных помп, энергозависимо поддерживающих стабильные внутриклеточные концентрации этих ионов.

В присутствии высоких концентраций солей изменяются гидрофильно-гидрофобные взаимодействия в молекуле полипептидов что приводит к денатурации белков негалофильных прокариот. Липиды и клеточные покровы экстремально галофильных бактерий отличаются от таковых у негалофильных бактерий, однако, данные об их свойствах до сих пор весьма противоречивы и не высказано гипотезы об их осмопротекторных функциях (Ramadoss et al., 2013). Таким образом, дефицит доступной воды для прокариот может быть обусловлен двумя типами стресса: матричным – дефицит воды в окружающей клетку среде, и осмотическим – высокие концентрации растворов, окружающих клетку. В почвах аридных экотопов складываются условия как матричного, так и осмотического типов стресса; следовательно, прокариотные сообщества, населяющие почвы этих природных сред, вынуждены адаптироваться к ним.

### **2.3 Физиологические механизмы адаптации прокариот к температуре окружающей среды**

Низкие температуры оказывают множественное воздействие на состояние клетки и протекающие в ней процессы. Температура влияет на активность микроорганизмов как прямо, посредством влияния на скорость роста, ферментативную активность и состояние клетки, потребности в питании, так и косвенно, влияя на растворимость различных веществ, диффузию, осмотические потенциалы и другие процессы клеточного транспорта веществ, а также оказывает влияние на поверхностное натяжение и плотность мембран

(Price et al., 2004). В то же время, при низких температурах окружающей среды возрастает растворимость газов, в том числе кислорода, что способствует росту аэробных бактерий.

Адаптации клетки к пониженным температурам включают множество физиологических перестроек, среди которых необходимо отметить возрастание доли ненасыщенных жирных кислот в мембранах и ингибирование процессов синтеза ДНК, РНК и белка. Кроме способности к эффективному росту при низких температурах, психроактивные штаммы демонстрируют холодозависимый синтез ферментов, что иллюстрирует специфическую физиологическую адаптацию к низкотемпературным условиям (Gerday et al., 2000). Понижение температуры оказывает воздействие на физические свойства мембран, в первую очередь наблюдается снижение их проницаемости вплоть до прекращения функционирования. Бактерии, способные к росту при низких температурах, характеризуются высокой долей ненасыщенных разветвленных жирных кислот, отличающихся более низкой температурой замерзания, по сравнению с мезофильными организмами (Chintalapati et al., 2004).

При низких температурах окружающей среды уменьшается конформационная мобильность ферментов и возрастает вероятность их холодной денатурации; клеточные мембраны уменьшают свою текучесть, что нарушает процессы транспорта питательных веществ и продуктов метаболизма. В то же время, нуклеиновые кислоты, наоборот, увеличивают свою устойчивость при низких температурах окружающей среды, что приводит к ингибированию процессов репликации, транскрипции и трансляции (D'Amico et al., 2006). Для выживания при температурах ниже нуля градусов бактерии выработали ряд адаптаций, среди которых способность к переходу в состояние метаболического покоя, выработка веществ криопротекторов, увеличение доли ненасыщенных разветвленных жирных кислот в мембранах и накопление в клетке запасных питательных веществ в

виде гликогена, полигидроксоалканов, полифосфатов, триглицеридов и воскоподобных эфиров (Jansson et al., 2014).

У мезофильных организмов при резких перепадах температуры окружающей среды *in vitro* показано образование специфических стрессовых белков, называемых белками теплового шока (Heat-shock proteins, HSPs) и белками холодного шока (Cold-shock proteins, CSPs), участвующих в процессах транскрипции, трансляции, формировании вторичной и третичной структур белка, регуляции проницаемости мембраны, то есть обеспечивающих адаптацию клетки к стрессовым условиям. Эти же стрессовые белки были обнаружены и у психрофилов. Например, многие CSP-белки мезофилов имеются и у психрофилов и обеспечивают адаптацию к низким температурам, однако имеют куда более низкий порог начала активности (Phadtare, 2004).

Показано возрастание активности некоторых ферментов (в частности, липолитических и протеолитических) и степени пигментации бактерий при низкотемпературном культивировании. В частности, *Streptococcus thermophilus* формирует красноокрашенные колонии при температуре 25°C, в то время как при 37°C продукции красного пигмента не наблюдается (Hårdeman et al., 2007).

Любые процессы, обеспечивающие жизнь клетки – это химические процессы, которые с понижением температуры должны протекать медленнее вплоть до момента кристаллизации среды. Практическая сложность при определении факторов, определяющих минимальную температуру роста, состоит в том, что несколько жизненно важных процессов прекращаются, по-видимому, одновременно (Нетрусов и др., 2009).

Если в случае пониженных температур происходит снижение или полная потеря активности макромолекул, то в случае повышенных температур, в первую очередь, происходит их разрушение и, следовательно, механизмом

выживания при повышенных температурах должны быть меры, направленные на стабилизацию жизненно важных макромолекул (Subramanian et al., 2011).

Другой механизм, вероятно, обуславливающий способность существования при повышенных температурах – быстрый ресинтез важнейших макромолекул (Berezovsky et al., 2005). Помимо этого, структурные изменения, свойственные термофилам, происходят с липидами: наблюдается возрастание содержания насыщенных и разветвленных жирных кислот, чаще всего с числом углеродных атомов 17, 18 и 19, что приводит к образованию более устойчивой клеточной мембраны (Нетрусов и др., 2004). Было показано, что одним из главных факторов, определяющих способность клетки развиваться при высоких температурах, является термостабильность ДНК-зависимой РНК-полимеразы, которая у мезофильных прокариот очень быстро инактивируется, в то время как у термофильных прокариот обнаружены специфические термостабильные эквиваленты этого фермента (Kulbachinskiy et al., 2004).

Показано возрастание содержания HSP-белков в клетке в ответ на повышение температуры культивирования. Транскрипция этих белков регулируется специфическими РНК, называемыми факторами теплового шока (heat-shock factors, HSFs). На сегодняшний день уже известно несколько классов белков теплового шока, все они отвечают за репарацию повреждений клеточных структур, возникающих из-за повышения температуры окружающей среды. Примечательно возрастание в клетке количества некоторых белков теплового шока при других стрессовых воздействиях, в частности при облучении ультрафиолетовыми лучами, высушивании и др. (Kregel, 2002).

Таким образом, можно заключить, что аридные экотопы являются экстремальными для обитания микроорганизмов, так как в них одновременно сочетаются дефицит влаги, контрастный температурный режим и как следствие, контрастные изменения физико-химических параметров среды, а

также ограниченная доступность питательных веществ (Tobler, 2008). Все эти воздействия приводят к формированию специфических прокариотных сообществ, обладающих множеством механизмов, позволяющих им сохранять жизнеспособность или метаболическую активность в агрессивных условиях окружающей среды. В ранее проведенных работах показаны сложная структура прокариотных сообществ *in situ*, доминирование представителей филумов *Actinobacteria* и *Proteobacteria*, в том числе и в культивируемых сообществах. В составе сообществ выявлены представители ранее не описанных таксонов бактерий (как культивируемые, так и не культивируемые). Показано наличие широкого спектра функциональных генов и организмов разных экологических групп, что свидетельствует о функциональном разнообразии сообществ. Однако, несмотря на проведенные исследования микробных сообществ экстремальных природных местообитаний и механизмов устойчивости населяющих их микроорганизмов, до сих пор остаются экстремальные экотопы, малоизученные с микробиологической точки зрения: остается не до конца изученным биоразнообразие прокариотных сообществ, существующих в аридных экосистемах, и физиологические особенности, способствующие их выживанию и сохранению метаболической активности *in situ* (Dion, 2008; Makhalanyane et al., 2015; Strazzulli et al., 2017; Sayed et al., 2020).

Приведенные данные убеждают в широком распространении и разнообразии экстремальных экосистем и населяющих их организмов. В то же время не много данных имеется о физиологических особенностях бактерий, населяющих эти экстремальные среды и пределах сохранения их метаболической активности при различных стрессовых нагрузках, что обуславливает необходимость дальнейших исследований.

### **3. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

#### **3.1. Описание исследованных образцов**

Объектами исследования выступали прокариотные сообщества образцов почв и осадочных пород, отобранных из различных биоклиматических регионов Земли, которые характеризуются аридными условиями для жизни населяющих их организмов.

##### **1) Мерзлые осадочные породы, отобранные в различных районах Антарктиды**

Антарктические образцы были отобраны Д.А. Гиличинским и представлены древней мерзлой осадочной породой (образец А-6/99), которая была отобрана из скважины 6/99, пробуренной в равнинном районе долины Бикона (76.166667S, 160.6 E на высоте 1270 м над уровнем моря), с глубины 1.3–1.5 м; возраст пород составляет не более 70 тыс. лет (неопубликованные данные Геологической службы Канады); и древней мерзлой осадочной породой (образец Но-3), отобранной из скважины, расположенной в Сухих Долинах Антарктиды в устье долины Тейлора (77.583333S, 163.4E на высоте 50 м над уровнем моря), с глубины 1.2-1.5 м. Более подробно образцы описаны в работах Д.А. Гиличинского и В.С. Чепцова (Gilichinsky et al., 2007, Cheptsov et al., 2018).

##### **2) Мерзлая поверхностная осадочная порода острова Комсомолец архипелага Северная Земля**

Образец мерзлой песчаной осадочной породы был отобран с глубины 1 – 5 см (образец Sz) на западной оконечности острова близ пролива Юный (80.316667N, 92.083333E); возраст породы составляет не более 10 тыс. лет (неопубликованные данные Института Географии РАН). Климат морской арктический. Средняя многолетняя температура  $-14^{\circ}\text{C}$ . Зимой температура может опускаться до  $-47^{\circ}\text{C}$  с частыми ветрами до 40 м/с. Летом температура поднимается до  $5 - 6^{\circ}\text{C}$ ; средняя температура января составляет  $-28^{\circ}\text{C}$ , июля -

2°C. За год выпадает от до 500 мм осадков. На глубине 15 см находится многолетняя мерзлота (Горячкин и др., 2008).

### **3) Мерзлые породы архипелага Новая Земля**

Образцы морены и льда были отобраны на северо-востоке Северного острова архипелага Новая Земля вблизи истока реки Снежная с глубины 0-5 см. Средняя температура воздуха в месте отбора образцов составляет 2.5°C, температурные флуктуации происходят в диапазоне от -40 до 15°C (Матишов и др., 2011). Отобранные образцы представляют собой шунгитовую морену [Nz 1], смесь шунгитовой морены и ледникового льда в равной пропорции [Nz 2] и лед ледника [Nz 3]. Образец морены [Nz 1] был отобран в точке с координатами 76.896389N, 67.561389E, образец морены и льда [Nz 2] был отобран в 200 м к югу, образец льда [Nz 3] был отобран на 70 метров южнее точки отбора образцов морены и льда [Nz 2]. Каждый образец был смешан из двух проб, отобранных примерно на расстоянии 10 м друг от друга. При отборе всех образцов поверхностный материал (0–1 см) отбрасывали. Общая масса отобранных образцов составляла около 50 г.

### **4) Поверхностный горизонт слаборазвитой почвы пустыни Гибсона, Австралия**

Образец поверхностного горизонта слаборазвитой почвы (обозначение Austr) был отобран в центральной части пустыни Гибсона (Юго-западная Австралия; 24.963297S, 125.50799E). Образец представляет собой преимущественно кварцевый песок, с примесью железосодержащих минералов, отобранный с глубины 0-3 см. Осадки выпадают крайне нерегулярно, не превышают 170 мм в год. Климат тропический, средняя температура января составляет 40°C, июля –16°C. Растительность встречается локально и представлена безжилковой акацией (*Acacia aneura*), лебедой (*Atriplex* spp.) и спинифексом (*Spinifex* spp.) (Morton et al., 2011). Согласно международной классификации, данная почва относится к типу Arenosol.

### **5) Поверхностный горизонт слаборазвитой почвы пустыни Мохаве, США**

Образец поверхностного горизонта слаборазвитой почвы пустыни Мохаве было отобран на Юго-Западе США (35.263155N, 116.917865W) в центральной части пустыни с глубины 0-5 см (образец Moj). Отбор образца осуществлялся на лишенном растительности участке. Регион взятия образца рассматривается как самый засушливый район пустыни Мохаве. В целом, пустыня характеризуется низким количеством атмосферных осадков, средняя годовая сумма осадков составляет менее 150 мм. Температура поверхностных слоев почвы в летние месяцы может достигать 45-50°C, средняя зимняя температура близка к 0°C (Rundel et al., 2005). По физико-химическим и гранулометрическим свойствам поверхностные грунты пустыни Мохаве рассматриваются как земные аналоги Марсианского реголита (Beegle et al., 2005). Согласно международной классификации, данная почва относится к типу Arenosol.

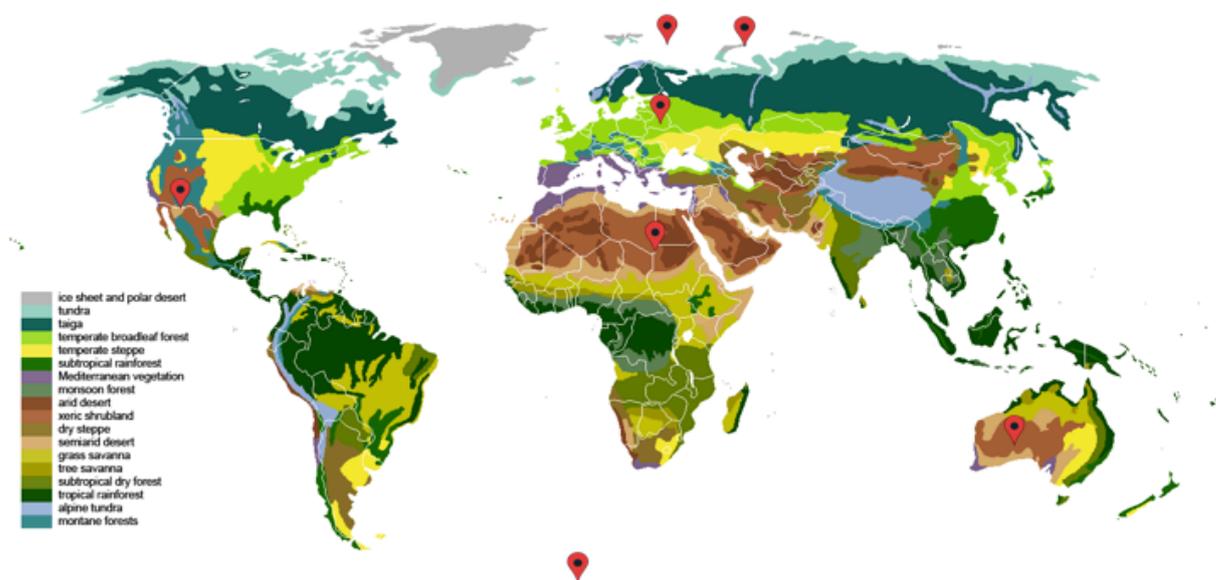
#### **б) Поверхностный горизонт слаборазвитой почвы пустыни Сахара, Египет**

Образец поверхностного горизонта слаборазвитой пустынной почвы был отобран в Северо-восточной Африке (23.458290N, 26.425616E) на территории Египта. Образец представляет собой преимущественно кварцевый песок, отобранный с глубины 0-3 см (образец SD). Район пробоотбора характеризуется широкими сезонными и суточными колебаниями температуры: суточные температурные колебания составляют около 40°C, среднемесячная зимняя температура опускается до 10°C, среднемесячная летняя температура достигает 37°C. Количество осадков в течение года сильно варьирует, среднегодовое значение составляет 76 мм (Laurent et al., 2008). Согласно международной классификации, данная почва относится к типу Arenosol.

## 7) Горизонт А дерново-подзолистой почвы Московской области, Россия

Образец горизонта А дерново-подзолистой почвы (образец Dp) был отобран в Солнечногорском районе Московской области (56.025556N, 37.190833E) с глубины 5-10 см. Климат умеренно континентальный: среднегодовая температура колеблется от 3.5 до 5.8°C. Средняя температура января составляет -10°C, июля – 19°C. Среднегодовое количество осадков колеблется от 500 до 700 мм (Vulygina et al., 2007). Образец дерново-подзолистой почвы был включен в исследование, так как он не относится к аридным экосистемам, следовательно, в меньшей степени подвергается дефициту влаги и другим экстремальным воздействиям и выступает в качестве объекта сравнения. Более подробно образец описан в работе В.С. Чепцова (Cheptsov et al., 2019).

Гигроскопическая влажность и некоторые физические и химические свойства исследованных образцов (рис. 2) представлены в таблицах 1 и 2.



**Рисунок 2.** Расположение точек отбора образцов для исследования.

Гигроскопическую влажность образцов измеряли с помощью анализатора влажности MF-50 (Mettler Toledo, США).

**Таблица 1.** Гигроскопическая влажность исследованных образцов.

Образец	Место отбора	Влажность, %	Образец	Место отбора	Влажность, %
Nz 1	Новая Земля	0.32	Moј	Пусыня Мохаве	0.62
Sz	Северная Земля	2.5	Austr	Пустыня Гибсона	0.74
A-6/99	Сухие Долины, Антарктида	1.02	SD	Пустыня Сахара	0.66
Но-3		1.1	Dp	Московская область	3.42

Все образцы были отобраны в соответствии с техникой асептики: образцы поверхностных горизонтов пустынных почв и мерзлых пород архипелагов Северная и Новая Земля отбирали стерильным инструментом непосредственно в герметичный стерильный полипропиленовый контейнер, образцы антарктических мерзлых пород были отобраны при помощи методов стерильного бурения мерзлоты (Gilichinsky et al., 2007). Образцы пустынных почв транспортировались и хранились при комнатной температуре, мерзлые образцы транспортировались и хранились в замороженном состоянии при температуре  $-18\pm 2^{\circ}\text{C}$ .

### **3.2. Методы исследования**

#### **3.2.1 Люминесцентно-микроскопический учет общей численности прокариот в образцах**

Прямой учет содержания бактерий и актиномицетного мицелия в образцах проводили с помощью эпифлуоресцентной микроскопии с красителем акридином оранжевым. Навески почв или пород разводили стерильным фосфатно-солевым буферным раствором (pH 7,4) в соотношении 1:100 (для образцов мерзлых пород 1:50). Суспензии обрабатывали на вертексе MultiReax (Heidolph Instruments, Германия) в течение 30 минут при 2000 об./мин. После отстаивания в течение 1 мин отбирали 20 мкл суспензии и распределяли на обезжиренных предметных стеклах в шестикратной повторности.

**Таблица 2.** Некоторые физические и химические характеристики исследованных образцов почв и осадочных пород

Образец	Nz1	Sz	A-6/99	Ho-3	Moj	Austr	SD	Dp
Место отбора	Архипелаг		Сухие долины Антарктиды		Пустыня			Московская область
	Новая Земля	Северная Земля			Мохаве	Гибсона	Сахара	
Гранулометрический состав	Гравий	Песок	Супесь	Средний суглинок	Песок	Песок	Песок	Супесь
pH	5.44	6.90	8.21	7.83	7.40	7.28	7.44	6.37
C орг., %	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.6	<0.1	<0.1	1.1
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мг/кг	<1	0.25	0.78	1.26	0.79	0.52	0.42	1.02
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , мг/кг	<1	2.12	4.14	3.71	3.18	<1	<1	<1
Cl <sup>-</sup> , мг/кг	34.19	42.15	62.30	51.92	55.72	47.10	71.40	55.46
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , мг/кг	127.22	135.42	172.39	129.29	138.90	92.84	110.62	237.14
Na <sup>+</sup> , мг/кг	272.41	529.18	915.15	297.75	453.40	318.82	372.19	212.73
Mn <sup>2+</sup> , мг/кг	170.31	127.82	331.35	161.10	214.70	110.82	95.12	140.05
Mg <sup>2+</sup> , мг/кг	80.21	21.77	10.47	720.75	62.37	54.10	83.20	18.38
K <sup>+</sup> , мг/кг	180.43	110.75	106.98	376.65	270.63	211.09	210.11	98.62
Fe <sup>2+</sup> +Fe <sup>3+</sup> , мг/кг	5.20	4.92	34.22	1.41	34.92	63.76	52.70	4.11

Условные обозначения образцов: Nz 1 – мерзлая порода архипелага Новая Земля, Sz – мерзлая порода архипелага Северная Земля, A6/99 и Ho-3 – древние мерзлые породы долин Бикона и Тейлора, Антарктида, Moj – поверхностный горизонт почвы пустыни Мохаве, Austr – поверхностный горизонт почвы пустыни Гибсона, SD – поверхностный горизонт почвы пустыни Сахара, Dp – дерново-подзолистая почва Московской области.

Препарат фиксировали над пламенем горелки. Акридин оранжевый в разведении 1:10000 наносили на препарат, выдерживали 3 мин., затем промывали в стоячей воде 2 раза по 10 мин. Препараты просматривали на микроскопе PrimoStar (Zeiss, Германия) с флуоресцентным осветителем AmScope epi-illumination system (AmScope, США) по 120 полей зрения при увеличении  $\times 700$ . Учитывали клетки и актиномицетный мицелий с зеленой флуоресценцией. Численность прокариот рассчитывали по формуле (1).

$$N = \frac{S_1 \times a \times n}{V \times S_2 \times c} \quad (1)$$

где  $N$  – число клеток на 1 г образца;  $S_1$  – площадь препарата ( $\text{мкм}^2$ );  $a$  – количество клеток в поле зрения;  $n$  – показатель разведения образца;  $V$  – объем капли, наносимой на стекло (мл);  $S_2$  – площадь поля зрения микроскопа ( $\text{мкм}^2$ );  $c$  – навеска почвы.

Расчет содержания биомассы прокариот производился по формуле (2) (Whitman et al., 1998):

$$C = 2 \times N \times 10^{-7} \quad (2)$$

где  $C$  - биомасса ( $\text{мкг/г}$  образца),  $N$  - число клеток на 1 г образца.

### **3.2.2 Учет численности метаболически активных прокариот методом флуоресцентной *in situ* гибридизации**

Оценку численности метаболически активных прокариот различных филогенетических групп в исследуемых образцах проводили с помощью метода флуоресценции *in situ* гибридизации с рРНК-специфичными флуоресцентно-мечеными олигонуклеотидными зондами. Образцы подвергались предварительному инкубированию в стерильном фосфатно-солевом буфере в течение 12 часов при температуре  $25^\circ\text{C}$ . Навеска образца помещалась в стерильный фосфатно-солевой буфер (рН 7.4) в соотношении 1:10, прокариотные клетки десорбировались с поверхности минеральных частиц путем обработки суспензии на ультразвуковом дезинтеграторе Soniprep 150 (MSE, Великобритания) в течение 2 минут при силе тока 0.4 А и частоте 22 кГц.

Далее разделение минеральных частиц и клеток прокариот производили путем центрифугирования суспензии при 2000 об/мин в течение 10 минут. Супернатант отделяли от осадка, а затем центрифугировали при 14500 об/мин в течение 15 минут для осаждения клеток. Фиксацию клеток производили с использованием формальдегида. Для этого клетки ресуспендировали в фосфатно-солевом буфере, добавляли формальдегид до конечной

концентрации 3% и обрабатывали на вортексе при 2000 об/мин в течение 90 минут. Далее клетки осаждали центрифугированием при 14500 об/мин в течение 15 минут и после двукратной промывки ресуспендировали в стерильном фосфатно-солевом буферном растворе. Клетки наносили на предметное стекло с тефлоновым покрытием и последовательно промывали в градиенте концентраций этанола (50, 80 и 96%) в течение трех минут для каждой концентрации.

Гибридизацию проводили в соответствии с методикой, описанной Amann (Amann et al., 2000) с РНК-специфичными зондами с флуоресцентным красителем Cy3 для детекции представителей филумов *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Planctomyces*, *Verrucomicrobia*, *Euryarchaeota*, *Crenoarchaeota*, *Thaumarchaeota* и классов,  $\alpha$ -*Proteobacteria*,  $\beta$ -*Proteobacteria*,  $\gamma$ -*Proteobacteria*,  $\delta$ -*Proteobacteria*. Состав гибридизационных и промывочных буферных растворов, а также подробный протокол подготовки образцов описан в работе Н.А. Манучаровой (Manucharova et al., 2011).

Гибридизация проводилась в четырехкратной повторности для каждого РНК-специфичного зонда. Препараты просматривали на микроскопе PrimoStar (Zeiss, Германия) с флуоресцентным осветителем Am-Score epi-illumination system (AmScore, США) по 120 полей зрения при увеличении  $\times 700$ . Учитывали клетки с красной флуоресценцией. Численность прокариот рассчитывали по формуле (1).

### **3.2.3 Учет численности культивируемых бактерий методом посева на плотные питательные среды**

Определение численности культивируемых микроорганизмов в образцах почв и пород и выделение чистых культур бактерий проводили методом посева на плотные питательные среды. Навеску образца для посева отбирали в стерильных условиях, в боксе микробиологической безопасности II класса, обработанном ультрафиолетом, с соблюдением техники асептики. Навеску разводили в соотношении 1:10 стерильным 0.01 М фосфатно-солевым

буферным раствором (рН 7.4, 0.137 М NaCl, 0.0027 М KCl) и проводили десорбцию микроорганизмов на вортексе MultiReax (Heidolph Instruments, Германия) в течение 15 минут при 2000 об/мин. После десорбции готовили серию 10-кратных разведений, каждое из которых, затем в трёхкратной повторности высевали на питательные среды. Одновременно с посевом исследуемого образца осуществляли контрольные посеvy для выявления стерильности использованных растворов и питательных сред и контроль присутствия воздушной микрофлоры. Культивирование проводили при температурах 10, 25 и 50°C. Температуры культивирования являются характерными для психрофильных, мезофильных и термофильных микроорганизмов (Rampelotto, 2010). Срок инкубации составлял 14 дней для сообществ, инкубируемых при температурах 25 и 50°C и 30 дней для инкубируемых при 10°C. На основании морфологических признаков колоний и клеточной морфологии изолятов выделяли морфотипы бактерий. Уникальные морфотипы выделяли в виде чистых культур, депонировали в Астробиологическую коллекцию микроорганизмов национального банка-депозитария живых систем «Ноев Ковчег» и подвергали дальнейшим анализам.

Численность культивируемых бактерий (КОЕ/г) рассчитывали по формуле (3).

$$M_p = \frac{m \times P \times b}{a \times 1000} \quad (3)$$

Где  $M_p$  – число колониеобразующих единиц на грамм образца;  $m$  – количество колоний на чашке;  $P$  – разведение исследуемого образца;  $b$  – аликвота, использованная при посеве;  $a$  – масса абсолютно сухой навески почвы или породы.

Для культивирования были использованы глюкозо-пептонно-дрожжевая питательная среда (ГПД), богатая различными источниками углерода и факторами роста (глюкоза - 1 г/л, пептон мясной - 2 г/л, дрожжевой экстракт - 1 г/л, триптон - 1 г/л, агар-агар - 20 г/л) и модифицированная питательная среда

(ЧМ) Чапека (глюкоза - 2 г/л, сахароза - 2 г/л, крахмал растворимый - 2 г/л, NaNO<sub>3</sub> - 2 г/л, KН<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - 1 г/л, MgSO<sub>4</sub> - 0.5 г/л, KCl - 0.2 г/л, агар-агар - 20 г/л), содержащая источники углерода, требующие предварительного гидролиза перед поступлением в клетки.

### **3.2.4 Анализ функциональной активности микробных сообществ методом мультисубстратного тестирования (МСТ)**

Оценку функционального состояния микробных сообществ в исследуемых образцах почв и пород проводили на основе спектров потребления органических субстратов, получаемых методом мультисубстратного тестирования (МСТ) (Горленко, Кожевин, 1994; Горленко, 1995).

Навеску образца массой 0.3 г помещали в центрифужный стаканчик, заливали стерильным фосфатно-солевым буферным раствором в соотношении 1:100 и полученную суспензию обрабатывали на вортексе Multi Reax (Heidolph Instruments, Германия) в течение 20 минут при 2000 об/мин. для десорбции бактериальных клеток от минеральных частиц почвы, которые впоследствии осаждали центрифугированием (2000 об/мин, 2 мин.). К десорбированным с минерального носителя микробным клеткам добавляли индикатор дегидрогеназной активности (трифенилтетразолий хлористый), перемешивали и вносили по 200 мкл в каждую лунку 96-луночного микропланшета, содержащего набор из 47 тест-субстратов в двух повторностях. Используемые тест-субстраты включали пентозы, гексозы, олигосахариды, аминокислоты, полимеры, нуклеозиды, соли органических кислот, спирты, амиды. Планшеты инкубировали в термостате при 28°C в течение 72 ч. После инкубирования измеряли оптическую плотность лунок при  $\lambda = 510$  нм на фотометре Sunrise (Tecan, Menendov, Швейцария). Изменение окраски раствора в лунках обусловлено образованием формазана, вызванного развитием микроорганизмов в ячейках и восстановлением трифенилтетразолия в формазан. Концентрация формазана и обусловленная им оптическая плотность ячейки определяются интенсивностью роста группы

микроорганизмов, способных потреблять тест-субстрат, содержащийся в лунке. Данные фотометрического измерения значений оптической плотности по всем ячейкам (всем субстратам), представляют собой спектр потребления субстратов (СПС) микробного сообщества, на основании которого были вычислены коэффициенты функционального биоразнообразия исследуемого микробного сообщества, являющиеся характеристиками его метаболического состояния.

### **3.2.5 Идентификация чистых культур бактерий методом секвенирования фрагментов гена 16S рРНК**

Идентификацию бактериальных изолятов осуществляли с помощью анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК. ДНК экстрагировали из клеток в экспоненциальной фазе роста с помощью Трис-ЭДТА буфера (10мМ Трис, 1мМ ЭДТА, рН 8.0) с добавлением 5% Triton X-100. Биомассу бактерий, выращенных на жидкой питательной среде, собирали центрифугированием в течение 3 минут при 14 500 об/мин, дважды промывали стерильным фосфатным буферным раствором, после чего ресуспендировали в 500 мкл лизирующего буферного раствора и кипятили в течение 15 минут при 100°C. Затем к суспензии добавляли около 100 мг стерильных стеклянных шариков (диаметром 250-300 мкм) и обрабатывали на гомогенизаторе Minilys (Bertin Instruments, США) в течение 30 с при 5000 об/мин. Далее лизаты центрифугировали в течение 3 минут при 14 500 об/мин. Супернатант использовали в качестве матрицы при постановке полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Для постановки ПЦР использовали готовую ПЦР-смесь Screen Mix (Евроген, Россия). ПЦР проводили в амплификаторе Т-100 (BioRad, США). ПЦР проводили с использованием праймеров 27f+Un1492r (Weisburg et al., 1991; DeLong, 1992), 63f+1387r (Marchesi et al., 1998), 341f+805r (Klindworth et al., 2013), и 27f+537r (Weisburg et al., 1991; Lane, 1991). Для каждого штамма сначала проводили амплификацию с праймерами 27f+Un1492r. Для штаммов,

ДНК которых не амплифицировалась с этими праймерами, проводилась ПЦР с праймерами 63f+1387r. Для штаммов, ДНК которых не амплифицировалась с указанными двумя праймерными системами, проводилась ПЦР с праймерами 341f+805r. Если целевой фрагмент ДНК не амплифицировался с указанными праймерными системами, применялась праймерная система 27f+537r. Для штаммов, ДНК которых не удалось амплифицировать с использованием всех указанных праймеров, проводился тест на ингибирование ПЦР. Аликвоту лизата смешивали с контрольным лизатом *Escherichia coli* (3:1) и проводили ПЦР. Если концентрация ДНК в ПЦР-продукте была ниже, чем в положительном контроле (одновременная ПЦР с чистым лизатом *E. coli*), делался вывод об ингибировании ПЦР, и проводилась очистка лизата с помощью набора Cleanup Mini (Евроген, Россия) согласно инструкциям производителя. Очищенные лизаты использовались для дальнейшей амплификации. Полученные ПЦР-продукты были очищены и секвенированы научно-исследовательской компанией «Евроген» (Москва, Россия) с использованием праймеров 1100r (Lane, 1991), 805r (Klindworth et al., 2013) или 537r (Lane, 1991).

Редактирование нуклеотидных последовательностей выполнялось с помощью программы ChromasLite 2.01 (<http://www.technelysium.com.au>). Для выравнивания, сравнения и идентификации нуклеотидных последовательностей использовались программа Clustal Omega (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) и алгоритм BLAST базы данных GenBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Полученные данные о нуклеотидных последовательностях были депонированы в базу данных NCBI GenBank под номерами MH734536 – MH734603, MK403768 – MK403884 и MN093986 – MN094107.

### **3.2.6 Высокопроизводительное секвенирование образца геномной ДНК микробного сообщества мерзлой породы**

Геномная ДНК (гДНК) микробного сообщества была выделена из образца мерзлой породы архипелага Новая Земля [Nz 2] с использованием коммерческого набора DNeasy Power Lyzer Power Soil Kit (MoBio Laboratories, Inc., Carlsbad, Канада) в соответствии с рекомендациями производителя. Амплификация фрагментов генов 16S рРНК сообщества была выполнена с использованием праймерами 341f+805r (Klindworth et al., 2013).

После получения ампликонов библиотеки были очищены и смешаны эквимольно с помощью набора Sequel Prep TM Normalization Plate Kit (Thermo Fisher, США). Пул библиотек был секвенирован (301 цикл с каждой стороны фрагментов) с использованием набора реактивов MiSeq Reagent Kit (Illumina, США). Были получены две выборки парноконцевых чтений длиной 300 пар оснований. Файлы FASTQ были получены с помощью программного обеспечения MiSeq Reporter (Illumina, США).

Последовательности, полученные после контроля качества (FastQC), тримминга прочтений (trimmomatic) и сборки пар прочтений (vsearch) картировались на базу данных GreenGenes 13.8 при помощи cd-hit-est-2d в точном режиме с порогом сходства 97%. Далее были созданы случайные выборки без возвращения из каждой таблицы: начальное покрытие составляло 2500 чтений, конечное – 100 000, шаг – 2500, количество повторностей – 5. Для выборки были вычислены показатели альфа-разнообразия Шеннона, Симпсона, Пиелу и Чао с использованием функции из пакета scikit-bio для языка программирования Python. Высокопроизводительное секвенирование было выполнено научно-исследовательской компанией «Евроген» (Москва, Россия), обработка данных была выполнена научно-исследовательской компанией Ksivalue (Москва, Россия).

Первичные последовательности, полученные в ходе высокопроизводительного секвенирования, были депонированы в базу данных NCBI BioProject под номером PRJNA554636.

### 3.2.7 Определение условий, пригодных для роста штаммов

Спектры устойчивости штаммов *in vitro* определялись для всех выделенных в ходе исследования культур (430 штаммов) путем их культивирования на средах с добавлением исследуемого стресс-фактора: температура культивирования; pH среды; присутствие различных солей и клинических антибиотиков. Штаммы анализировались на жидких средах идентичных тем, на которых они были впервые выделены из естественной среды. Анализ был выполнен в трехкратной повторности для каждого стресс-фактора.

Для определения устойчивости к температуре культивирования штаммы культивировали при температурах 2, 4, 10, 25, 37, 45 и 50°C .

При определении устойчивости к pH среды были использованы фосфатная ( $K_2HPO_4+H_3PO_4$  в конечной концентрации 100 мМ, pH 2–6) и трис-щелочная (Трис+HCl+NaOH в конечной концентрации 100 мМ, pH 7–12) буферные системы.

Устойчивость штаммов к присутствию солей определялась путем асептического приготовления и последующего разведения 20% раствора исследуемой соли в жидкой питательной среде. Исследовалась устойчивость на средах, содержащих хлорид натрия (NaCl), хлорид калия (KCl), гидрокарбонат натрия ( $NaHCO_3$ ) или сульфат магния ( $MgSO_4$ ) в конечных концентрациях 2, 5, 10, 15 и 20%; и перхлората магния ( $Mg(ClO_4)_2$ ) в конечных концентрациях 0.5, 1, 2, 5, 10 и 15%. Устойчивость к антибиотикам определялась путем добавления к жидкой питательной среде одного из 7 антибиотиков, представителей различных классов по механизму биологического действия. Исследовалась устойчивость к ампициллину (Amp), цефалексину (Ceph), хлорамфениколу (Chl), тетрациклину (Tet), доксициклину (Dox), канамицину (Kan) и рифампицину (Rif). Все действующие вещества антибиотиков (Белмед, Россия) добавлялись в концентрации 100 мкг/мл, что превышает минимальную эффективную концентрацию данных антибиотиков.

Все анализы, исключая устойчивость к температуре и pH среды, были выполнены при температуре 25°C и pH 7.4. Рост штаммов регистрировался на десятые сутки после инокуляции для тестов, проводившихся при температурах 10, 25, 37, 45 и 50°C; для тестов, проводившихся при температурах 2 и 4°C, инкубационный период составлял 60 и 30 дней, соответственно. Рост регистрировался с использованием микропланшетного фотометра Sunrise (Tecan, Menendov, Швейцария) при  $\lambda = 620$  нм. Планшеты были проанализированы непосредственно после инокуляции и после инкубационного периода, рост штамма определялся по разнице оптической плотности.

## 4. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ<sup>1</sup>

### 4.1 Общая численность прокариот и численность культивируемых бактерий в исследуемых образцах

Общая численность прокариот в исследованных образцах варьировала в диапазоне  $(0.08 - 7.90) \times 10^8$  клеток/г субстрата. Наибольшие значения общей численности прокариот наблюдались в образцах почв, отобранных в пустынях Гибсона [Austr], Мохаве [Moj] и Сахаре [SD], где она составляла  $5.5 \times 10^8$  клеток/г и более. Образцы, отобранные в крио-аридных экосистемах северного полушария (мерзлые породы архипелагов Новая Земля [Nz] и Северная Земля [Sz]) характеризовались общей численностью прокариот в диапазоне  $(1.85 - 3.51) \times 10^8$  клеток/г; в антарктических образцах общая численность прокариот была на порядок ниже и составляла  $3.16 \times 10^7$  и  $7.8 \times 10^7$  клеток/г в образцах, отобранных из долин Тейлора [Ho-6] и Бикона [A-6/99], соответственно. Общая численность прокариот в образце дерново-подзолистой почвы Московской области составляла  $8.13 \times 10^8$  клеток/г (рис. 3).

---

<sup>1</sup>Глава составлена на основе результатов, изложенных в основных публикациях автора:

Belov A. A., Cheptsov V. S., Vorobyova E. A. Soil bacterial communities of Sahara and Gibson deserts: Physiological and taxonomical characteristics // *AIMS microbiology*. 2018. V. 4. №. 4. p. 685.

Belov A. A. et al. Stress-Tolerance and Taxonomy of Culturable Bacterial Communities Isolated from a Central Mojave Desert Soil Sample // *Geosciences*. 2019. V. 9. №. 4. p. 166.

Belov A. A. et al. Bacterial Communities of Novaya Zemlya Archipelago Ice and Permafrost // *Geosciences*. 2020. V. 10. №. 2. p. 67.

Belov A.A., Cheptsov V.S. Vorobyova E.A., Manucharova N. A., EzhelevZ. S. Culturable Bacterial Communities Isolated from Cryo-Arid Soils: Phylogenetic and Physiological Characteristics. // *Paleontological Journal*. 2020. V. 54 p. 903–912.

Kotsyurbenko O.R., Cordova J.A., Belov A.A., Cheptsov V.S., Kölbl D., Khrunyk Y.Y., Kryuchkova M.O., Milojevic T., Mogul R., Sasaki S., Slowik G.P., Snytnikov V., Vorobyova E.A. Exobiology of the Venusian Clouds: New Insights into Habitability through Terrestrial Models and Methods of Detection // *Astrobiology*. 2021. V. 21. No 9. P 1–20.

Белов А. А., Чепцов В. С., Воробьева Е. А., Манучарова Н. А. Устойчивость бактерий из криоаридных грунтов к физико-химическому стрессу // *Эволюция биосферы с древнейших времен до наших дней. Серия Гео-биологические системы в прошлом*. ПИН РАН Москва, 2019. с. 136–150.

Белов А. А., Чепцов В. С., Воробьева Е. А. Биоразнообразие и таксономическая структура аэробных гетеротрофных бактериальных комплексов некоторых пустынных экосистем // *Современные проблемы науки и образования*. 2017. №. 5. с. 344–344.

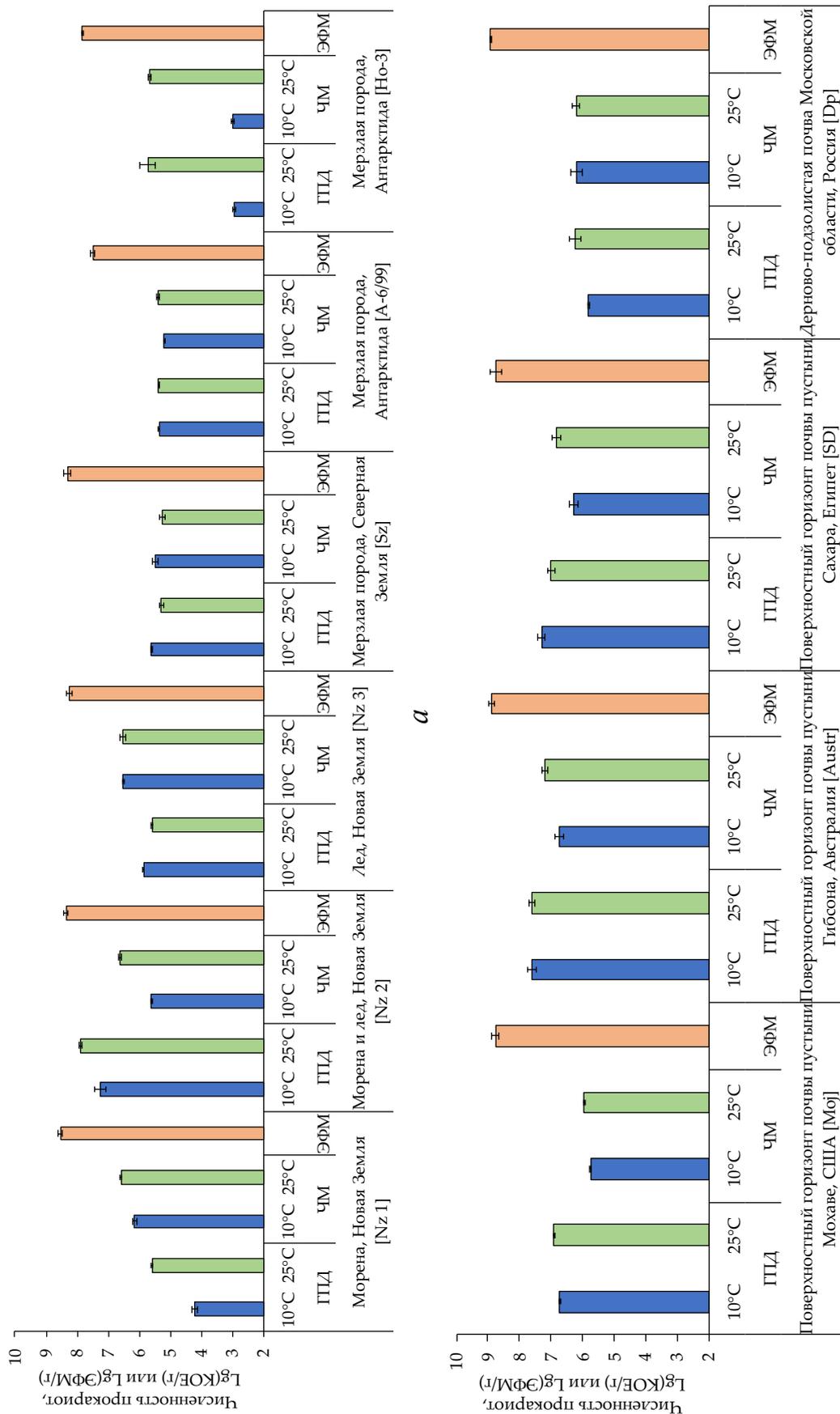
Манучарова Н.А., Чепцов В.С., Белов А.А., Воробьева Е.А., Зенова Г.М., Степанов А.Л. Почва как природный банк микробного разнообразия: новые подходы и актуальные аспекты // *Вестник Российского фонда фундаментальных исследований*. 2020. Т. 106, No 2. С. 88–100.

Наименьшая доля культивируемых бактерий ( $1.93 \times 10^5$  КОЕ/г) была обнаружена в образце мерзлой породы архипелага Северная Земля [Sz]: коэффициент К, равный отношению общей численности прокариот к численности культивируемых бактерий (Кожевин, 1989), близок к 500. Наибольшая доля культивируемых бактерий ( $7.81 \times 10^9$  КОЕ/г) выявлена в поверхностном образце морены и льда, отобранном на Северном острове архипелага Новая Земля [Nz 2], коэффициент К составлял 2.88. В остальных рассматриваемых образцах доля культивируемых бактерий была примерно одинакова: на один-два порядка меньше общей численности прокариот.

Культивируемые бактерии при посеве и инкубации при 50°C не были выявлены во всех исследованных образцах аридных почв и пород.

В большинстве образцов наблюдалось возрастание численности культивируемых бактерий при температуре инкубации равной 25°C, по сравнению с численностью культивируемых бактерий при 10°C. Исключения составляли культивируемые сообщества, выделенные из мерзлоты архипелага Северная Земля [Sz], где численность культивируемых бактерий при 10°C была выше численности культивируемых бактерий при 25°C в 2 – 3 раза. Примерно равные значения численности культивируемых бактерий при 10 и при 25°C обнаружены в образце антарктической мерзлой породы, отобранной в долине Бикона [A-6/99] и в образце дерново-подзолистой почвы [Dr].

Возрастание числа КОЕ на глюкозо-пептонной среде по сравнению с численностью на модифицированной среде Чапека наблюдалось в образцах морены и льда архипелага Новая Земля [Nz 2], а также в образцах поверхностных горизонтов почв жарких аридных пустынь Мохаве [Moj], Гибсона [Austr], Сахара [SD]. Напротив, более высокая численность культивируемых клеток на модифицированной среде Чапека по сравнению со глюкозо-пептонно-дрожжевой средой наблюдалась в сообществах, выделенных из морены [Nz 1] и льда [Nz3] архипелага Новая Земля.



**Рисунок 3.** Показатели общей численности прокариот и численности культивируемых бактерий. Планки погрешности обозначают доверительный интервал при  $p < 0.05$ . ГПД и ЧМ – численность культивируемых бактерий на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде и среде Чапека соответственно; ЭФМ – данные общей численности прокариот.

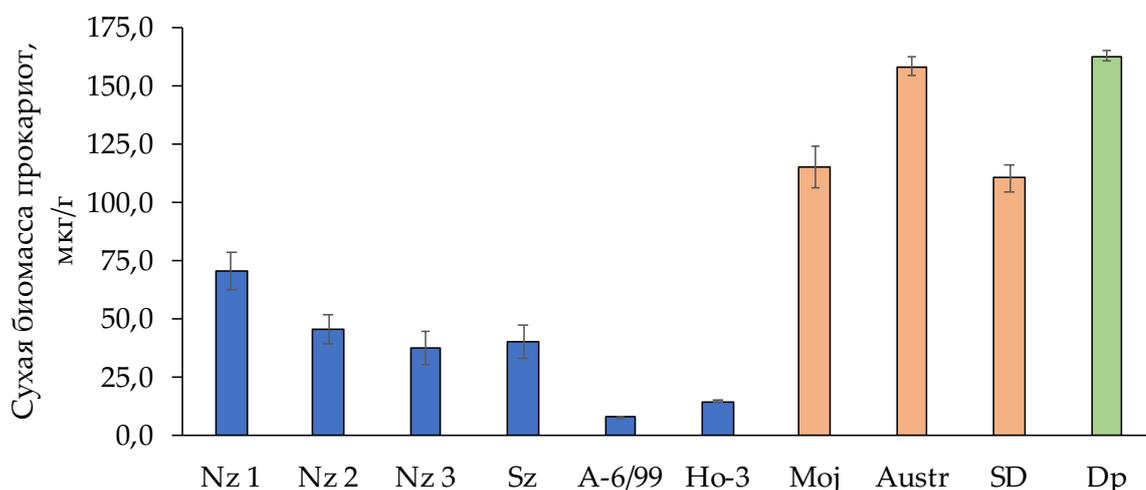
В образцах мерзлых осадочных пород и льда архипелага Новая Земля численность культивируемых бактерий составляла от  $10^4$  до  $10^7$  колониобразующих единиц на грамм субстрата (КОЕ/г) в зависимости от условий культивирования; в мерзлоте архипелага Северная Земля выявлена численность культивируемых бактерий на уровне  $10^5$  КОЕ/г. В антарктических образцах численность культивируемых бактерий на уровне  $10^5$  КОЕ/г наблюдалась в мерзлоте, отобранной в долине Бикона [А-6/99], и составляла  $10^2$  и  $10^5$  КОЕ/г для сообществ, выделенных из долины Тейлора [Но-3] при температурах 10 и 25°C соответственно.

В образце поверхностного горизонта почвы, отобранном в центральной части пустыни Мохаве [Мoj], культивируемые бактерии на средах ГПД и ЧМ были обнаружены на уровне  $10^6$  и  $10^5$  КОЕ/г соответственно. В поверхностных осадочных породах пустынь Гибсона и Сахара численность культивируемых бактерий составляла  $10^6$ - $10^7$  КОЕ/г. Примечательно обнаружение высокой численности культивируемых бактерий при 10°C в образце почвы из пустыни Сахара: в этих условиях вырастает  $4.0 \times 10^7$  КОЕ/г, в то время как при всех остальных условиях культивирования численность КОЕ составляет порядка  $10^6$  КОЕ/г.

В гумусовом (А) горизонте дерново-подзолистой почвы была выявлена численность культивируемых бактерий на уровне  $10^6$  КОЕ/г, максимальное значение численности культивируемых бактерий равно  $1.66 \times 10^6$  КОЕ/г наблюдалось на среде ГПД при температуре инкубации 25°C.

Содержание прокариотной биомассы в образцах приведено на рисунке 4. Наибольшие показатели отмечены в образцах жарких аридных пустынь, где содержание прокариотной биомассы достигает более 100 мкг/г. Наибольшие показатели содержания прокариотной биомассы выявлены в образцах почвы пустыни Гибсона и горизонта А дерново-подзолистой почвы, где общая биомасса прокариот близка к 160 мкг/г.

В образцах арктических крио-аридных экотопов выявлено содержание прокариотной биомассы около 45 мкг/г с максимумом в образце морены архипелага Новая Земля [Nz 1], равном 70 мкг/г. В антарктических образцах выявлено самое низкое содержание прокариотной биомассы, в рамках данного исследования, составляющее 7.6 и 14.2 мкг/г в образцах долин Бикона [А-6/99] и Тейлора [Но-3] соответственно.



**Рисунок 4.** Содержание прокариотной биомассы в образцах по данным эпифлуоресцентного анализа. Планки погрешности обозначают доверительный интервал при  $p < 0.05$ . Условные обозначения образцов: Nz – мерзлые породы, Новая Земля, Sz – мерзлая порода, Северная Земля, А6/99 и Но-3 – мерзлые породы, Антарктида, Moj – поверхностный горизонт почвы, пустыня Мохаве, Austr – поверхностный горизонт почвы, пустыня Гибсона, SD – поверхностный горизонт почвы, пустыня Сахара, Dp – горизонт А дерново-подзолистой почвы.

Выявленные значения общей численности прокариот в исследованных образцах на уровне  $10^6$ - $10^8$  клеток/г почвы хорошо согласуются с данными ранее проведенных работ (Vorobyova et al., 1997; Foght et al., 2004; Jiang et al., 2006; Lester et al., 2007; Gómez-Silva et al., 2008; Hallbeck et al., 2009; Wilhelm et al., 2012; Kudinova et al. 2019).

Сравнивая показатели общей численности прокариот в исследуемых образцах, можно отметить статистически достоверные более высокие

значения общей численности прокариот в жарких аридных пустынях по сравнению с крио-аридными породами и почвой, не испытывающей дефицита влаги. Обнаруженная доля культивируемых в бактерий от общего числа прокариот (наименьшая в рамках данного исследования), выявленная в образце мерзлой породы архипелага Северная Земля [Sz], согласуется с другими исследованиями мерзлых почв и пород: ранее было показано, что в подобных образцах отличия между общей численностью и численностью культивируемых бактерий составляют 3-5 порядков, что обусловлено разными причинами, среди которых, существование бактерий *in situ* в метаболически не активном состоянии, нуждающихся предварительной реактивации различными методами (Демкина и др., 2006; Мулюкин 2010; Кряжевских и др., 2012) для дальнейшего культивирования. Было показано, что численность анаэробных бактерий в вечномерзлых породах сопоставима с численностью аэробных, что также объясняет наблюдаемые соотношения общей численности прокариот и численности КОЕ (Vorobyova et al., 1997; Goordial et al., 2016). Наблюдаемые величины численности культивируемых прокариот, выделенных из крио-аридных образцов, которые сопоставимы с полученными в ходе исследований других авторов, использовавших аналогичные среды и методы культивирования, в том числе и в антарктическом регионе (Margesin et al., 2011; Lopatina et al., 2013; Altshuler et al., 2017).

Наблюдаемое в большинстве образцов возрастание численности культивируемых бактерий при температуре инкубации равной 25°C по сравнению с численностью культивируемых бактерий при 10°C ранее было описано в литературе для серии постоянно-холодных и жарких засушливых почв и пород, для которых были отмечены наибольшие значения численности культивируемых бактерий при температурах мезофильного диапазона (Vorobyova et al., 1997; Bell et al., 2009; Antony et al., 2012; van Gestel et al., 2013; Zhang et al., 2013; Liu et al., 2018).

Близкие значения численности культивируемых бактерий при 10 и при 25°C, обнаруженные практически во всех образцах, свидетельствуют о

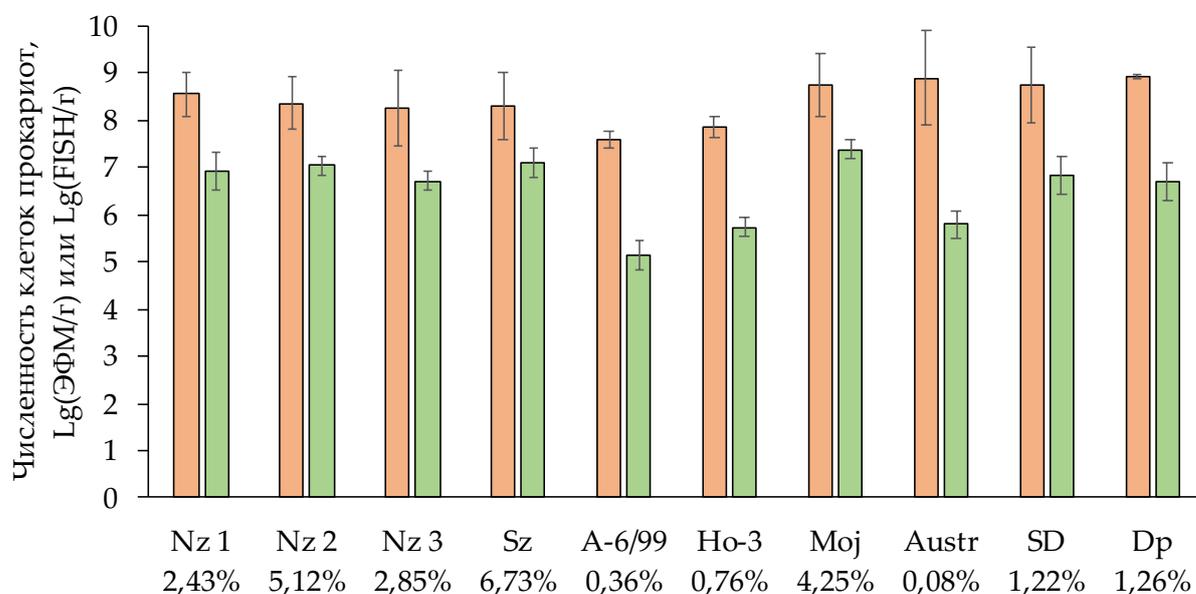
психротолерантности многих выделенных бактерий, что впоследствии было подтверждено результатами физиологических исследований штаммов (см. раздел 4.6). Развитие психротолерантности у данных штаммов, вероятно, обусловлено адаптацией к климатическим режимам исследованных экотопов, для которых характерны периоды (разной частоты и длительности), характеризующиеся низкими температурами воздуха и почв.

Возрастание численности и разнообразия культивируемых бактерий на глюкозо-пептонной среде по сравнению с численностью, наблюдаемой на модифицированной среде Чапека, выявленное в большинстве образцов, вероятнее всего обусловлено присутствием пептона и дрожжевого экстракта в составе среды ГПД, которые выступают в качестве источников незаменимых факторов роста и способствуют развитию широкого спектра бактерий, в том числе ауксотрофных. Было показано, что на питательных средах, содержащих подобные компоненты, развивается более высокое разнообразие культивируемых бактерий (Barer, 1997; Лысак и др., 2003). Обратная ситуация повышения численности культивируемых клеток на модифицированной среде Чапека по сравнению со глюкозо-пептонно-дрожжевой средой, выявленная в сообществах, выделенных из морены [Nz 1] и льда [Nz 2] архипелага Новая Земля, по-видимому, обусловлена преобладанием в сообществах этих образцов прототрофных бактерий или же бактерий, предпочтительно развивающихся на используемых в этой среде источниках углерода.

#### **4.2 Численность метаболически активных *in situ* прокариот**

Численность метаболически активных прокариот в исследуемых образцах, выявленная методом флуоресцентной *in situ* гибридизации, варьировала в диапазоне  $10^5$ – $10^7$  клеток/г, что составляет от 0.08 до 6.73% от общей численности прокариот в исследуемых образцах (рис. 5). Наименьшая доля метаболически активных прокариот после увлажнения образца наблюдалась в образце поверхностного горизонта почвы, отобранной в пустыне Гибсона, где

она составляла 0.08% от общего числа прокариот, выявляемого методом эпифлуоресцентной микроскопии. Напротив, максимальная доля метаболически активных *in situ* прокариот выявлена образце мерзлой осадочной породы архипелага Северная Земля, где она составляла 6.73%.



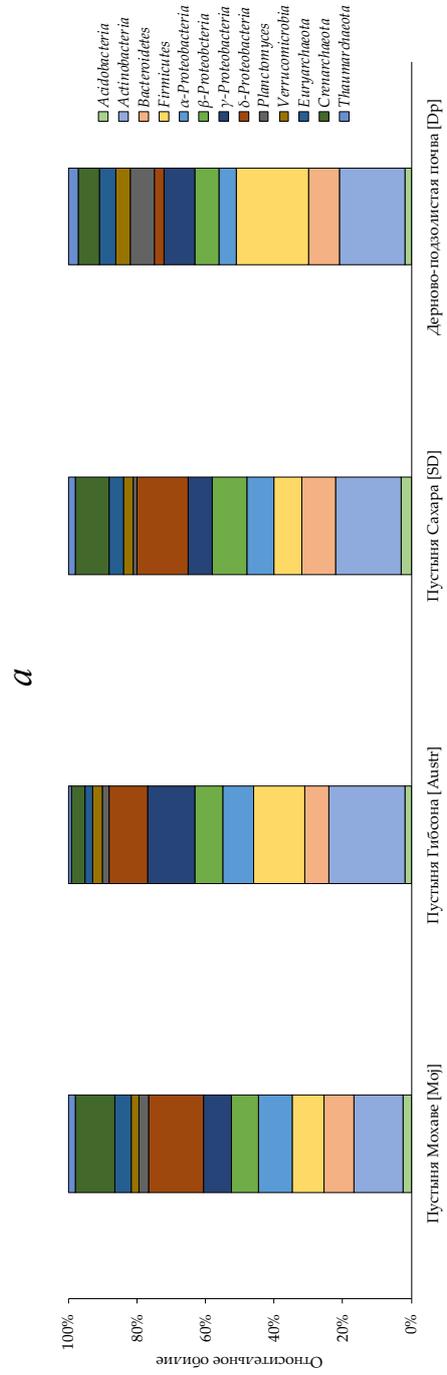
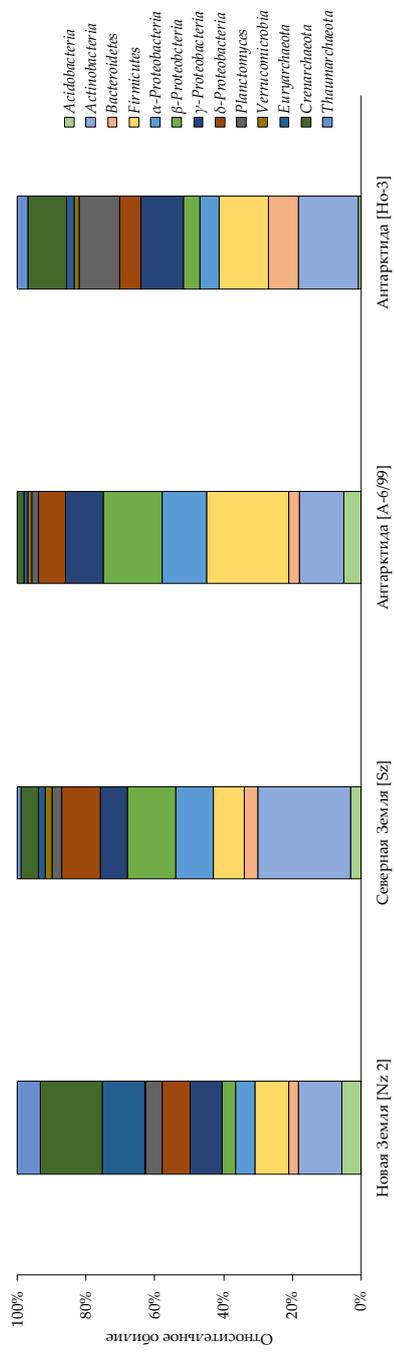
**Рисунок 5.** Значения общей численности и численности метаболически активных прокариотных клеток в образцах. Оранжевым цветом обозначена общая численность прокариотных клеток, зеленым – численность метаболически активных прокариот. Числовые значения под названиями образцов соответствуют доле метаболически активных клеток от общего числа прокариот. Планки погрешности обозначают доверительный интервал при  $p < 0.05$ . Условные обозначения образцов: Nz – мерзлые породы, Новая Земля, Sz – мерзлая порода, Северная Земля, A6/99 и Ho-3 – мерзлые породы, Антарктида, Moj – поверхностный горизонт почвы, пустыня Мохаве, Austr – поверхностный горизонт почвы, пустыня Гибсона, SD – поверхностный горизонт почвы, пустыня Сахара, Dp – горизонт А дерново-подзолистой почвы.

В целом, в образцах из крио-аридных экотопов, отобранных в арктическом регионе в метаболически активное состояние после оттаивания и увлажнения переходят 2% и более клеток от общего числа прокариот в образце. В антарктических образцах их доля более чем в два раза ниже и составляет менее 1% от общего числа прокариот. Среди сообществ жарких аридных пустынь наибольшая доля метаболически активных после увлажнения прокариот

выявлена в образце из пустыни Мохаве [Moj] (4.25%), в пустыне Сахара [SD] она составляет 1.22% от общего числа прокариот и достигает минимума в пустыне Гибсона (0.08%). В образце дерново-подзолистой почвы [Dp] доля метаболически активных прокариот составляет 1.26% от общего числа прокариот.

Анализ структуры метаболически активных *in situ* прокариотных сообществ после увлажнения образцов, (рис. 6) выявил преобладание представителей филумов *Proteobacteria* во всех образцах (от 24 до 49% от всех метаболически активных прокариот) и представителей филума *Actinobacteria* (от 13 до 27%). Метаболически активные археи выявлены в сообществах в количествах от 3 до 37% от общего числа метаболически активных клеток. Максимальная доля архей в метаболически активном прокариотном сообществе наблюдалась в образце морены и льда [Nz 2] архипелага Новая Земля.

В сообществах мерзлой породы архипелага Северная Земля [Sz], поверхностного горизонта почвы пустыни Гибсона и дерново-подзолистой почвы, выявлены наиболее высокие доля метаболически активных представителей филума *Actinobacteria* от 19 до 27% от общего числа метаболически активных прокариот. Метаболически активные представители филума *Firmicutes* наиболее многочисленны в сообществах мерзлоты долины Бикона и дерново-подзолистой почвы (24 и 21% от всех метаболически активных прокариот соответственно). В остальных образцах доля метаболически активных *in situ* представителей данного филума не превышает 15%.



**Рисунок 6.** Филогенетическая структура метаболически активных прокариотных комплексов в исследуемых образцах, а – сообщества крио-аридных образцов, б – сообщества почвенных образцов.

Метаболически активные представители филума *Acidobacteria* составляют малую долю от всех метаболически активных прокариот: наибольшее их число выявлено в образцах мерзлоты архипелага Новая Земля [Nz 2] и долины Бикона в Антарктиде [А-6/99], где они составляют 5% от общего числа метаболически активных прокариот. Метаболически активные представители филума *Bacteroidetes* в большинстве исследованных сообществ составляют 7-9% от всех метаболически активных прокариот. Минимальная доля представителей данного филума выявлена в сообществах мерзлых пород архипелагов Новая и Северная Земля [Nz 2, Sz] и долины Бикона [А6/99]. Метаболически активные представители филума *Planctomyces* в большинстве сообществ составляли 1-3% от общего числа метаболически активных прокариот. В сообществах мерзлоты архипелага Новая Земля и дерново-подзолистой почве их доля возрастала до 5 и 7%, соответственно, и достигала максимума в сообществе, выделенном из мерзлоты долины Тейлора [Но-3], где метаболически активные представители этого филума составляли 12% от общего числа метаболически активных прокариот. Метаболически активные представители филума *Verrucomicrobia* во всех образцах составляли 1-3%, достигая максимума в сообществе дерново-подзолистой почвы (4% от общего числа метаболически активных прокариот).

Доля метаболически активных прокариот, выявленная *in situ* после увлажнения образцов, составлявшая 0.36-6.73% от общего числа прокариот, согласуется с данными ранее проведенных исследований: в различных аридных образцах была показана численность метаболически активных прокариот на уровне  $10^4$ - $10^8$  клеток/г, что соответствует близким значениям численности, полученным в ходе данного исследования (Manucharova et al., 2016; La Ferla et al., 2017; Cheptsov et al., 2017; Idris et al., 2017; Baubin et al., 2019). В исследованных сообществах численность метаболически активных прокариот в среднем на 1-2 порядка выше численности культивируемых на питательных средах бактерий (см. раздел 4.1). Эти отличия в численности культивируемых на питательных средах и метаболически активных *in situ*

прокариот, по-видимому, обусловлены низким содержанием углерода органического вещества в исследуемых образцах (таблица 2). В пользу этой гипотезы свидетельствует обнаружение филогенетически разнообразного метаболически активного прокариотного комплекса выявленного *in situ* в образце почвы, отобранной в пустыне Мохаве [Mo], характеризующейся содержанием углерода органического вещества 0.6% (максимальное значение среди исследованных образцов).

Низкие доли метаболически активных прокариот после увлажнения, наблюдаемые в почве пустыни Гибсона [Austr] и антарктической мерзлоте долины Бикона [A6/99], по-видимому, связаны с глубиной метаболического покоя прокариот в данном микробном комплексе и скоростью выхода из этого состояния. Вероятно, к моменту фиксации клеток и их дальнейшей гибридизации многие прокариоты еще не перешли в метаболически активное состояние и, следовательно, не дали положительной реакции при анализе. Другим объяснением наблюдаемых результатов может быть лимитирующая развитие сообществ роль других факторов, например, потребность в поступлении органических веществ или высокая доля анаэробных клеток в этих сообществах, которые не переходят в метаболически активное состояние в этих условиях. В то же время, напротив, высокая доля метаболически активных прокариот, выявленная в увлажненных образцах мерзлоты архипелагов Новая Земля [Nz] и Северная Земля [Sz], вероятно, обусловлена меньшим временем криогенной консервации сообществ и флуктуациями температур вплоть до температур плавления льда. Упомянутое ранее относительно высокое содержание углерода органического вещества и наступление благоприятных для жизнедеятельности микроорганизмов температурно-влажностных условий в течение года может объяснять высокую долю метаболически активных прокариот в почве пустыни Мохаве [Mo]. В рамках проведенного исследования невозможно однозначно выявить факторы определяющие переход прокариот в метаболически активное состояние *in situ*.

Ранее проведенные работы по изучению соотношения общей численности прокариот и доли метаболически активных представителей в почвах, отличающихся уровнем влажности, в том числе и в пустынных почвах, показали схожие результаты: на основании анализа различий между общим числом копий и числом копий обратно-транскрибированных генов 16S рРНК было выявлено, что соотношение метаболически активных прокариот в 3-20 раз ниже, чем общее число прокариот, причем, в основном, отличия обусловлены метаболически неактивными представителями домена *Bacteria*, и наблюдалась положительная корреляция между численностью и разнообразием метаболически активного сообщества и влажностью почв (Angel et al., 2013).

Относительно быстрый переход (24 часа) высокой доли прокариот в метаболически активное состояние при увлажнении, вероятно, является адаптивной стратегией для выживания и функционирования исследуемых сообществ. Быстрая реактивация и возвращение в метаболически активное состояние *in situ* могут способствовать эффективному использованию благоприятного температурно-влажностного режима для питания и размножения прокариот в составе сообществ. Данная стратегия реактивации сообщества может быть адаптивной в жарких аридных экотопах, где сезонная динамика внешних условий, оказывающих влияние на развитие и функционирование прокариотных комплексов в включает в себя периоды пика выпадения атмосферных осадков, а также быстрого развития и отмирания растений, которые могут приводить к скачкообразным индуцированным возрастаниям численности прокариот в периоды увлажнения и дальнейшему их сохранению (Makhalanyane et al., 2015). Наблюдаемые соотношения численности метаболически активных прокариот после увлажнения и их общей численности в большинстве образцов находятся на уровне большем или равном таковому в образце дерново-подзолистой почвы [Dp]. Дерново-подзолистые почвы не испытывают дефицита влаги.

Таким образом, результаты свидетельствуют о высокой потенциальной микробиологической активности исследованных аридных почв и пород.

Высокая доля представителей филумов *Proteobacteria* и *Actinobacteria* в метаболически активном сегменте комплексов прекрасно согласуется с имеющимися данными об их численности в различных почвах, в том числе и в аридных экосистемах. Представители этих филумов занимают доминантные позиции в прокариотных сообществах жарких аридных и крио-аридных почв и пород (Camacho, 2006; Angel et al., 2013; Jansson et al., 2014). Среди представителей этих филумов, особенно филума *Actinobacteria*, известны экстремотолерантные виды (van Gestel et al., 2013; Mohammadipanah et al., 2016; Sayed et al., 2020) устойчивые к высушиванию, высоким уровням ультрафиолетового излучения, флуктуациям температур и низкой доступности воды, что может объяснять их преобладание в рассматриваемых сообществах. Аналогичные выводы были сделаны ранее и для культивируемых бактериальных сообществ почв, приуроченных к различным климатическим зонам (Добровольская, 2002).

Высокие доли метаболически активных архей в почвах жарких пустынь Мохаве и Сахара и преобладание среди них представителей филума *Crenarchaeota* ранее было показано для пустынных почв (Angel et al., 2013), в которых доля архей обычно выше, по сравнению с вечномерзлыми почвами и породами (Jansson et al., 2014), и именно представители этих филумов являются доминирующими (Fierer et al., 2012). Максимальная доля метаболически активных представителей филума *Crenarchaeota*, выявленная в образце мерзлоты архипелага Новая Земля [Nz2], может быть обусловлена спецификой микробных сообществ арктических ледников, для которых ранее было показано преобладание представителей данного филума среди архей (Steven et al., 2008; Wilhelm et al., 2011). В прокариотных сообществах почв не экстремальных экосистем, доля представителей этого филума составляет от 0.5 до 3% (Ochsenreiter et al., 2003).

Низкая численность метаболически активных *in situ* представителей филумов *Verrucomicrobia* и *Planctomyces* в исследуемых почвах и осадочных породах может объясняться их приуроченностью к экосистемам, не испытывающим дефицита влаги и питательных веществ (Buckley et al., 2006; Bergmann et al., 2011). Наибольшая доля представителей филума *Planctomyces*, выявленная в образце мерзлоты долины Тейлора [Но-3] согласуется с исследованиями содержания представителей этого филума в антарктических осадочных породах, где они могут выступать в качестве доминантной группы и их численность коррелирует с количеством органического вещества и нитрат- и нитрит-ионов (Cho et al., 2017). Среди исследуемых образцов наибольшее содержание нитрат-иона зарегистрировано именно в образце, отобранном в долине Тейлора [Но-3], что может объяснять полученный результат.

Таким образом, во всех исследованных сообществах обнаружены метаболически активные представители всех исследованных филумов и классов прокариот. Однако, структура метаболически активных *in situ* прокариотных комплексов различна: при преобладании представителей филумов *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Firmicutes*, их доли в сообществах различаются в несколько раз между образцами. Среди архей во всех исследованных образцах доминировали представители филума *Crenoarchaeota*.

#### **4.3 Мультисубстратное тестирование бактериальных сообществ исследуемых образцов почв и пород**

В ходе мультисубстратного тестирования выявлены различные уровни интенсивности потребления субстратов сообществами различных образцов: наибольшее число потребляемых субстратов выявлено для сообществ образцов, отобранных в пустынях Мохаве [MoJ] и Сахара [SD], а также на архипелаге Новая Земля [Nz 2]. Микробное сообщество образца дерново-

подзолистой почвы потребляло 12 субстратов; микробные сообщества почвы пустыни Гибсона [Austr], а также мерзлоты архипелага Северная Земля [Sz] и Антарктиды [А-6/99 и Но-3] потребляли менее 12 субстратов (Таблица 3).

Наибольшие показатели удельной метаболической работы при мультисубстратном тестировании выявлены у сообществ почв пустынь Мохаве и Сахара. Сообщества крио-аридных пород проявили удельную метаболическую работу убывающую в ряду от арктических (Новая и Северная Земля) к Антарктическим (долины Бикона и Тейлора). Микробное сообщество дерново-подзолистой почвы продемонстрировало удельную метаболическую работу на уровне 0.96 условных единиц, близкие значения выявлены для сообществ долины Тейлора Антарктиды [Но-3] и пустыни Гибсона (Таблица 3).

Спектры потребления субстратов сообществами приведены на рисунке 7. Наибольшее разнообразие потребляемых субстратов наблюдалось для жарких аридных пустынь Мохаве и Сахара: эти сообщества характеризуются близкими значениями интенсивности потребления исследуемых субстратов и наиболее интенсивно потребляют гексозы. Сообщество пустыни Мохаве, кроме гексоз, интенсивно потребляет аминокислоты и нуклеозиды, а сообщество пустыни Сахара характеризуется также интенсивным потреблением олигосахаридов.

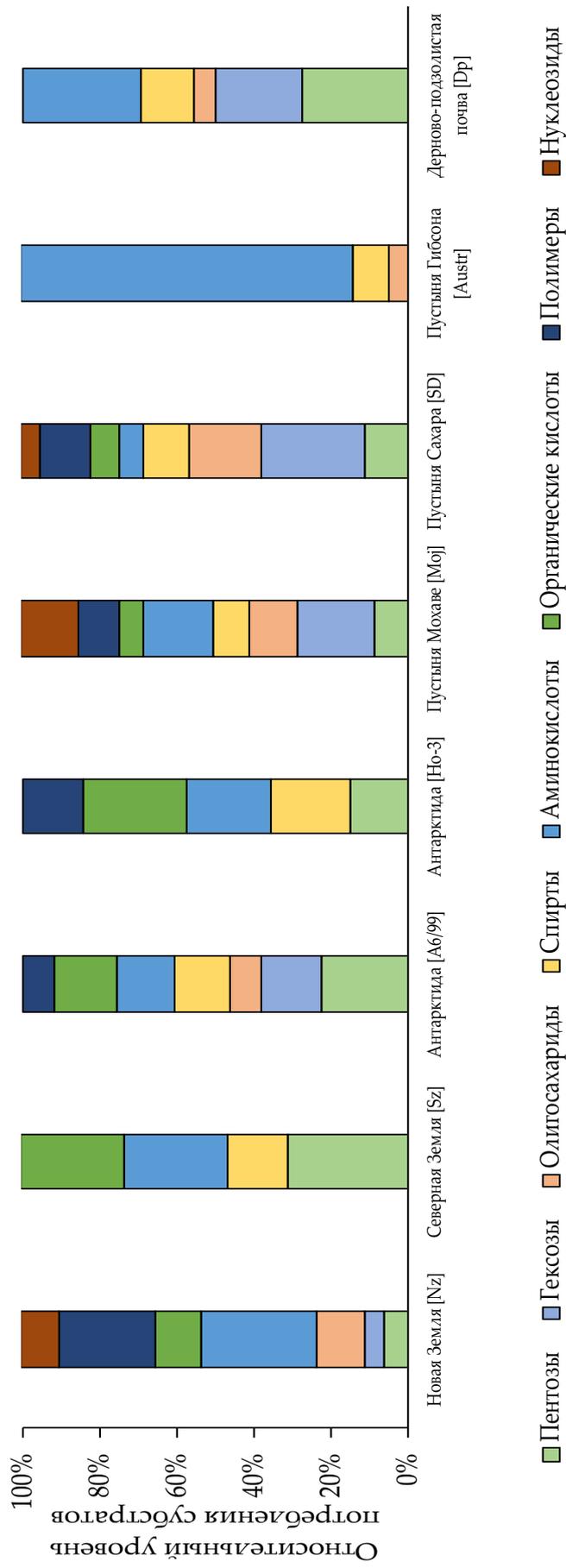
В образцах пород, отобранных в крио-аридных областях, выявлено снижение разнообразия ассимилируемых субстратов в ряду: породы архипелага Новая Земля [Nz 2], Сухих Долин Антарктиды [А6/99, Но-3], архипелага Северная Земля [Sz]. Микробные сообщества архипелага Новая Земля наиболее активно потребляют аминокислоты и полимеры, архипелага Северная Земля – пентозы, аминокислоты и соли органических кислот; сообщество мерзлоты Долины Бикона преимущественно потребляет пентозы и характеризуется широким спектром ассимилируемых субстратов, сообщество мерзлоты Долины Тейлора, напротив, потребляет в основном соли

органических кислот, аминокислоты, спирты (около 20% от суммарного уровня потребления для каждой группы соединений).

Сообщества жарких аридных почв пустынь Мохаве [Moj] и Сахара [SD] характеризуются широким спектром потребляемых субстратов с преимущественным потреблением гексоз, олигосахаридов и аминокислот. Микробное сообщество поверхностного горизонта почвы пустыни Гибсона [Austr], преимущественно ассимилирует аминокислоты (86% от суммарного потребления субстратов сообществом).

Показатели экологического разнообразия микробных сообществ, рассчитанные по результатам мультисубстратного тестирования представлены в таблице 3.

Значения коэффициента выравниваемости, рассчитанные по результатам мультисубстратного тестирования микробных сообществ, в образцах антарктических мерзлых пород [A6/99 и Но-3], а также поверхностного горизонта почвы пустыни Сахара составляют 0.9 и более единиц, что свидетельствует об относительно равной представленности различных функциональных групп в данных сообществах. Наиболее функционально разнообразными по результатам мультисубстратного тестирования являются микробные сообщества почвы пустыни Мохаве [Moj], мерзлоты архипелага Новая Земля [Nz2], мерзлоты Сухих Долин Антарктиды [A6/99 и Но-3] и почвы пустыни Сахара [SD].



**Рисунок 7.** Спектры потребления субстратов сообществами, полученные при мультисубстратном тестировании

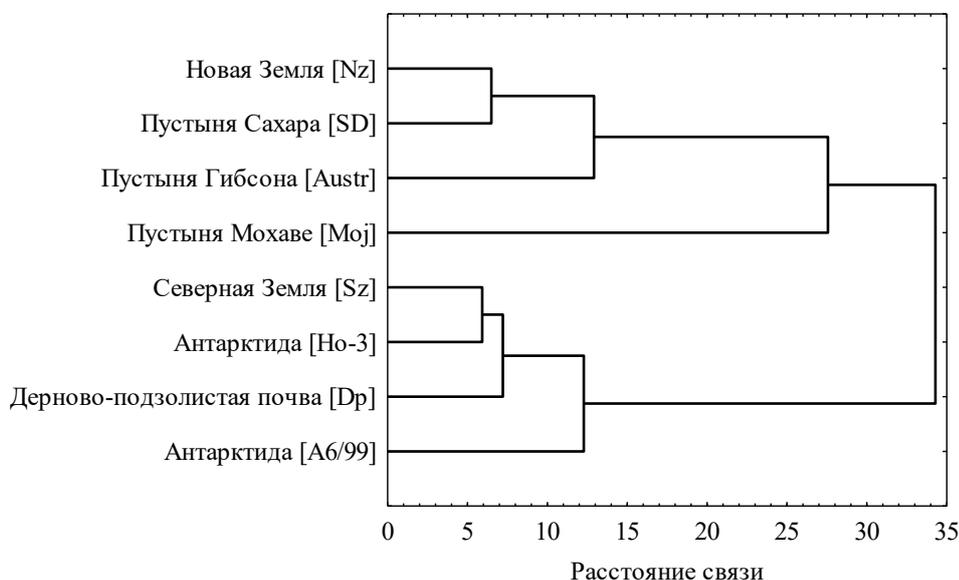
Для микробных сообществ этих образцов индекс Шеннона составляет 3.02-3.93 единицы. Индекс Шеннона для микробного сообщества дерново-подзолистой почвы составляет 2.37 единицы. Таким образом, можно сделать вывод, что в большинстве исследованных образцов почв и осадочных пород аридных экосистем функциональное разнообразие микробных сообществ выше, чем в почве умеренной зоны, однако, представленность различных функциональных групп носит неравномерный характер.

**Таблица 3.** Показатели экологического разнообразия микробных сообществ, рассчитанные по результатам мультисубстратного тестирования.

Образец, место отбора	Показатели экологического разнообразия микробных сообществ			
	Число потребляемых субстратов	Удельная метаболическая работа, W	Индекс Шеннона, H	Выровненность, E
Новая Земля [НЗ 2]	17	3,64	3,91	0,45
Северная Земля [Sz]	7	2,33	0,93	0,25
Антарктида [А-6/99]	11	1,12	3,11	0,90
Антарктида [Но-3]	11	0,64	3,37	0,98
Пустыня Мохаве [Moj]	38	4,84	3,93	0,50
Пустыня Сахара [SD]	25	1,11	3,02	0,91
Пустыня Гибсона [Austr]	10	4,30	0,73	0,37
Дерново-подзолистая почва [Dp]	12	0,96	2,37	0,94

Кластерный анализ, выполненный для полученных спектров потребления субстратов (рис. 8) разделяет исследованные микробные сообщества на две подгруппы. Первая подгруппа включает в себя почвы аридных пустынь и мерзлоту архипелага Новая Земля, что, по-видимому, связано с высокими

показателями функционального и таксономического разнообразия (см. раздел 4.5) данных сообществ. Вторая подгруппа, включающая в себя сообщества арктических и антарктических мерзлых пород и дерново-подзолистой почве, характеризуется не высокими показателями функционального и таксономического разнообразия.



**Рисунок 8.** Результаты кластерного анализа данных мультисубстратного тестирования исследованных образцов

Выявленная во всех сообществах высокая активность потребления аминокислот хорошо согласуется с результатами культивирования на плотных питательных средах, в ходе которых было выявлено увеличение численности колониобразующих единиц на питательных средах, содержащих разнообразные олигопептиды и дрожжевой экстракт, выступающие в качестве ростовых факторов. Расширение спектра потребляемых субстратов, выявленное у сообществ наиболее контрастных аридных экотопов (в пределах исследуемой выборки) может свидетельствовать о таксономическом разнообразии прокариот в них. На это также косвенно указывают результаты, полученные в ходе культивирования на плотных питательных средах и идентификации культивируемых бактерий в сообществах этих образцов (см. раздел 4.5). Для микробных сообществ жарких аридных экосистем потребление широкого спектра субстратов с преимущественным

потреблением аминокислот и различных углеводов было показано в литературе ранее (Garcia et al., 2018).

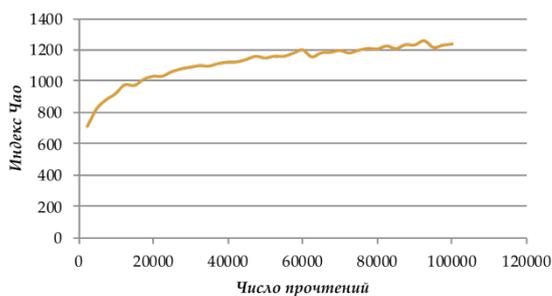
Слабая реакция при мультисубстратном тестировании, выявленная у сообщества пустыни Гибсона, вероятно обусловлена высокой долей прототрофных бактерий в нем, нуждающихся в дополнительных факторах роста. Их отсутствие в составе среды препятствует развитию большинства бактерий, а в совокупности с другими источниками углерода (например, в составе глюкозо-пептонно-дрожжевой питательной среды) позволяет культивировать разнообразные в таксономическом отношении сообщества.

#### **4.4 Филогенетическая структура бактериального комплекса мерзлой осадочной породы архипелага Новая Земля *in situ***

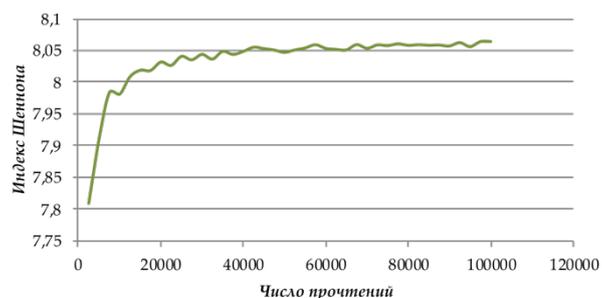
Анализ структуры бактериального комплекса *in situ* был проведен для образца морены и льда [Nz 2], отобранного на севере Северного острова архипелага Новая Земля, прокариотные сообщества которого ранее не были исследованы.

В ходе высокопроизводительного секвенирования тотальной ДНК, выделенной из мерзлоты архипелага Новая Земля, было получено 322 714 парноконцевых прочтения, после удаления некачественных прочтений и объединения прочтений были картированы 173906 прочтений, на основании анализа которых реконструировалась структура бактериального сообщества.

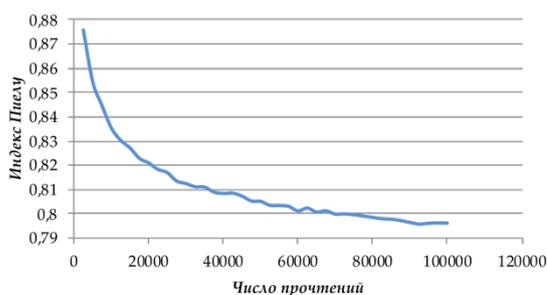
Значения рассчитанных индексов биологического разнообразия свидетельствуют о том, что полученное количество прочтений нуклеотидных последовательностей полностью покрывало биоразнообразие бактерий, к исследованного образца (рис.9). Диаграмма структуры сообщества представлена на рисунках 10 и 11.



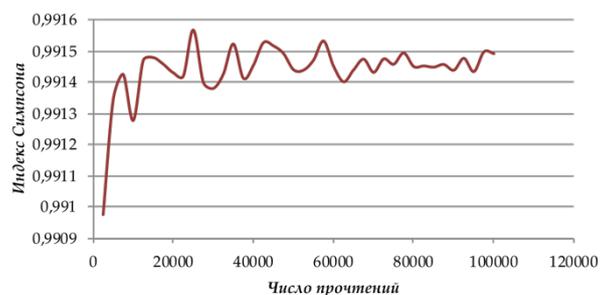
а



б



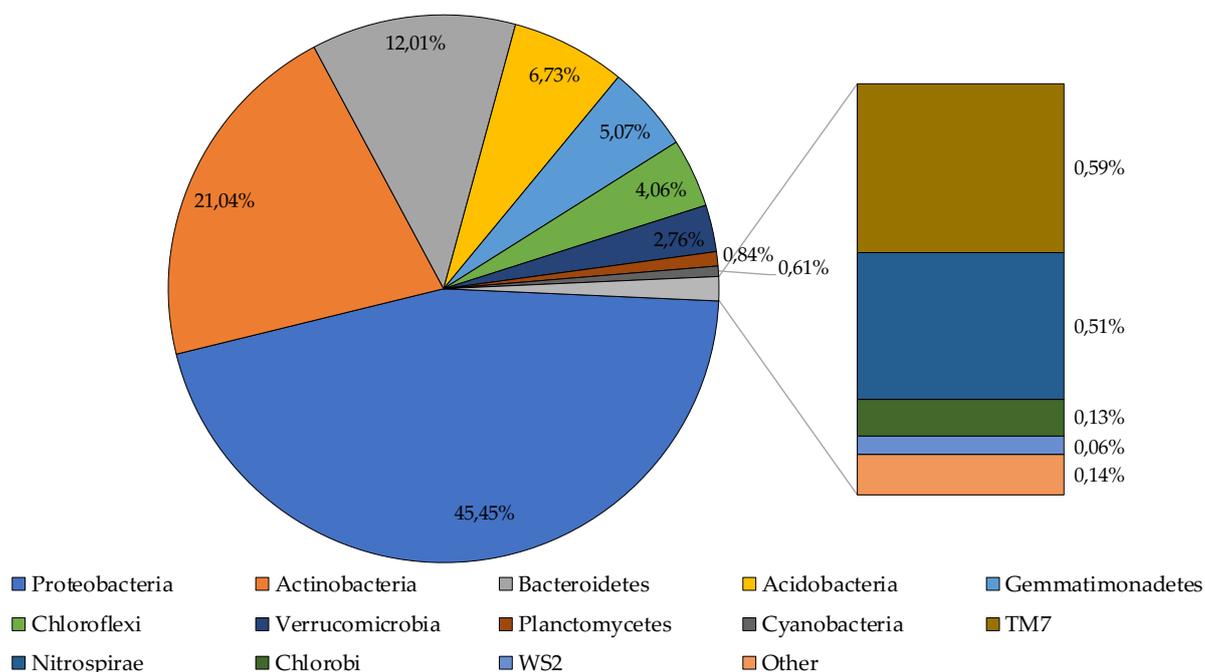
в



г

**Рисунок 9.** Рарефакторные кривые индексов Чао (а), Шеннона (б), Пиелу (в) и Симпсона (г), полученные при секвенировании тотальной ДНК образца мерзлоты [Nz 2]

В доминантных позициях идентифицированы представители филума *Proteobacteria* (45.5%), представители филума *Actinobacteria* составляли 21.0% от всех полученных последовательностей. Представители филумов *Bacteroidetes* и *Acidobacteria* составляли 12.0 и 6.7% комплекса соответственно. Представители филумов *Gemmatimonadetes*, *Chloroflexi*, *Verrucomicrobia* составляли 5% и менее каждый. Доля в сообществе представителей всех остальных бактериальных филумов составляет суммарно менее 1% (рис.10).



**Рисунок 10.** Структура бактериального комплекса мерзлой породы архипелага Новая Земля на уровне филумов.

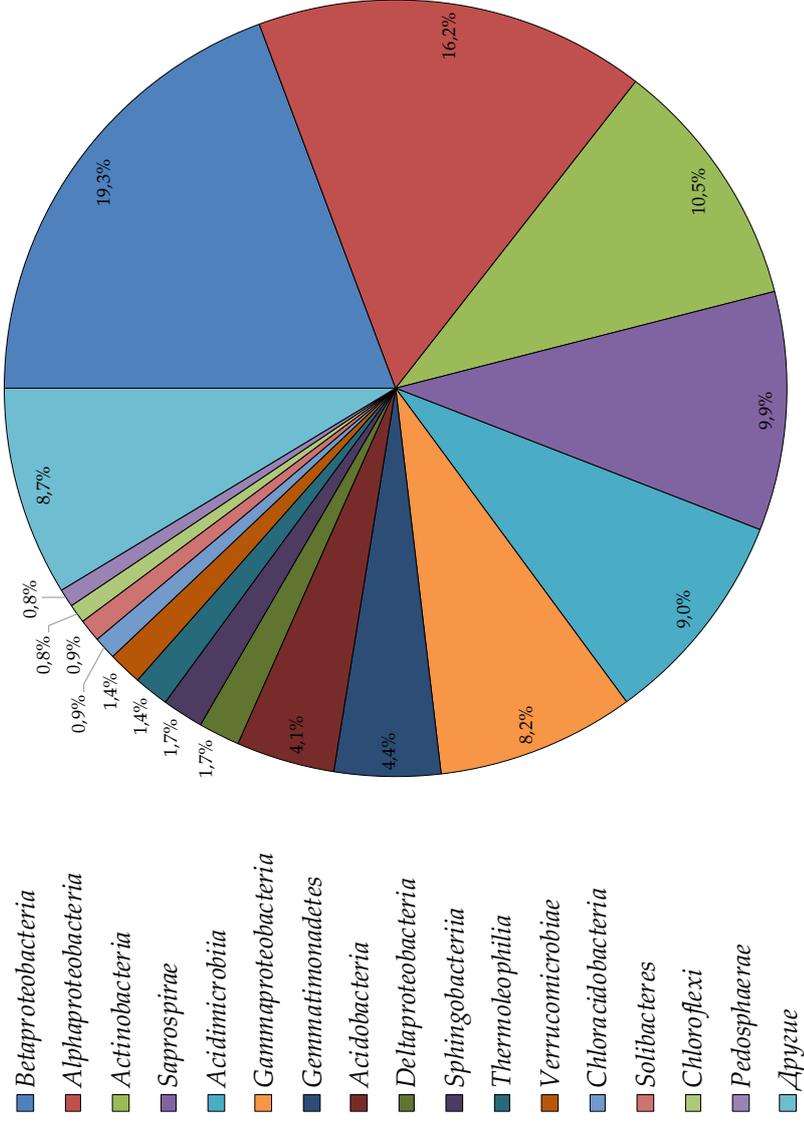
В структуре бактериального комплекса мерзлоты архипелага Новая Земля, выявлены представители 37 классов бактерий, среди которых доминировали представители классов  $\alpha$ -*Proteobacteria*,  $\beta$ -*Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Saprospirae*, *Acidimicrobiia*,  $\gamma$ -*Proteobacteria* (рис. 11).

Индекс Шеннона бактериального сообщества *in situ*, рассчитанный по данным метагеномного анализа на уровне филумов составлял 7.99, индекс Чао составлял 1109, индекс выровненности – 0.79.

Выявленные при метагеномном анализе структуры бактериального комплекса *in situ* образца морены и льда [Nz 2] архипелага Новая Земля доминирующие филумы бактерий типичны для различных мерзлых почв и пород (Jansson et al., 2014). Преобладание представителей филума *Actinobacteria* наблюдается в различных мерзлых и жарких аридных почвах. Причиной этого, как уже упоминалось ранее, по-видимому, является широкая распространенность среди представителей этого филума различных механизмов устойчивости к широкому спектру стрессовых воздействий

(Goodfellow et al., 2018; Idris et al., 2017; Horikoshi et al., 2010). Преобладание представителей филума *Proteobacteria* в бактериальном сообществе *in situ* ранее было выявлено в бактериальных сообществах мерзлых почв и пород Канадской Арктики и в отдельных антарктических мерзлых породах (Steven et al., 2008; Blanco et al., 2012).

Индексы альфа-разнообразия сообщества, рассчитанные по данным высокопроизводительного секвенирования на уровне рода, свидетельствуют о высоком биоразнообразии бактериального сообщества исследованного образца и неравномерной представленности представителей различных таксонов, что согласуется с результатами мультисубстратного тестирования и культивирования бактерий из этого образца. Аналогичные результаты ранее были получены для бактериальных сообществ некоторых мерзлых почв и пород (Miteva, 2008). Полученные значения индекса Чао сопоставимы с таковыми, полученными для бактериальных сообществ гренландских льдов и многолетней мерзлоты Шпицбергена, однако, в таксономическом отношении сходство между этими сообществами и исследованным нами невелики (Miteva et al., 2015; Müller et al., 2018).



**Рисунок 11.** Филогенетическая структура бактериального комплекса мерзлой породы архипелага Новая Земля на уровне классов. Группа “Другие” включает в себя представителей классов *Spartobacteria*, *Nitrospira*, *Planctomycetia*, *Chloroplast*, *Anaerolineae*, *Phycisphaerae*, *Thermomicrobia*, *Flavobacteriia*, *Oscillatoriorhycideae*, *Cytophagia*, *Opiritae*, *Fibrobacteria*, *Clostridia*, *Synechococcophycideae*, *Bacilli*, *Fimbriimonadia*, *Vacteroidia*, *Nitriliruptoria*, *Rubrobacteria*, *Acidobacteriia*, *Deinococci*, чья доля в сообществе была 0.5% и менее.

#### 4.5 Структура сообществ культивируемых бактерий

В сообществах культивируемых бактерий, выделенных из исследуемых образцов, (рис. 12) выявлены представители филумов *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* и *Bacteroidetes*, причем в большинстве сообществ представители филума *Actinobacteria* являлись доминантными.

В сообществах, выделенных из крио-аридных образцов, отобранных в арктических регионах, субдоминантные позиции занимали представители филума *Proteobacteria*, достигавшие доминантных позиций в сообществах, выделенных при температуре 10°C из образцов морены [Nz 1] и льда [Nz 2] архипелага Новая Земля. В сообществах культивируемых бактерий, выделенных из долины Бикона [А-6/99], выявлены представители филумов *Actinobacteria* и *Proteobacteria*, а в сообществах, выделенных из долины Тейлора [Но-3], субдоминантные позиции занимали представители филума *Firmicutes*, в то время как *Proteobacteria* занимали минорные позиции.

Схожая структура наблюдалась в сообществах культивируемых бактерий, выделенных из почв жарких аридных пустынь и дерново-подзолистой почвы: доминируют в сообществах представители филума *Actinobacteria* (в сообществе, выделенном при 10°C на среде ЧМ обнаружены только представители данного филума), субдоминантные позиции в сообществах занимали представители филумов *Firmicutes* и *Proteobacteria*. Закономерностей во встречаемости представителей филума *Bacteroidetes* в сообществах культивируемых бактерий, выделенных из исследованных сообществ, не выявлено.



Доминирование в сообществах культивируемых бактерий представителей филумов *Actinobacteria*, *Firmicutes* и *Proteobacteria* является предсказуемым: метагеномные данные о структуре прокариотных сообществ аридных почв *in situ*, а также данные проведенных исследований сообществ культивируемых бактерий, выделенных из многолетне-мерзлых пород и пустынных почв свидетельствуют о высокой численности и разнообразии представителей данных филумов в подобных образцах (Drees et al., 2006; Vishnivetskaya et al. 2006; Hansen et al., 2007; Kim et al., 2013; Meola et al., 2015; Bay et al., 2018). Преобладание представителей филума *Actinobacteria* в исследованных сообществах ожидаемо: представители этой филогенетической группы хорошо культивируются на лабораторных средах, проявляют высокую устойчивость к засухе и окислительному стрессу и часто выделяются в качестве доминант из различных аридных почв (Mohammadipanah et al., 2016; Idris et al., 2017). Было показано, что периодическое замораживание-оттаивание и криогенное высушивание клеток приводят к повреждению ДНК и возникновению окислительных процессов в клетке (Муkytczuk et al., 2013), к которым адаптированы многие представители этого филума (Bull, 2011). Высокая доля представителей этого филума в сообществах низкотемпературных экосистем может также объясняться их способностью сохранять метаболическую активность при низких температурах и способностью к репарации ДНК в этих условиях (Makhalanyane et al., 2016).

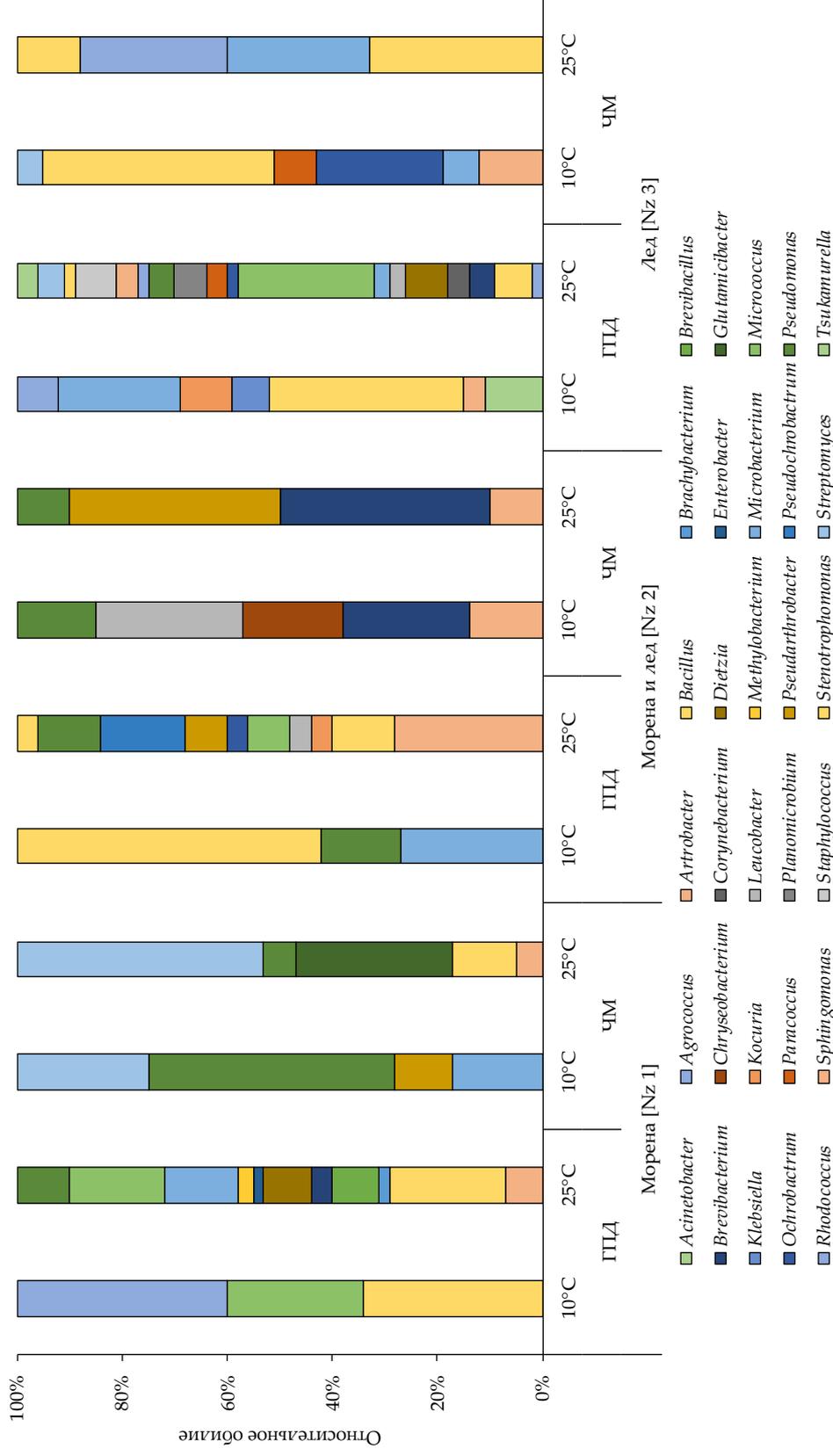
Высокая доля представителей филума *Firmicutes* в бактериальных сообществах экстремальных экосистем может объясняться их способностью к формированию экзоспор, отличающихся чрезвычайной устойчивостью к различным стрессовым воздействиям и большей устойчивостью к низкотемпературным условиям (Jansson et al., 2014).

Среди представителей филума *Proteobacteria* известны термотолерантные, ацидо- и алкало-толерантные виды, часто выделяющиеся из различных экстремальных природных сред и занимающие доминантные и

субдоминантные позиции (Canganella et al., 2006; Lewin et al., 2013). Относительно низкая их доля в культивируемых сообществах может объясняться широким распространением среди этого филума анаэробных, олиготрофных и хемолитоавтотрофных (*ε-Proteobacteria*) бактерий, которые не культивируются на использованных средах (Oarga, 2009; Spain et al., 2009).

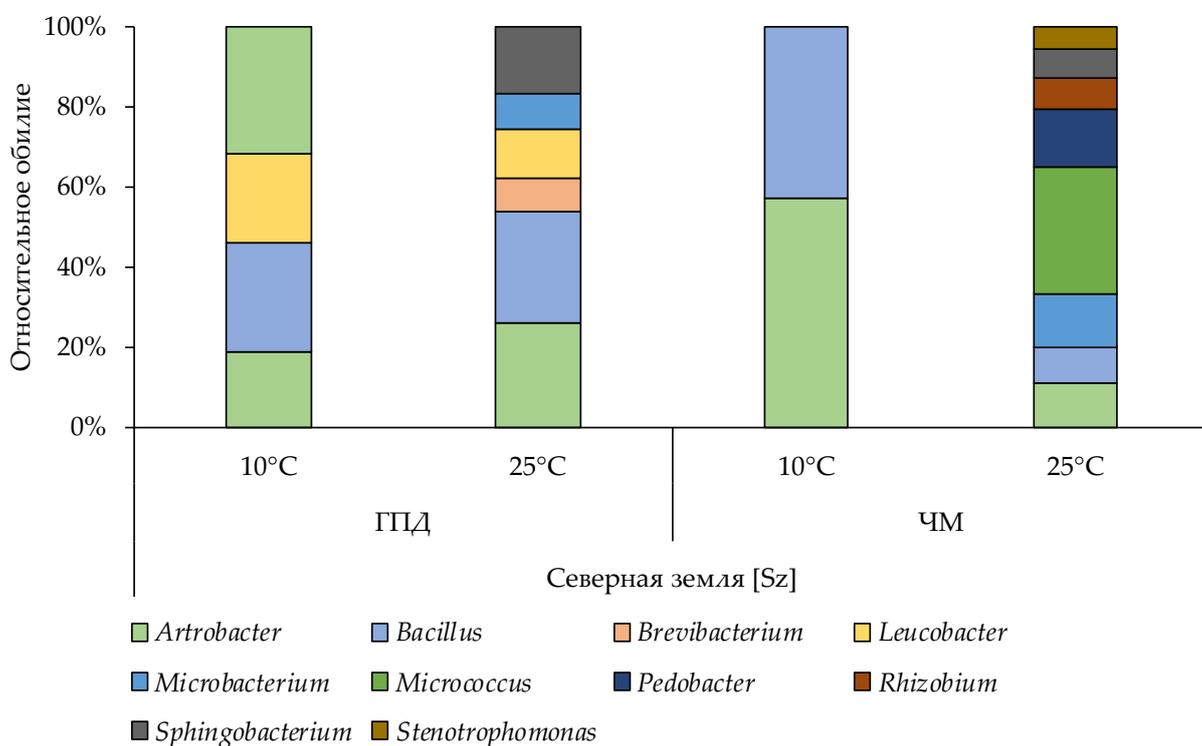
В сообществах культивируемых бактерий, выделенных из образцов, отобранных на Северном острове архипелага Новая Земля [Nz 1-3] наблюдалось высокое разнообразие бактерий (рис. 13): сообществах идентифицированы представители 30 родов аэробных гетеротрофных бактерий.

Наиболее сложная структура сообществ, включающая в себя представителей многих родов бактерий, выявлена в сообществах, выделенных на среде ГПД, инкубированных при 25°C. В аналогичных температурных условиях на среде ЧМ репродуцировали в среднем в два раза менее разнообразные по родовому обилию сообщества. Среди изученных сообществ, наибольшее разнообразие культивируемых бактерий выявлено в образце ледникового льда [Nz 3]. Среди культивируемых бактерий, выделенных из образцов мерзлоты архипелага Новая Земля были обнаружены представители родов *Stenotrophomonas*, *Corynebacterium*, *Klebsiella*, *Dietzia*, *Leucobacter* со сходством нуклеотидных последовательностей с базами данных 97% и менее, что может указывать, что упомянутые штаммы могут быть представителями не описанных ранее видов.



**Рисунок 13.** Структура сообществ культивируемых бактерий, выделенных из образцов, отобранных на архипелаге Новая Земля. ГПД – сообщества, выделенные на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде; ЧМ – сообщества, выделенные на модифицированной среде Чапека. Температура на диаграмме указывает температуру инкубации, при которой были выделены данные сообщества.

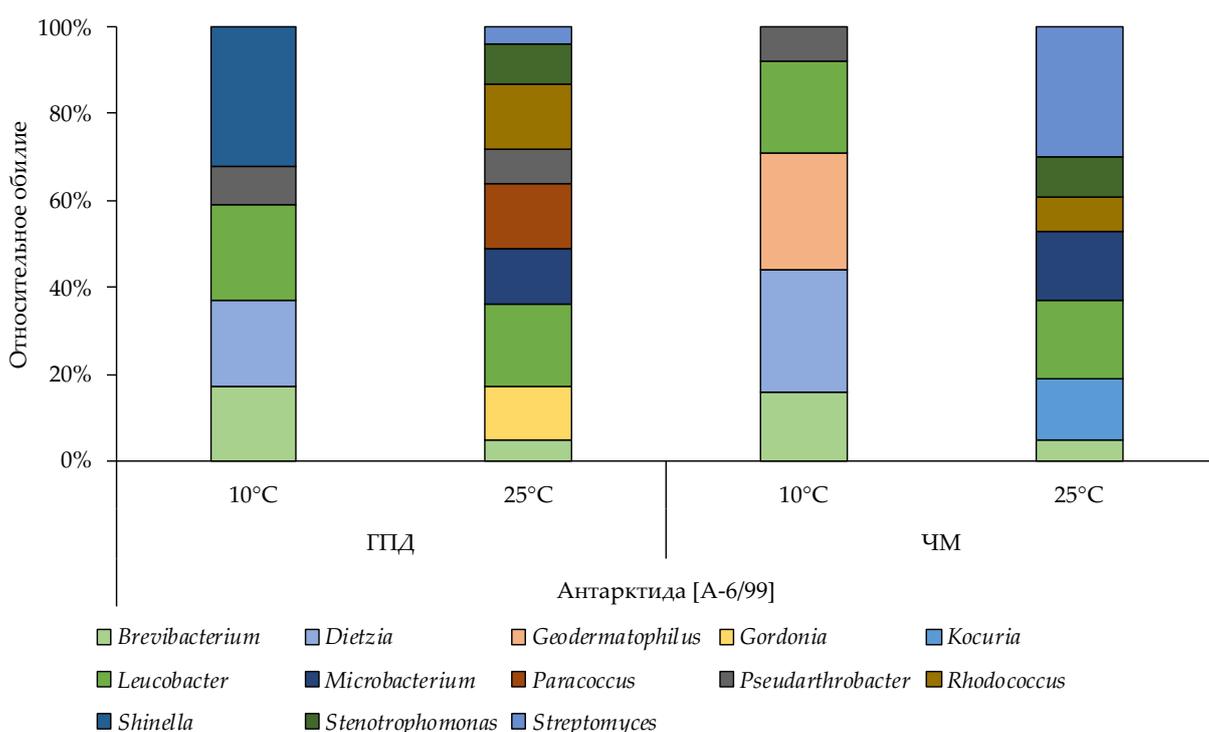
Сообщества культивируемых бактерий, выделенных из мерзлой осадочной породы архипелага Северная Земля [Sz], характеризовались низким таксономическим разнообразием: идентифицированы представители 10 родов бактерий (рис. 14). Во всех сообществах, выделенных из этого образца, выявлены представители родов *Arthrobacter* и *Bacillus*. В сообществах, выделенных на питательной среде ГПД при обеих температурах, присутствовали представители рода *Leucobacter*. На среде ГПД при 25°C выявлены представители рода *Brevibacterium*, а на среде ЧМ при той же температуре инкубации культивировались представители родов *Stenotrophomonas*, *Rhizobium* и *Pedobacter*, не обнаруженные в других сообществах.



**Рисунок 14.** Структура сообществ культивируемых бактерий, выделенных из образца, отобранного на архипелаге Северная Земля. ГПД – сообщества, выделенные на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде; ЧМ – сообщества, выделенные на модифицированной среде Чапека. Температура на диаграмме указывает температуру инкубации, при которой были выделены данные сообщества.

Как и в случае с сообществами культивируемых бактерий, выделенных из мерзлых образцов архипелага Новая Земля, наблюдалось увеличение разнообразия сообществ при температуре 25°C по сравнению с 10°C, а также на среде ГПД по сравнению со средой ЧМ.

Умеренно разнообразные сообщества культивируемых бактерий были выделены из образца антарктической мерзлоты, отобранной в долине Бикона [А-6/99]. На использованных питательных средах репродуцировали представители 13 родов аэробных гетеротрофных бактерий (рис. 15).

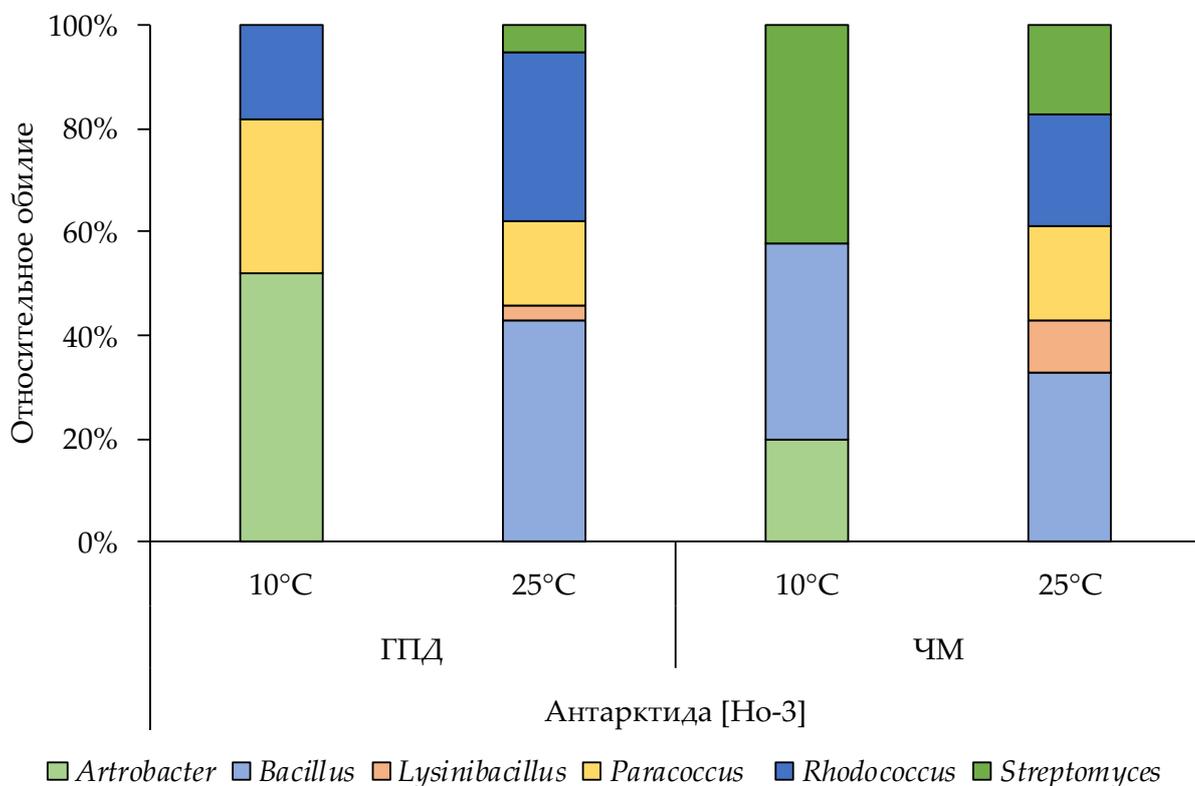


**Рисунок 15.** Структура сообществ культивируемых бактерий, выделенных из образца, отобранного в долине Бикона в Антарктиде [А6/99]. ГПД – сообщества, выделенные на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде; ЧМ – сообщества, выделенные на модифицированной среде Чапека. Температура на диаграмме указывает температуру инкубации, при которой были выделены данные сообщества.

Во всех сообществах идентифицированы представители родов *Brevibacterium* и *Leucobacter*; только в сообществах, инкубированных при низких температурах (10°C), выявлены представители рода *Dietzia*. Только в составе сообществ, выделенных при 25°C, обнаружены представители родов

*Streptomyces*, *Rhodococcus*, *Stenotrophomonas* и *Microbacterium*. В сообществах наблюдались ранее указанные закономерности относительного возрастания разнообразия при температуре 25°C и на среде ГПД.

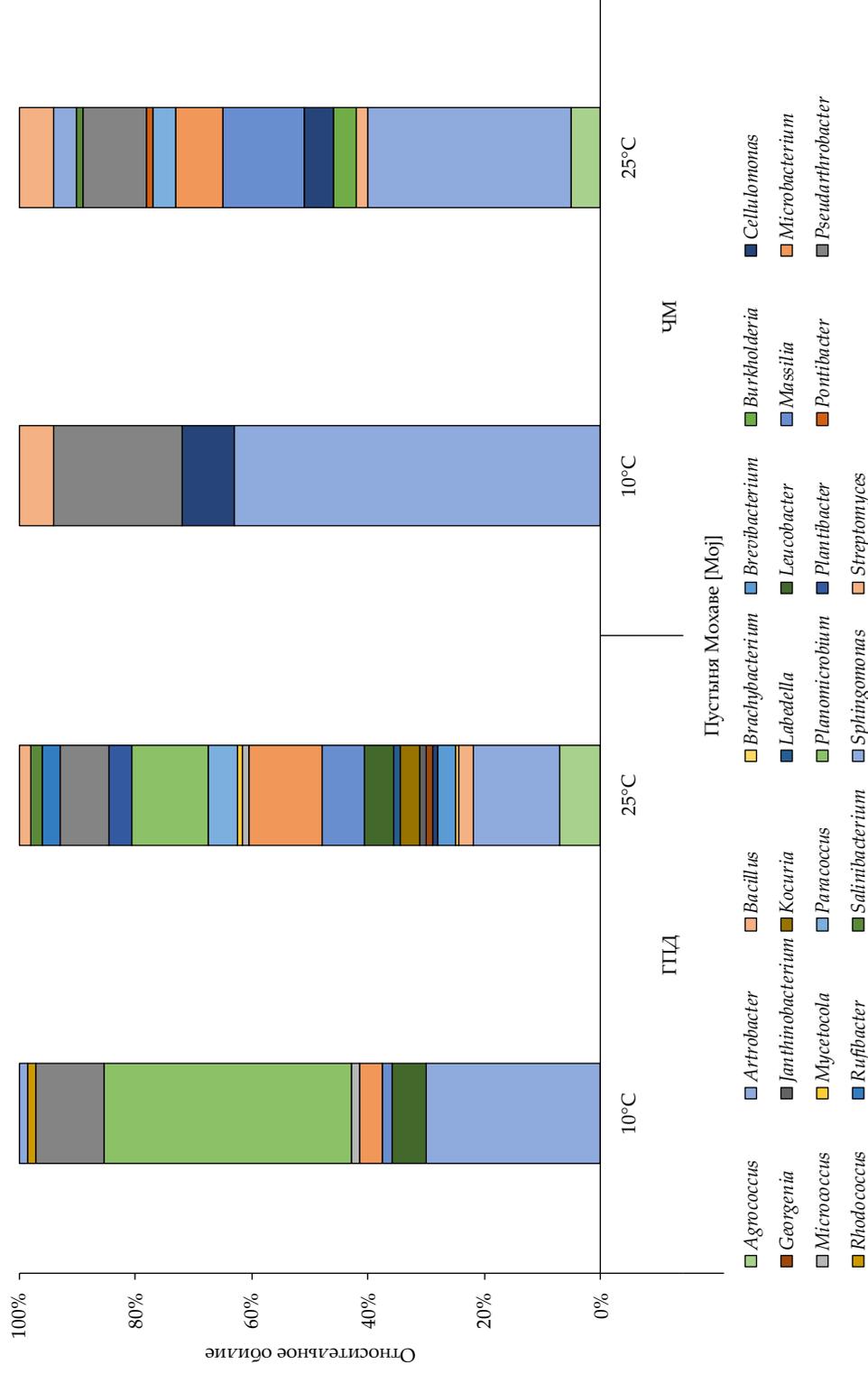
Наименее разнообразное в таксономическом отношении сообщество было выделено из образца мерзлой осадочной породы долины Тейлора [Но-3] (рис. 16).



**Рисунок 16.** Структура сообществ культивируемых бактерий, выделенных из образца, отобранного в долине Тейлора в Антарктиде [Но-3]. ГПД – сообщества, выделенные на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде; ЧМ – сообщества, выделенные на модифицированной среде Чапека. Температура на диаграмме указывает температуру инкубации, при которой были выделены данные сообщества.

Выявлены представители 6 родов бактерий. В сообществах, выделенных при 10°C, выявлены представители рода *Arthrobacter*; практически во всех условиях культивирования обнаружены бактерии родов *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Paracoccus*. Только при температуре 25°C наблюдался рост бактерий рода *Lysinibacillus*. Структура рассматриваемых сообществ

подчиняется ранее указанной закономерности влияния температур инкубации и состава среды. Высокое разнообразие сообществ культивируемых бактерий выявлено в образце поверхностного горизонта почвы, отобранной в наиболее засушливом регионе пустыни Мохаве [Moj]. При посевах выявлены представители 26 родов бактерий (рис. 17). Во всех сообществах выявлены представители родов *Arthrobacter* и *Pseudoarthrobacter*, чья доля в сообществах возрастала при инкубации при температуре 10°C. В сообществах, выделенных при температуре 25°C, обнаружены представители родов *Agrococcus*, *Bacillus*, *Paracoccus* и *Salinibacterium*.



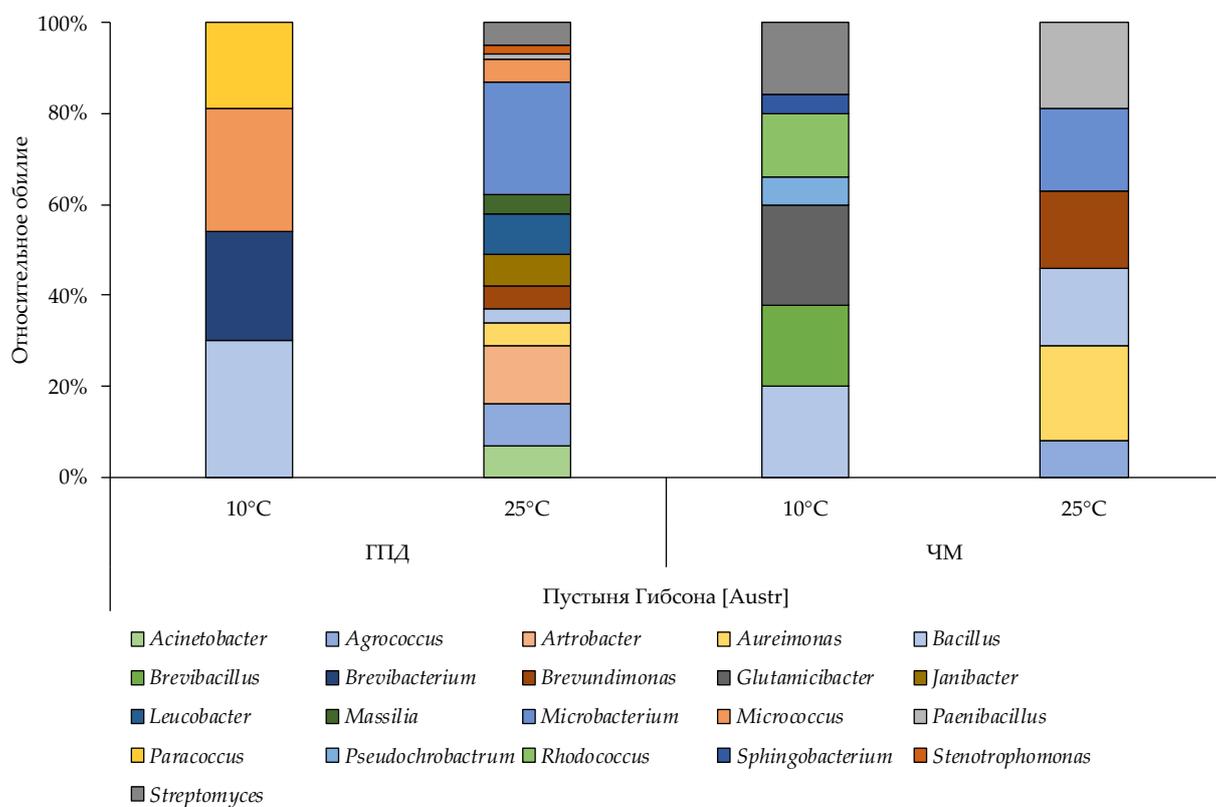
**Рисунок 17.** Структура сообществ культивируемых бактерий, выделенных из образца, отобранного в пустыне Мохаве. ГПД – сообщества, выделенные на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде; ЧМ – сообщества, выделенные на модифицированной среде Чапека. Температура на диаграмме указывает температуру инкубации, при которой были выделены данные сообщества.

Только на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде выявлены представители родов *Leucobacter*, *Planomicrobium*, *Micrococcus*. Только при температуре культивирования равной 10°C выделены представители рода *Rhodococcus*. Наиболее таксономически разнообразное бактериальное сообщество было выделено при температуре 25°C на среде ГПД: в этих условиях идентифицированы представители 22 родов бактерий, в то время всего из данного образца были выделены представители 26 родов бактерий.

Как и в ранее рассмотренных сообществах, таксономическое разнообразие сообществ культивируемых бактерий возрастало при инкубации при температуре 25°C и при культивировании на ГПД среде. Из данного образца при различных условиях культивирования были выделены в чистую культуру, представители родов *Bacillus*, *Burkholderia*, *Pontibacter* и *Rufibacter*, характеризующиеся низким сходством нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК с последовательностями, имеющимися в базах данных. Данные штаммы могут быть представителями ранее не описанных видов бактерий.

Сообщества культивируемых бактерий, выделенные из поверхностного горизонта почвы пустыни Гибсона [Austr], также характеризовались высокими показателями таксономического разнообразия: идентифицированы представители 21 рода аэробных гетеротрофных бактерий (рис. 18).

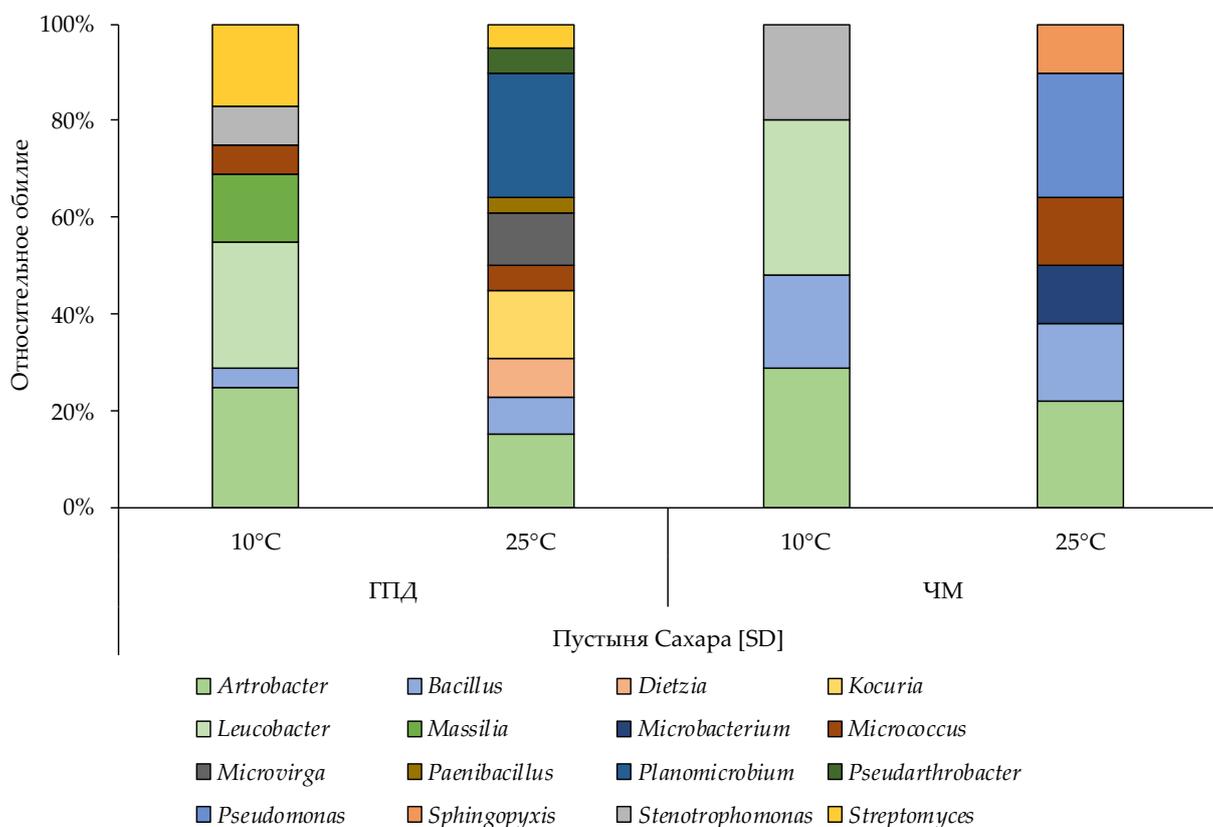
Во всех сообществах выявлены представители рода *Bacillus*; только на среде ГПД выделены представители рода *Micrococcus*; только при температуре 25°C идентифицированы представители родов *Microbacterium*, *Brevundimonas*, *Aureimonas* и *Agrococcus*. Наиболее сложноорганизованное и разнообразное сообщество выделено при температуре 25°C: в нем идентифицированы представители 14 родов аэробных гетеротрофных бактерий, среди которых доминируют представители рода *Microbacterium*.



**Рисунок 18.** Структура сообществ культивируемых бактерий, выделенных из образца, отобранного в пустыне Гибсона [Austr]. ГПД – сообщества, выделенные на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде; ЧМ – сообщества, выделенные на модифицированной среде Чапека. Температура на диаграмме указывает температуру инкубации, при которой были выделены данные сообщества.

Умеренно разнообразные бактериальные сообщества были выделены из поверхностного горизонта почвы пустыни Сахара [SD]: идентифицированы представители 16 родов бактерий (рис. 19).

Во всех сообществах выявлены представители родов *Arthrobacter* и *Bacillus*, в большинстве сообществ обнаружены представители рода *Micrococcus*. Только при посевах на среде ГПД идентифицированы представители рода *Streptomyces*, только в сообществах, изолированных при 10°C, выявлены представители родов *Leucobacter* и *Stenotrophomonas*.

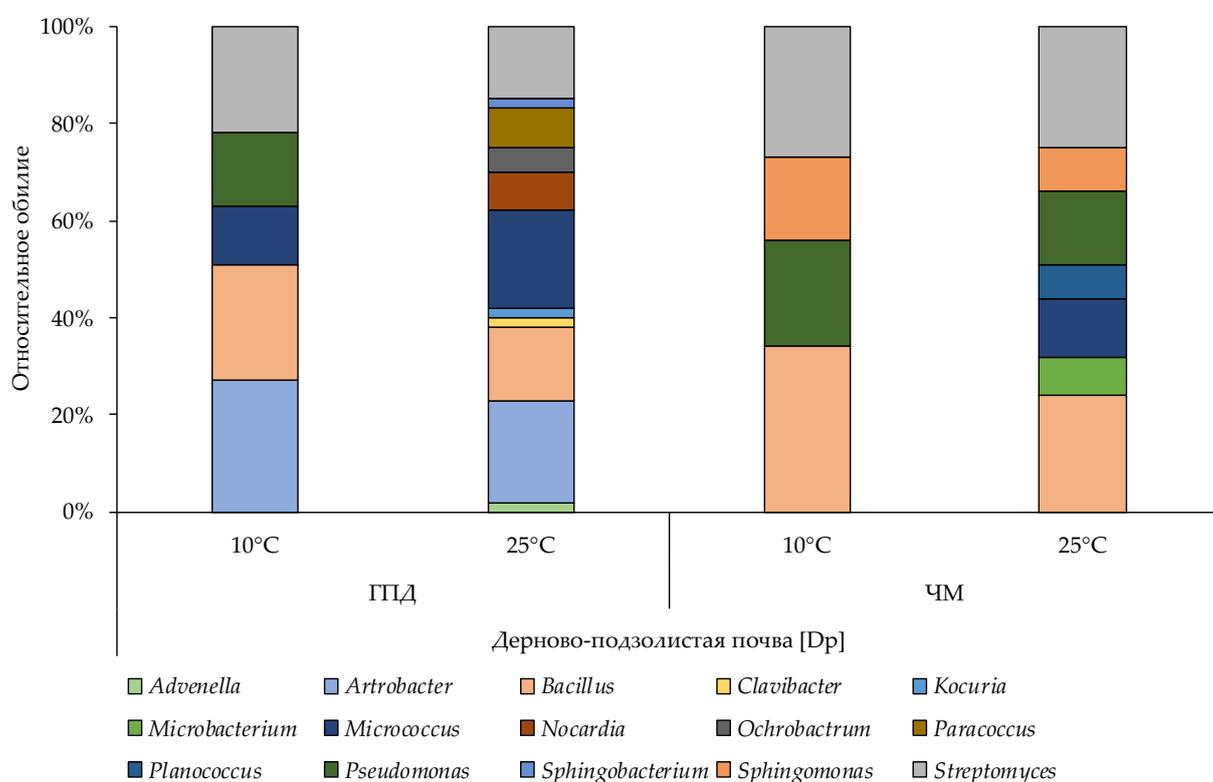


**Рисунок 19.** Структура сообществ культивируемых бактерий, выделенных из образца, отобранного в пустыне Сахара [SD]. ГПД – сообщества, выделенные на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде; ЧМ – сообщества, выделенные на модифицированной среде Чапека. Температура на диаграмме указывает температуру инкубации, при которой были выделены данные сообщества.

Наиболее разнообразное сообщество изолировано на среде ГПД при 25°C: оно включало в себя представителей 10 родов из 16, выделенных из данного образца. Из данного образца были выделены 2 штамма бактерий с низким сходством нуклеотидных последовательностей с базами данных. Эти штаммы могут быть представителями ранее не описанных видов родов *Arthrobacter* и *Streptomyces*.

В сообществах культивируемых бактерий, выделенных из образца дерново-подзолистой почвы [Dp], наблюдается умеренное таксономическое разнообразие: идентифицированы представители 15 родов бактерий (рис.20). Доминирующими в сообществах, выделенных на среде ГПД, являлись

представители рода *Arthrobacter* (при температуре 25°C доминировали также представители рода *Micrococcus*), наиболее многочисленной группой на среде ЧМ являлись представители рода *Bacillus*, выявленные во всех полученных сообществах. Также во всех сообществах выявлены представители рода *Streptomyces*. В большинстве сообществ выявлены представители родов *Pseudomonas*, *Micrococcus*.



**Рисунок 20.** Структура сообществ культивируемых бактерий, выделенных из образца дерново-подзолистой почвы [Dp]. ГПД – сообщества, выделенные на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде; ЧМ – сообщества, выделенные на модифицированной среде Чапека. Температура на диаграмме указывает температуру инкубации, при которой были выделены данные сообщества.

Только на среде ГПД при 25°C из этого образца были выделены представители родов *Clavibacter*, *Kocuria*, *Nocardia*, *Ochrobactrum*, *Paracoccus*, *Sphingobacterium*; при той же температуре инкубации только на среде ЧМ были выделены представители родов *Planococcus*, *Microbacterium*.

В обоих сообществах на этой среде выявлены представители рода *Sphingomonas*, не обнаруженные на среде ГПД при посевах из этого образца.

Всего из исследованных образцов было выделено 430 штаммов аэробных гетеротрофных бактерий, принадлежащих к 59 родам: *Acinetobacter*, *Advenella*, *Agrococcus*, *Arthrobacter*, *Aureimonas*, *Bacillus*, *Brachybacterium*, *Brevibacillus*, *Brevibacterium*, *Brevundimonas*, *Burkholderia*, *Cellulomonas*, *Chryseobacterium*, *Clavibacter*, *Corynebacterium*, *Dietzia*, *Enterobacter*, *Geodermatophilus*, *Georgenia*, *Glutamicibacter*, *Gordonia*, *Janibacter*, *Janthinobacterium*, *Klebsiella*, *Kocuria*, *Labeledella*, *Leucobacter*, *Lysinibacillus*, *Massilia*, *Methylobacterium*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Microvirga*, *Mycetocola*, *Nocardia*, *Ochrobactrum*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Paracoccus*, *Pedobacter*, *Planococcus*, *Planomicrobium*, *Plantibacter*, *Pontibacter*, *Pseudarthrobacter*, *Pseudochrobactrum*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodococcus*, *Rufibacter*, *Salinibacterium*, *Shinella*, *Sphingobacterium*, *Sphingomonas*, *Sphingopyxis*, *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces*, *Tsukamurella*.

Индексы экологического разнообразия сообществ культивируемых бактерий, рассчитанные по данным родовой структуры, приведены в таблице 4. Филогенетические деревья выделенных штаммов представлены в приложении 3.

**Таблица 4.** Индексы экологического разнообразия микробных сообществ, рассчитанные по результатам культивирования.

Образец и условия культивирования			Индекс Шеннона, Выровненность,		
			Н	Е	
Новая Земля	Морена [Nz 1]	ГПД	10°C	1.56	0.98
			25°C	3.11	0.90
		ЧМ	10°C	1.79	0.89
	Морена и лед [Nz 2]		25°C	1.86	0.80
		ГПД	10°C	1.38	0.87
			25°C	3.00	0.90
Северная Земля	Лед [Nz 3]	ЧМ	10°C	2.27	0.98
			25°C	1.72	0.86
		ГПД	10°C	2.44	0.87
	Долина Бикона [А-6/99]		25°C	3.75	0.90
		ЧМ	10°C	2.16	0.84
			25°C	1.92	0.96
Антарктида	Долина Тейлора [Но-3]	ГПД	10°C	1.97	0.99
			25°C	2.42	0.93
		ЧМ	10°C	0.99	0.99
	Мохаве [Мoj]		25°C	2.77	0.92
		ГПД	10°C	2.22	0.96
			25°C	3.03	0.96
Пустыни	Гибсона [Austr]	ЧМ	10°C	2.21	0.95
			25°C	2.61	0.93
		ГПД	10°C	1.46	0.92
	Сахара [SD]		25°C	1.84	0.79
		ЧМ	10°C	1.52	0.96
			25°C	2.22	0.96
Дерново-подзолистая почва [Dp]	Мохаве [Мoj]	ГПД	10°C	2.20	0.69
			25°C	3.91	0.88
		ЧМ	10°C	1.47	0.73
	Гибсона [Austr]		25°C	3.05	0.82
		ГПД	10°C	1.98	0.99
			25°C	3.43	0.90
Сахара [SD]	Гибсона [Austr]	ЧМ	10°C	2.64	0.94
			25°C	2.53	0.98
		ГПД	10°C	2.56	0.91
	Сахара [SD]		25°C	3.04	0.92
		ЧМ	10°C	1.96	0.98
			25°C	2.51	0.97
Дерново-подзолистая почва [Dp]	Дерново-подзолистая почва [Dp]	ГПД	10°C	2.26	0.97
			25°C	2.65	0.87
		ЧМ	10°C	1.95	0.98
	25°C	2.64	0.94		

Значения индекса выравненности большинства сообществ близки к единице, что свидетельствует о близких значениях представленности в сообществах бактерий разных родов. Рассчитанные по результатам мультисубстратного тестирования значения индекса Шеннона варьировались в пределах 0.73 – 3.93, рассчитанные по результатам анализа сообществ культивируемых бактерий значения этого индекса имеют значения от 0.99 до 3.9. Наблюдается хорошая сходимость значений индексов альфа-разнообразия: максимальные значения как по результатам мультисубстратного тестирования, так и по результатам культивирования бактерий на плотных питательных средах наблюдаются для сообществ мерзлоты архипелага Новая Земля и поверхностного горизонта почвы пустыни Мохаве. В то же время, сообщество почвы пустыни Гибсона [Aust] сочетает низкое функциональное и умеренно высокое таксономическое разнообразие. Это можно рассматривать как свидетельство одновременно высокого таксономического и функционального разнообразия сообществ большинства исследованных образцов. Наиболее разнообразные в таксономическом отношении сообщества были выделены на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде при 25°C из образцов антарктической мерзлой породы долины Бикона [A-6/99], морены архипелага Новая Земля [Nz 1], поверхностных почвенных горизонтов пустынь Сахара [SD], Гибсона [Austr], Мохаве [Moj] (указаны в порядке возрастания индекса Шеннона). По-видимому, высокое биологическое разнообразие сообществ, является следствием адаптации сообщества к агрессивным внешним физико-химическим условиям *in situ*. Можно предположить, что более разнообразное в таксономическом отношении сообщество способно, в целом, сохранять метаболическую активность *in situ* в более широком диапазоне внешних условий, за счет перехода отдельных его представителей в состояние метаболического покоя и одновременной активацией другого сегмента сообщества при изменении внешних условий.

Литературный анализ встречаемости представителей родов, выделенных в ходе исследования, в холодных аридных и жарких аридных почвах и породах представлен в таблице 5. Из таблицы следует, что представители большинства родов бактерий ранее обнаруживались или выделялись из холодных и жарких аридных почв и пород, а также почв, не испытывающих дефицита влаги. Бактерии рода *Lysinibacillus*, не были ранее выделены из жарких аридных почв или пород, но выявлены как в мерзлых, так и не аридных почвах.

Не обнаружены литературные данные о выделении бактерий рода, *Microvirga* из крио-аридных экосистем, в то время как в ходе данного исследования и опубликованных ранее работ бактерии этого рода выделялись из жарких аридных и не аридных почв и пород. Не обнаружены литературные данные о выделении бактерий рода *Glutamicibacter* из пород аридных экотопов, а также о выделении представителей родов *Leucobacter* и *Plantibacter* из пород жарких аридных пустынь. Представители родов *Labedella* и *Salinibacterium* обнаруживались преимущественно в почвах и породах различных аридных экотопов.

В результате анализа встречаемости бактерий разных родов в исследуемых типах экосистем не выявлены индикаторные рода бактерий для крио-аридных или жарких аридных экотопов. Напротив, большинство представителей идентифицированных родов обнаруживаются как в аридных, так и не аридных почвах и породах.

**Таблица 5.** Анализ встречаемости представителей родов, идентифицированных в сообществах культивируемых бактерий

Род	Крио-аридные почвы и породы		Жаркие аридные почвы и породы		Не аридные почвы	
	Литературные данные	Данное исследование	Литературные данные	Данное исследование	Литературные данные	Данное исследование
<i>Acinetobacter</i>	Suzuki et al., 2001.	Обнаружен	Obuekwe et al., 2009	Обнаружен	Nishimura et al., 1988	Не обнаружен
<i>Advenella</i>	Cui et al., 2016.	Не обнаружен	Boukhatem et al., 2016.	Не обнаружен	Gibello et al., 2009	Обнаружен
<i>Agrococcus</i>	Zhang G. et al., 2014	Обнаружен	Yu et al., 2015	Обнаружен	Zhang et al., 2010	Не обнаружен
<i>Artrobacter</i>	Lee et al., 2004	Обнаружен	Hu et al., 2016	Обнаружен	Jones et al., 2006	Обнаружен
<i>Aureimonas</i>	Cho et al., 2015	Не обнаружен	Не обнаружен	Обнаружен	Aydogan et al., 2016	Не обнаружен
<i>Bacillus</i>	Brenner et al., 2013	Обнаружен	Palmisano et al., 2001	Обнаружен	Vilain et al., 2006.	Обнаружен
<i>Brachybacterium</i>	Zhang et al., 2014	Обнаружен	Kurapova et al., 2012	Обнаружен	Singh et al., 2016	Не обнаружен
<i>Brevibacillus</i>	Schuenger et al., 2015	Обнаружен	Al-Maillem et al., 2015	Обнаружен	Vivas et al., 2005	Не обнаружен

<i>Brevibacterium</i>	Zhang et al., 2014	Обнаружен	Shaieb et al., 2015	Обнаружен	Ansari et al., 2018.	Не обнаружен
<i>Brevundimonas</i>	Bottos et al., 2008	Не обнаружен	Abed et al., 2015	Обнаружен	Yoon et al., 2007	Не обнаружен
<i>Burkholderia</i>	Lee et al., 2014	Не обнаружен	Lester et al., 2007	Обнаружен	Salles et al., 2004	Не обнаружен
<i>Cellulomonas</i>	Zhang et al., 2014	Не обнаружен	Shi et al., – 2020	Обнаружен	Elberson et al., 2000	Не обнаружен
<i>Chryseobacterium</i>	Kim et al., 2016	Обнаружен	Estévez et al., 2009	Не обнаружен	Zhou et al., 2007	Не обнаружен
<i>Clavibacter</i>	De Santi et al., 2016	Не обнаружен	Evtushenko, 2018	Не обнаружен	Evtushenko, 2018.	Обнаружен
<i>Corynebacterium</i>	Yergeau et al., 2012	Обнаружен	Zhou et al., 2012	Не обнаружен	Fudou et al., 2002	Не обнаружен
<i>Dietzia</i>	Chang et al., 2018	Обнаружен	Li et al., 2009	Обнаружен	Yamamura et al., 2010.	Не обнаружен
<i>Enterobacter</i>	Alikunju et al., 2016	Обнаружен	Hanna et al., 2013	Не обнаружен	Selenska et al., 1991	Не обнаружен
<i>Geodermatophilus</i>	Yu et al., 2011	Обнаружен	del Carmen Montero-Calasanz et al., 2013	Не обнаружен	Zhang et al., 2011	Не обнаружен
<i>Georgenia</i>	Schuerger et al., 2015	Не обнаружен	Hozzein et al., 2018	Обнаружен	Li et al., 2007	Не обнаружен

<i>Glutamibacter</i>	Не обнаружен	Обнаружен	Не обнаружен	Обнаружен	Li et al., 2019	Не обнаружен
<i>Gordonia</i>	Jurelevicius et al., 2012	Обнаружен	Sowami et al., 2018	Не обнаружен	Shen et al., 2006	Не обнаружен
<i>Janibacter</i>	Zhang et al., 2014	Не обнаружен	Khessairi et al., 2014	Обнаружен	Yoon et al., 2000	Не обнаружен
<i>Janthinobacterium</i>	Avguštin et al., 2013	Не обнаружен	Chanal et al., 2006	Обнаружен	Shoemaker et al., 2015	Не обнаружен
<i>Klebsiella</i>	Dancer et al., 1997	Обнаружен	Marasco et al., 2012	Не обнаружен	Izard et al., 1981	Не обнаружен
<i>Kocuria</i>	Steven et al., 2007	Обнаружен	Li et al., 2006	Обнаружен	Takarada et al., 2008	Обнаружен
<i>Labeledella</i>	Alvarado et al., 2017	Не обнаружен	Li et al., – 2019	Обнаружен	Не обнаружен	Не обнаружен
<i>Leucobacter</i>	Saxena et al., 2016	Обнаружен	Не обнаружен	Обнаружен	Manzanera et al., 2015	Не обнаружен
<i>Lysinibacillus</i>	Ray et al., 2014	Обнаружен	Не обнаружен	Не обнаружен	Miwa et al., 2009	Не обнаружен
<i>Massilia</i>	Wang et al., 2018	Не обнаружен	Ren et al., 2018	Обнаружен	Zul et al., 2008	Не обнаружен
<i>Methylobacterium</i>	Yergeau et al., 2012	Обнаружен	Vikram et al., 2016	Не обнаружен	Сao et al., 2011	Не обнаружен

<i>Microbacterium</i>	Zhang et al., 2014	Обнаружен	Mandakovic et al., 2015	Обнаружен	Lee et al., 2014	Обнаружен
<i>Micrococcus</i>	Singh et al., 2014	Обнаружен	Palmer et al., 1986	Обнаружен	Zhang et al., 2010	Обнаружен
<i>Microvirga</i>	Не обнаружен	Не обнаружен	Yu et al., 2015	Обнаружен	Dahal et al., 2017	Не обнаружен
<i>Mycetocola</i>	Marcolefafas et al., 2019	Не обнаружен	Luo et al., 2012	Обнаружен	Hamidizade et al., 2020	Не обнаружен
<i>Nocardia</i>	Yergeau et al., 2012	Не обнаружен	Nhi-Cong et al., 2010	Не обнаружен	Wang et al., 2001	Обнаружен
<i>Ochrobactrum</i>	Gilichinsky et al., 2008	Обнаружен	Köberl et al., 2011	Не обнаружен	Lebuhn et al., 2000	Не обнаружен
<i>Raenibacillus</i>	Chattopadhyay et al., 2013	Не обнаружен	Lim et al., 2006	Обнаружен	Berge et al., 2002	Не обнаружен
<i>Raracoccus</i>	Zhu et al., 2013	Обнаружен	Yu et al., 2015	Обнаружен	Qiao, Wang, 2010	Обнаружен
<i>Redobacter</i>	Qiu et al., 2014	Обнаружен	Tang et al., 2010	Не обнаружен	Gordon et al., 2009	Не обнаружен
<i>Planococcus</i>	Мукутцук et al., 2012	Не обнаружен	Palmer et al., 1986	Не обнаружен	Wang et al., 2015	Обнаружен

<i>Planomicrobium</i>	Wagner, 2008	Обнаружен	Zhang et al., 2016	Обнаружен	Das, Tiwary, 2013	Не обнаружен
<i>Plantibacter</i>	De Santi et al., 2016	Не обнаружен	Не обнаружен	Обнаружен	Kiamarsi et al., 2019	Не обнаружен
<i>Pontibacter</i>	Aislabe et al., 2013	Не обнаружен	Zhang et al., 2008	Обнаружен	Dastager et al., 2010	Не обнаружен
<i>Pseudochrobactrum</i>	Romanenko et al., 2008	Обнаружен	Не обнаружен	Обнаружен	Kämpfer et al., 2006	Не обнаружен
<i>Pseudarthrobacter</i>	Balan et al., 2018	Обнаружен	Buckley et al., 2019	Обнаружен	Park et al., 2019	Не обнаружен
<i>Pseudomonas</i>	Janek et al., 2013	Обнаружен	Campos V. L. et al., 2010	Обнаружен	Cho, Tiedje, 2000	Обнаружен
<i>Rhizobium</i>	Fagerli et al., 2005	Обнаружен	Agarwal, Purohit, 2013	Не обнаружен	Graham, 1992	Обнаружен
<i>Rhodococcus</i>	Whyte et al., 2002	Обнаружен	Röttig et al., 2016	Обнаружен	LeBlanc et al., 2008	Не обнаружен
<i>Rufibacter</i>	Kudinova et al., 2020	Не обнаружен	Yu et al., 2015	Обнаружен	Abaydulla et al., 2012	Не обнаружен
<i>Salinibacterium</i>	Zhang et al., 2008	Не обнаружен	Khalilova et al., 2017	Обнаружен	Не обнаружен	Не обнаружен

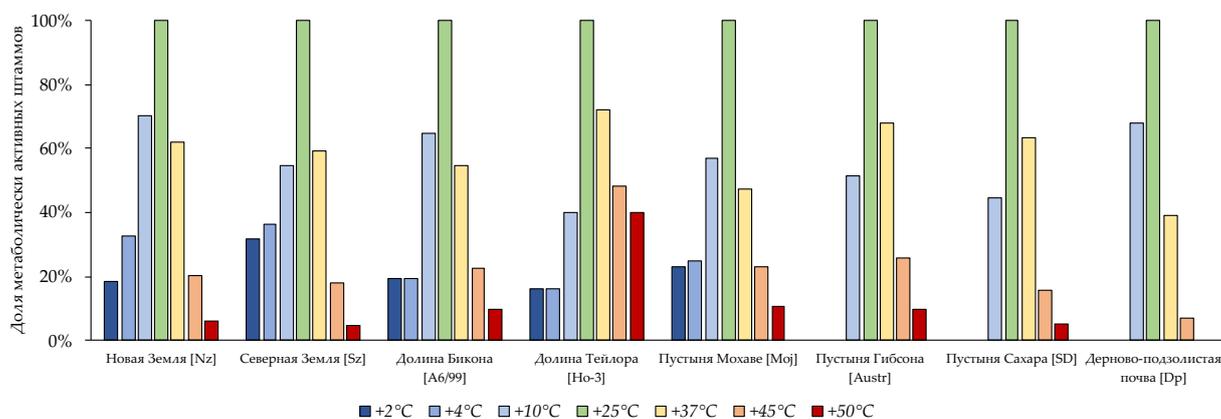
<i>Shinella</i>	Zeng et al., 2010	Обнаружен	Subhash, Lee, 2016	Не обнаружен	Salam et al., 2017	Не обнаружен
<i>Sphingobacterium</i>	Shivaji et al., 1992	Обнаружен	Liu et al., 2018	Обнаружен	Kim et al., 2006	Обнаружен
<i>Sphingomonas</i>	Shin et al., 2012.	Обнаружен	An et al., 2011	Обнаружен	Tao et al., 2007	Обнаружен
<i>Sphingopyxis</i>	Crisafi et al., 2016	Не обнаружен	Abed et al., 2015	Обнаружен	Lee et al., 2008.	Обнаружен
<i>Staphylococcus</i>	Perron et al., 2015	Обнаружен	Sharma et al., 2013	Не обнаружен	Nweke, Окрокwasili, 2003	Не обнаружен
<i>Stenotrophomonas</i>	Neethu et al., 2015	Обнаружен	Chowdhury et al., 2007	Обнаружен	Yoon et al., 2006	Не обнаружен
<i>Streptomyces</i>	Yang et al., 2013	Обнаружен	Rateb et al., 2011	Обнаружен	Kim et al., 1998	Обнаружен
<i>Tsukamurella</i>	Yi Pan et al., 2013	Обнаружен	Kugarova et al., 2012	Не обнаружен	Weon et al., 2010	Не обнаружен

#### 4.6 Диапазоны устойчивости выделенных штаммов

Для всех штаммов, выделенных из исследованных образцов при описании структуры сообществ культивируемых бактерий, оценивалась их способность к размножению при разных температурах культивирования, рН питательной среды, а также на средах с добавлением хлорида натрия, хлорида калия, сульфата магния, гидрокарбоната натрия или перхлората магния. Кроме того, проводили оценку устойчивости штаммов к клиническим антибиотикам, относящихся к разным классам по механизмам биологического действия. Оценка этих параметров позволяла получить физиологический профиль сообществ исследуемых образцов: отношение растущих *in vitro* в различных условиях штаммов к общему числу штаммов, выделенных из данного образца.

Независимо от температуры, при которой были выделены бактериальные культуры, все исследованные штаммы были способны репродуцировать на питательных средах при температуре 25°C (рис. 21). Среди бактерий, выделенных из крио-аридных образцов, около 20% штаммов были способны расти при температуре 2°C. Среди штаммов, выделенных из жарких аридных пустынных почв, в этих условиях росли только штаммы, выделенные из пустыни Мохаве [Mo] (их доля в сообществе тоже составляла около 20%). Для выделенных из остальных жарких аридных пустынь штаммов минимальная температура роста составляла 10°C (более 35% штаммов в каждом сообществе).

Максимальная температура, при которой наблюдался рост штаммов в составе всех исследованных бактериальных сообществ, составляла 50°C – в среднем при этой температуре репродуцировали 5-10% штаммов в сообществах. Максимальная доля штаммов, репродуцировавших при температуре 50°C, обнаружена в сообществе, выделенном из долины Тейлора [Ho-3] и составляет 40%.



**Рисунок 21.** Профили устойчивости штаммов, выделенных из исследуемых образцов, к температуре инкубации.

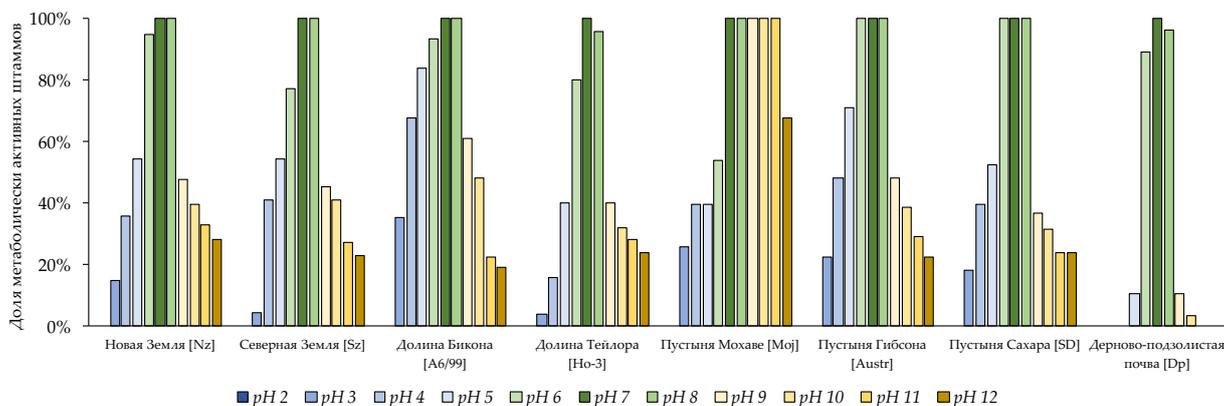
Сообщество образца горизонта А дерново-подзолистой почвы [Dr] характеризовалось минимальной температурой, при которой наблюдался рост *in vitro*, равной 10°C (68% штаммов) и максимальной температурой, равной 45°C (7% штаммов).

Отсутствие культивируемых бактерий при первичных посевах, инкубированных при 50°C, и дальнейшее обнаружение штаммов способных к репродукции в данных условиях, по-видимому, обусловлено тем, что данная температура инкубации является для штаммов стрессовой и переход к метаболически активному состоянию в этих условиях либо замедлен (и потому не мог быть учтен при заданном сроке инкубации), либо невозможен. В то время как реактивированные и культивированные при других температурах штаммы, находящиеся на момент анализа в активном состоянии лабораторной культуры, могли сохранять репродуктивную активность при температуре 50°C. Ранее было показано, что переход бактериального сообщества к репродуктивной активности на питательной среде сопровождается выделением определенных сигнальных соединений (Christner et al., 2000; Varer, 1997), которые, возможно не выделяются или выделяются в недостаточных количествах в высокотемпературных (50°C) условиях культивирования.

Полученные диапазоны устойчивости в градиенте значений рН среды выявили оптимум рН, характерный для нейтрофилов, у всех исследованных сообществ (рис. 22): штаммы, выделенные из всех сообществ, росли при рН 7, а в диапазоне рН 6 – 8 были способны развиваться от 77 до 100% изолятов, за исключением штаммов, выделенных из пустыни Мохаве [Moj], где доля штаммов, способных к росту, на среде с рН равным 6 составляла 54%. Нижний предел роста штаммов *in vitro* в большинстве сообществ находился при рН среды равном 3: в этих условиях росли от 4 до 35% штаммов в исследованных сообществах. При рН среды, равном 2, рост исследованных культур не выявлен. Верхний предел рН среды, при котором наблюдается рост исследованных штаммов, находился при рН 12 (более щелочные значения рН не исследовали): в этих условиях росли от 19 до 68% штаммов в сообществах. Штаммы, выделенные из дерново-подзолистой почвы [Dp], росли в диапазоне рН от 5 до 9; при рН среды, равном 12 единицам, росли 11% штаммов, выделенных из дерново-подзолистой почвы.

Наибольшую алкалотолерантность проявили штаммы, выделенные из поверхностного горизонта почвы пустыни Мохаве [Moj]: 100% штаммов, выделенных из этого образца, репродуцировали на средах с рН от 7 до 11 и 68% штаммов развивались на среде с рН, равным 12.

Таким образом, для штаммов, выделенных из аридных почв выявлены широкие диапазоны рН, при которых наблюдалась метаболическая активность *in vitro*, и более высокая доля устойчивых к рН среды штаммов, по сравнению с изолятами, полученными из дерново-подзолистой почвы.



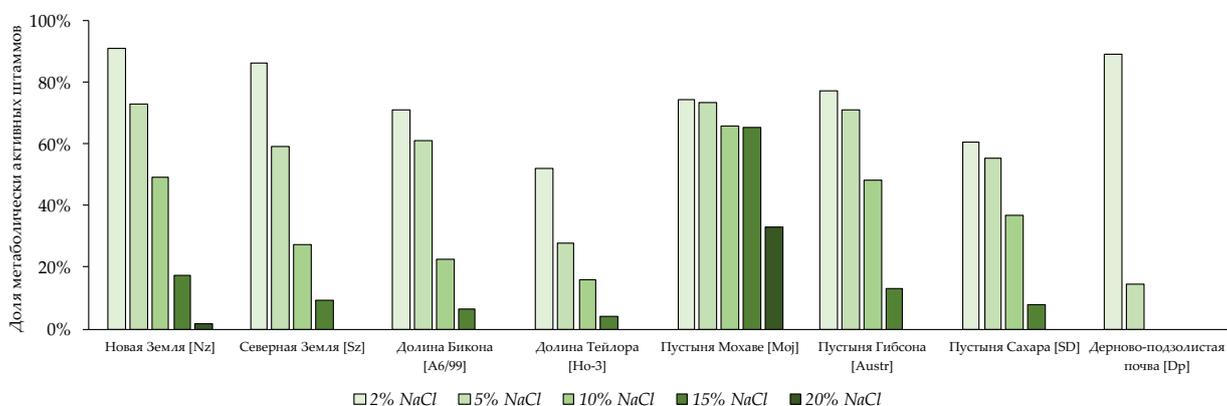
**Рисунок 22.** Профили устойчивости штаммов, выделенных из исследуемых образцов, к рН среды.

Высказанное предположение о потенциальной способности бактерий, выделенных из аридных почв, к сохранению метаболической активности *in situ* при изменении внешних физико-химических условий дополнительно подтверждается результатами физиологической характеристики штаммов. Обнаружение способности всех исследованных бактерий к росту *in vitro* при температуре 25°C и возрастание таксономического разнообразия сообществ в этих условиях позволяет предполагать, что их температурный оптимум близок к мезофильному. Ранее подобное было показано для микробных сообществ древних мерзлых пород (Vorobyova et al., 1997; del Carmen Montero-Calasanz et al., 2013). Пределы выживаемости сообществ в градиенте температур окружающей среды свидетельствуют о термотолерантных свойствах исследованных бактерий, которые, вероятно, обусловлены флуктуациями температур окружающей среды *in situ* (Makhalanyane 2015; 2016).

Следствием этих температурных флуктуаций, вероятно, является толерантность исследованных штаммов к рН окружающей среды. Способность развиваться в широких диапазонах рН среды, вероятно, обусловлена изменениями состава вмещающих клетки растворов по мере изменения температуры окружающей среды и интенсивности атмосферных осадков, которые колеблются в широких пределах (Sikka, 1997; Doran et al., 2002; Serreze, Barry, 2014). Смещение пределов роста большинства штаммов проанализированной коллекции в щелочную область может объясняться

преимущественной адаптацией большинства бактерий в целом к существованию в слабощелочных, а не кислых условиях pH среды (Borsodi et al., 2005).

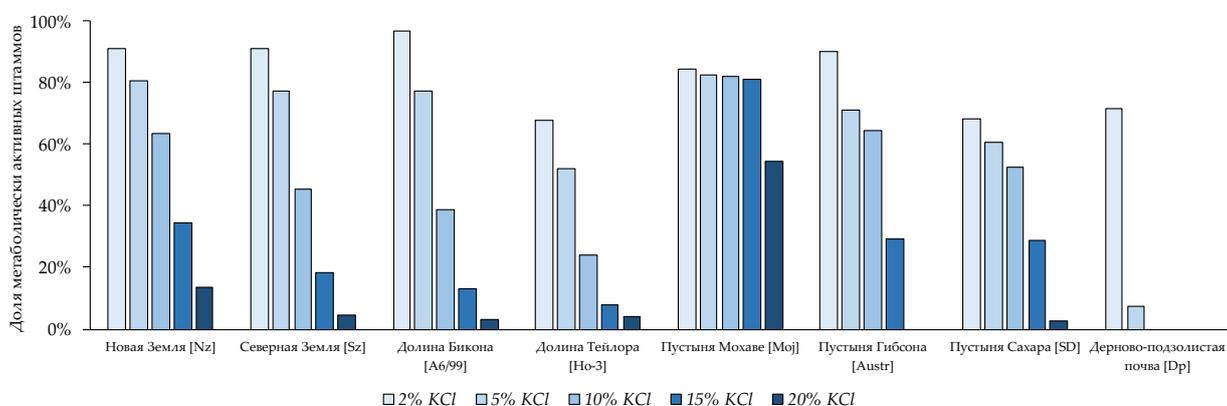
Исследованные культуры характеризуются умеренными галотолерантными свойствами (рис.23) – подавляющее большинство изолятов было способно к репродукции на средах, содержащих 5-10% хлорида натрия. Наибольшая доля штаммов, репродуцирующих на среде, содержащей 10% NaCl, выявлена в сообществах, выделенных из мерзлоты архипелага Новая Земля, а также почв пустынь Мохаве [Mo] и Гибсона [Austr] (48% и более от общего числа выделенных из этих образцов бактерий). Верхним пределом концентрации хлорида натрия, при котором наблюдалась метаболическая активность штаммов, в большинстве сообществ являлось значение 15% NaCl - примерно 5 – 10% исследуемых штаммов развивалось на средах с таким уровнем солености. Бактерии, выделенные из образцов мерзлоты архипелага Новая Земля [Nz 1 – 3] и поверхностного горизонта пустыни Мохаве [Mo], были способны репродуцировать на средах, содержащих 20% хлорида натрия, их доля в сообществах составляла 1 и 33% соответственно. Рост *in vitro* бактерий, выделенных из дерново-подзолистой почвы, наблюдался вплоть до 5% NaCl в составе среды: в этих условиях репродуцировали 14% изолятов.



**Рисунок 23.** Профили устойчивости штаммов, выделенных из исследуемых образцов, к присутствию хлорида натрия.

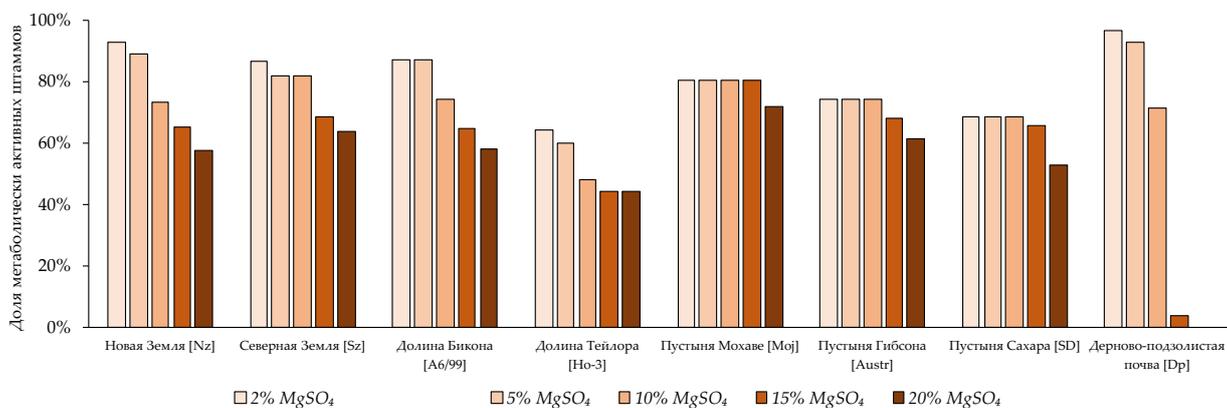
Показатели устойчивости штаммов исследованных сообществ на средах с добавлением градиента концентраций хлорида калия (рис.24) в целом схожи с таковыми для присутствия в средах хлорида натрия. Предельным значением концентрации хлорида калия в среде, при котором развивались штаммы, выделенные из всех аридных образцов, являлось значение 15%: в этих условиях репродуцировали в среднем около 20% штаммов во всех сообществах. Наиболее высокую толерантность к присутствию в составе среды этой соли проявили штаммы, выделенные из пустыни Мохаве [Moj]: на средах, содержащих 20% KCl, развивалось 55% штаммов, выделенных из этого образца.

Среди штаммов, выделенных из дерново-подзолистой почвы, 7% развивалось на средах, содержащих хлорид калия в концентрации 5%.



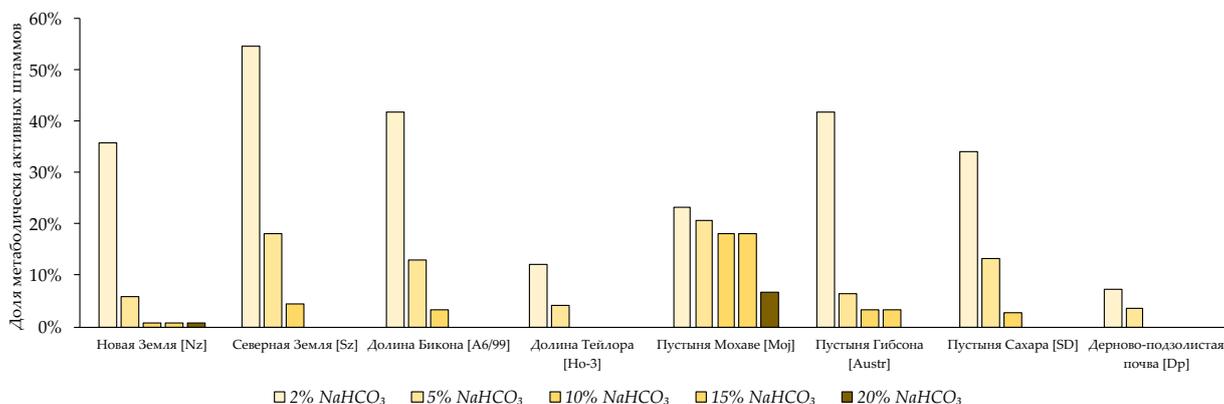
**Рисунок 24.** Профили устойчивости штаммов, выделенных из исследуемых образцов, к присутствию хлорида калия.

Оценка диапазонов устойчивости штаммов к присутствию в среде сульфата магния (рис.25) выявила низкую ингибирующую способность данной соли: около 50% и более штаммов в сообществах, выделенных из аридных почв, репродуцировали на среде, содержащей 20% MgSO<sub>4</sub>. Предельной концентрацией данной соли в среде, при которой развивались штаммы, выделенные из дерново-подзолистой почвы [Dp], являлась 15% - в этих условиях росли 4% штаммов этого сообщества.



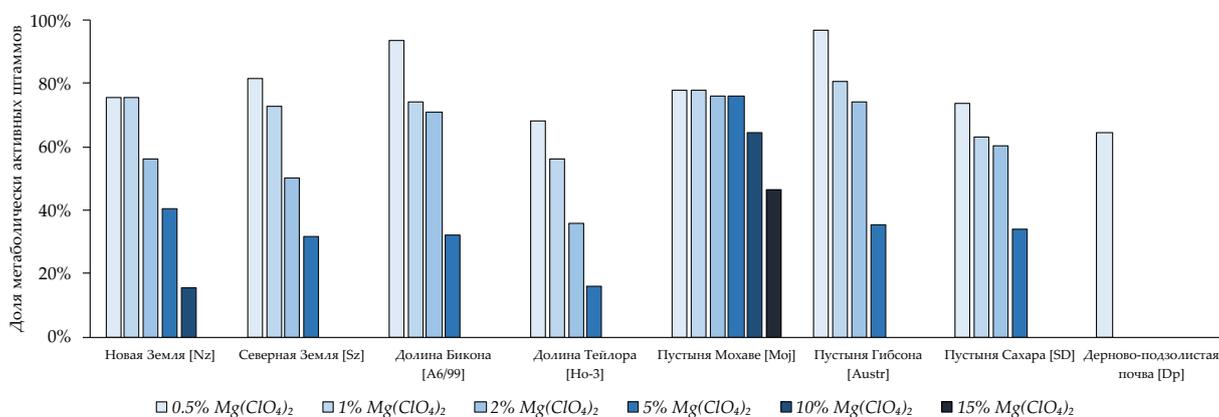
**Рисунок 25.** Профили устойчивости штаммов, выделенных из исследуемых образцов, к присутствию сульфата магния.

Гидрокарбонат натрия, добавленный в состав среды, напротив, оказывал на исследованные штаммы сильное ингибирующее воздействие (рис.26). Наиболее распространены штаммы, способные репродуцировать в присутствии 2% гидрокарбоната натрия в среде, обнаруженные в сообществах, выделенных из всех аридных образцов, где их доля достигала 42% от общего числа штаммов в них. Сообщества, выделенные из мерзлоты архипелага Новая Земля [Nz 1 – 3] и пустыни Мохаве [Mo] содержали штаммы, способные к репродукции при более высоких концентрациях NaHCO<sub>3</sub> в среде. В частности, на среде, содержащей 20% гидрокарбоната натрия, развивались 1 и 7% штаммов в этих сообществах соответственно. Среди штаммов, выделенных из пустыни Гибсона, росли в присутствии 15% NaHCO<sub>3</sub> 3% изолятов, в остальных сообществах предельной концентрацией гидрокарбоната натрия являлось значение 10%, при котором были растут не более 5% изолятов. Предельной концентрацией, при которой было возможно развитие штаммов, выделенных из дерново-подзолистой почвы [Dr], являлась 5% NaHCO<sub>3</sub>: в этих условиях росли 4% изолятов.



**Рисунок 26.** Профили устойчивости штаммов, выделенных из исследуемых образцов, к присутствию гидрокарбоната натрия.

Добавление к среде перхлората магния вызывает одновременно осмотические эффекты и изменение окислительно-восстановительного потенциала среды. Бактерии, выделенные из аридных образцов, были способны развиваться на средах, содержащих 5%  $Mg(ClO_4)_2$  и их доля в соответствующих сообществах варьировала от 16 до 40% (рис. 27). Штаммы, выделенные из почвы пустыни Мохаве [Mo], проявили самую высокую устойчивость к присутствию данного соединения в среде: более 60% штаммов репродуцировались в диапазоне концентраций  $Mg(ClO_4)_2$  от 0.5 до 10% и почти 50% развивались на среде с 15% перхлората магния.



**Рисунок 27.** Профили устойчивости штаммов, выделенных из исследуемых образцов, к присутствию перхлората магния.

Среди бактерий, выделенных из дерново-подзолистой почвы [Dp], обнаружены штаммы, способные репродуцироваться на среде с 0.5% перхлората магния, доля которых в сообществе составляла 64%. При более высоких

концентрациях этой соли в среде рост не наблюдался.

Штаммы бактерий, проявившие способность развиваться *in vitro* в самых широких диапазонах температур и pH среды, а также присутствия различных водорастворимых солей, были выделены из почвы пустыни Мохаве [Mo] и принадлежали к родам *Arthrobacter*, *Cellulomonas*, *Georgenia*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Pontibacter*, *Pseudarthrobacter*, *Rufibacter*, *Salinibacterium*, *Streptomyces* и видам *Arthrobacter crystallopoietes*, *Bacillus pumilus*, *Microbacterium barkeri*, *Microbacterium paraoxydans*, *Planomicrobium okeanokoites*. Физиологические характеристики данных штаммов приведены в приложении №1. В целом, штаммы бактерий, выделенные из этого образца, характеризуются широкими диапазонами физико-химических факторов, в которых сохраняется их метаболическая активность *in vitro*.

Обнаруженные умеренные галотолерантные свойства подавляющего большинства изолятов из исследуемых образцов могут объясняться несколькими причинами, среди которых повышение концентраций веществ в почвенных растворах при испарении и кристаллизации воды (Shcherbakova et al., 2004; Zhang et al., 2013), формирование водорастворимых солей при выветривании минералов в условиях жаркого аридного климата (Cooke, 1981), а также общность физиологических механизмов защиты бактериальной клетки от иссушения и воздействия низких температур, для которых показана связь с устойчивостью к присутствию высоких концентраций водорастворимых солей (Shukla et al., 2007; Fagliarone et al., 2017). Психротолерантные и одновременно галотолерантные штаммы бактерий были ранее выделены из арктических крио-аридных экосистем (Wilhelm et al., 2012).

Выявленная высокая устойчивость выделенных штаммов к присутствию сульфата магния ранее была показана на отдельных выборках штаммов, выделенных из засоленных озер и почв (Crisler et al., 2012; Bryanskaya et al., 2013; Yazdani et al., 2019), в то же время, в данной работе впервые показано широкое распространение устойчивых к высоким концентрациям этих

соединений штаммов в сообществах культивируемых бактерий из почв и пород разнообразных аридных экосистем. Обнаружение таких высокоустойчивых штаммов имеет дополнительно астробиологическую значимость в изучении потенциальной обитаемости марсианского реголита и подледных океанов спутников Юпитера (в первую очередь Европы), содержащих высокие концентрации сульфатов, в совокупности с низкими температурами окружающей среды (Fairén et al., 2010; Crisler et al., 2012; Cheptsov et al., 2017, 2018; Чепцов и др., 2018; Yazdani et al., 2019). Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего моделирования условий этих инопланетных тел и выяснения совокупного влияния этих факторов на микробные сообщества земного типа. Причина такой высокой устойчивости может быть связана с особенностями строения мембранных систем клетки: ранее было показано, что сульфат-анион плохо диффундирует через мембраны и поглощается путем активного транспорта (Crisler et al., 2012). В условиях избытка этого иона во внешней среде регуляция активности этих транспортных белков, вероятно, позволяет препятствовать избыточному накоплению сульфат-ионов в цитоплазме. Аналогичным образом клетки могут регулировать и концентрацию ионов магния во внутриклеточной среде (Maguire, 2006).

Повышенная чувствительность большинства исследуемых штаммов к присутствию в составе среды бикарбоната натрия, вероятно, обусловлена совокупным действием высоких концентраций натрия и смещением рН среды в щелочную область при растворении данной соли. Ранее было выявлено, что при повышении рН среды возрастает проницаемость клеточных мембран бактерий; в то же время, ионы натрия в высоких концентрациях оказывают цитотоксический эффект, в том числе, не специфически нарушая конформацию белков (Padan et al., 2005; Gawande et al., 2008). По-видимому, подавляющее большинство исследованных штаммов не обладает физиологическими механизмами защиты от избыточных концентраций натрия

(мембранными антипортами или биохимическими особенностями строения белков, способных функционировать в таких условиях).

Способность штаммов развиваться на средах, содержащих перхлорат магния, дополнительно свидетельствует об их устойчивости к окислительному стрессу. Перхлораты ранее обнаруживались и в некоторых засушливых земных почвах, в частности, в почвах пустынь Атакама (Чили) и Мохаве (США), причем механизм их образования схож с предполагаемым механизмом образования перхлоратов в марсианском реголите (Catling et al., 2010; Lybrand et al., 2013). В почвах пустыни Атакама содержание перхлоратов варьирует в диапазоне от  $2.9 \times 10^{-5}$  до  $2.565 \times 10^{-4}$  %, в поверхностных водах содержание этих соединений достигает от  $0.744 \times 10^{-4}$  до  $1.48 \times 10^{-3}$  % (Calderon et al., 2014). В тоже время, в почвах этой пустыни выявлено уникальное разнообразие прокариот, включающее в себя в том числе и ранее не описанных представителей филумов *Actinobacteria* и *Chloroflexi* (Idris et al., 2017). Эти результаты свидетельствуют о том, что присутствие перхлоратов в почве в указанных концентрациях (существенно меньших, чем в реголите Марса) не является лимитирующим фактором для развития микроорганизмов, а, напротив, способствует формированию уникальных адаптированных сообществ. Изучение влияния перхлората магния на чистые культуры бактерий играет важную роль для оценки потенциальной обитаемости реголитов других планет, в частности Марса, так как эта соль, образующаяся в инопланетных грунтах, формирует высоко хаотропные растворы с высокой ионной силой по сравнению с другими солями перхлоратами, и проявляет окислительные свойства (Heinz et al., 2020).

В модельных экспериментах показана способность бактерий и архей к редукации перхлоратов различными биохимическими путями (Bardiya, Вае, 2011; Shcherbakova et al., 2015; Liebensteiner et al., 2013). Известны микробные консорциумы и штаммы бактерий, способные сохранять метаболическую активность и проводить перхлорат-редукцию в растворах, содержащих перхлораты в довольно высоких концентрациях - до 0.05%, а также

сохранение жизнеспособности после кратковременного воздействия различных перхлоратов в концентрациях до 27-29% (Logan et al., 2001; Okeke et al., 2002; Anupama et al., 2015; Beblo-Vranesevic et al., 2017). Выявлена способность галофильных бактерий, выделенных из различных засоленных природных сред, репродуцировать на питательных средах, содержащих 1% смеси перхлоратов (Al Soudi et al., 2017). Показан рост галотолерантных бактерий *Halomonas venusta* и *Planococcus halocryophilus* на жидких средах, содержащих 12.2% и 13.6% перхлората натрия соответственно (Al Soudi et al., 2017; Heinz et al., 2019; 2020). На сегодняшний день предельными концентрациями перхлората натрия, при которых возможно размножение *in vitro*, для архей (*Halorubrum lacusprofundi*) считается значение 9.8%, для бактерий (*Planococcus halocryophilus*) – 13.6%, для микроскопических грибов (*Debaryomyces hansenii*) – 29.9% (Heinz et al., 2020).

Таким образом, в ходе данного исследования впервые показано широкое распространение в сообществах культивируемых бактерий штаммов, способных репродуцировать при умеренных (0.5 – 2%) и даже высоких концентрациях перхлората магния (вплоть до 15%  $Mg(ClO_4)_2$ ). Эти результаты имеют особое значение в астробиологическом аспекте: в реголите Марса, чья потенциальная обитаемость организмами, сходными с земными, сейчас активно изучается (Rettberg et al., 2019; Garcia-Descalzo et al., 2019; Cheptsov et al., 2017, 2019), были обнаружены перхлораты в концентрации 0.5% во многих областях планеты (Hecht et al., 2009; Navarro-Gonzalez et al. 2013; Davila et al., 2013). Были высказаны предположения, что эти соединения могут оказывать лимитирующее воздействие на микробные сообщества, возможно существующие в реголите (Wadsworth et al., 2017). Спектры устойчивости чистых культур, полученные в рамках данного исследования, свидетельствуют о том, что данные соединения не оказывают значительного ингибирования сообществ *in vitro* в концентрациях на порядок выше обнаруженных в реголите Марса и даже более.

Высокие показатели устойчивости к физико-химическим факторам среды, выявленные у бактерий, выделенных из пустыни Мохаве, вероятно обусловлены сочетанием контрастных климатических условий (Peters et al., 2008), высокой гетерогенностью почвенного покрова (Titus et al., 2002; Hereford et al., 2006) и эоловым переносом частиц почвы и солей в пределах пустыни (Reynolds et al., 2006).

Таксономическое разнообразие полиэкстремотолерантных штаммов, выявленное в ходе данного исследования можно рассматривать как свидетельство того, что данные свойства не являются специфической чертой того или иного бактериального таксона, а развиваются как адаптации бактерий, существующих в условиях дефицита влаги контрастного физико-химического режима. Как уже упоминалось выше, адаптация ко многим из рассматриваемых факторных воздействий может быть обусловлена устойчивостью к окислительному и осмотическому стрессам и высушиванию, которому подвергаются данные бактерии *in situ* (Makhalanyane et al., 2015). В исследованиях отдельных штаммов, выделенных из экстремальных местообитаний, предшествовавших выполнению данной работы, проводились анализы устойчивости штаммов к рН среды, присутствию солей (преимущественно NaCl), выявлявшие умеренные и даже экстремальные галотолерантные, ацидофильные и алкалофильные свойства отдельных штаммов, выделенных из экстремальных природных сред (Margesin et al., 2001, 2008; Закалюкина и др., 2004; Rainey et al., 2005; Crisler et al., 2012; Stan-Lotter et al., 2012; Jansson et al., 2014; Makhalanyane et al., 2015; Etemadifar et al., 2016). Принимая за пороговые значений «нормальных» условий температуры окружающей среды от 10 до 45°C, показатели рН выходящих в пределах 6-9 единиц, концентрации хлоридов натрия или калия до 5% включительно, сульфата магния до 15%, гидрокарбоната до 2% и перхлората магния до 1% (Rampelotto, 2010) доля в исследованной коллекции бактерий (430 штаммов) изолятов, способных развиваться *in vitro* условиях двух и более факторов окружающей среды, выходящих за «нормальные» значения

составляет 84%. Таким образом, полученные в ходе данной работы результаты выявляют широкое распространение полиэкстремотолерантных штаммов среди культивируемых бактерий, выделенных из аридных местообитаний, что является новым для микробной экологии экстремальных экосистем и требует дальнейшего изучения. Таким образом, результаты проведенных исследований дополняют существующие представления об устойчивости *in vitro* штаммов, выделенных из экстремальных природных сред и, в рассмотрении вместе с результатами ранее проведенных работ, позволяют предполагать сохранение функциональной активности бактериальных сообществ аридных экотопов *in situ* при изменении физико-химических условий окружающей среды на протяжении сезонных и годовых циклов.

Антибиотикоустойчивые штаммы выявлены среди проанализированных бактерий, выделенных из всех исследованных образцов, и составляют не более 50% от соответствующих сообществ (рис. 28).

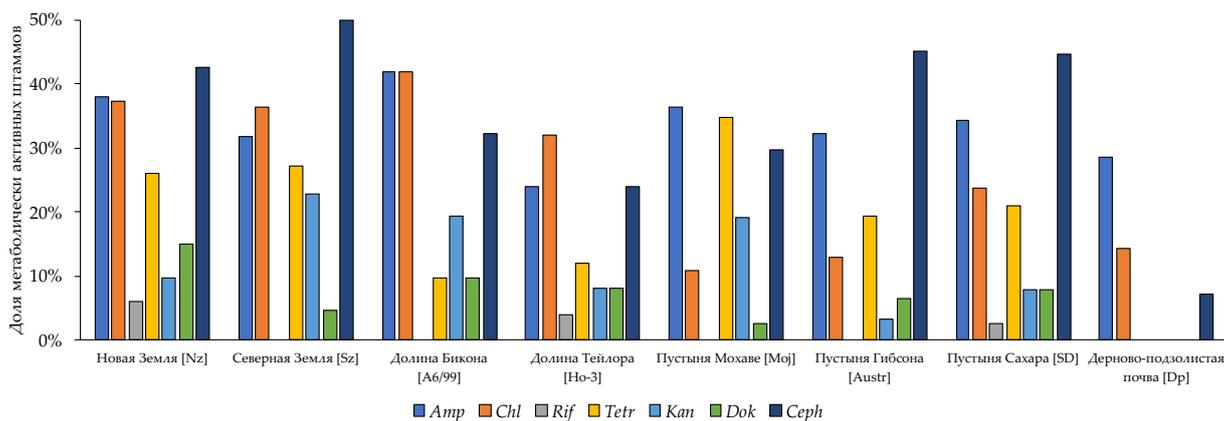
Наибольшее число штаммов было устойчиво к цефалексину (вплоть до 50% штаммов в сообществах, выделенных из мерзлоты архипелага Новая Земля), меньшие доли в сообществах штаммов устойчивых к ампициллину и хлорамфениколу в среднем около 30 и 20% от общего числа штаммов в сообществах соответственно. Доля устойчивых к тетрациклину, доксициклину и канамицину штаммов во всех сообществах составляла порядка 10 – 15%. Рифампицин в составе среды ингибировал почти все исследованные культуры бактерий, обнаружены единичные устойчивые к этому антибиотику штаммы (10 штаммов из 430 проанализированных) в сообществах, выделенных из мерзлоты архипелага Новая Земля [Nz 1 – 3], долины Тейлора [Но-3] и поверхностного горизонта почвы пустыни Сахара [SD]. Устойчивые к рифампицину штаммы принадлежали к родам *Bacillus*, *Micrococcus*, *Ochrobactrum*, *Streptomyces* и видам *Arthrobacter ginsengisoli*, *Kocuria rosea*, *Micrococcus luteus*, *Sphingopyxis chilensis*, *Stenotrophomonas rhizophila*.

Среди бактерий, выделенных из дерново-подзолистой почвы [Dp], обнаружены штаммы, устойчивые к ампициллину, хлорамфениколу и цефалексину, доля которых в сообществе составляла 29, 14 и 7% соответственно.

Один из исследуемых штаммов был не восприимчив ко всем антибиотикам в исследованных концентрациях: бактерия *Sphingopyxis chilensis*, выделенная из пустыни Сахара [SD]. Множественная антибиотикоустойчивость более чем к двум антибиотикам выявлена у 24% исследованных бактерий (103 штамма). Устойчивы к 5 и более антибиотикам были 12 штаммов бактерий из исследуемой коллекции, таксономически эти штаммы принадлежат к родам *Bacillus*, *Geodermatophilus*, *Klebsiella*, *Leucobacter*, *Micrococcus*, *Ochrobactrum*, *Streptomyces* и видам *Arthrobacter ginsengisoli*, *Brevibacterium aureum*, *Gordonia terrae*, *Leucobacter aridicollis*, *Stenotrophomonas rhizophila*. Полные характеристики антибиотикоустойчивости штаммов с множественной устойчивостью приведены в приложении №2. Устойчивость к клиническим антибиотикам разных классов по механизму биологического действия выявлена во всех исследованных сообществах культивируемых бактерий. Таким образом, можно отметить, что разнообразие и доля антибиотикоустойчивых бактерий в сообществах, выделенных из аридных местообитаний выше по сравнению с сообществом дерново-подзолистой почвы. В то же время, принципиальных отличий в доле антибиотикоустойчивых штаммов и их спектрах устойчивости между сообществами, выделенными из жарких-аридных и крио-аридных почв и пород не обнаружено.

Выделение из экстремальных природных сред, в том числе аридных, антибиотикоустойчивых штаммов ранее было показано в литературе (Singh et al., 2014; Naidoo et al., 2020). Проведенные мета-анализы плазмид, выделенных из бактерий различных родов, изолированных из крио-аридных экотопов, выявили наличие у них системы генов, ответственных за защиту клеток от низких температур, воздействия ультрафиолетового излучения, присутствия

металлоидов, тяжелых металлов и антибиотиков, что рассматривается как каскад адаптаций к существованию в аридных условиях (Baker-Austin et al., 2006; Dziewit, Bartosik, 2014; Reddy et al., 2016).



**Рисунок 28.** Профили устойчивости штаммов, выделенных из исследуемых образцов, к клиническим антибиотикам.

Среди преобладающих в исследованной выборке штаммов представителей филума *Actinobacteria* показано широкое распространение антибиотикоустойчивых штаммов, в частности, ввиду способности бактерий этого филума продуцировать антибиотики (Bull et al., 2011; Mohammadipanah, Wink, 2016). В условиях обостренной конкуренции между представителями бактериального сообщества за источники питательных веществ и доступную влагу, возможно, способность продуцировать антибиотики или, напротив, не ингибироваться антибиотиками, выделенными в среду конкурентными организмами может способствовать выживанию и размножению бактерий в микробных сообществах экстремальных природных сред. В рамках данного исследования точно указать на реализацию той или иной из указанных стратегий невозможно, однако, стоит отметить, что наличие среди бактерий аридных экосистем продуцентов антибиотиков было показано в серии предшествующих работ (Rampelotto, 2011; Dziewit, Bartosik, 2014; Efimenko et al. 2018).

## 5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В современной биосфере существует чрезвычайно высокое разнообразие экосистем, испытывающих дефицит влаги, образовавшихся как вследствие естественных геологических и климатических процессов, так и в результате антропогенной деятельности. В ходе последних исследований микробных сообществ аридных экосистем, было выявлено, вопреки ожиданиям, их высокое биоразнообразие, включающее ранее не описанные таксоны, наличие спектра адаптивных приспособлений к существованию в подобных условиях и осуществление уникальных физиолого-биохимических реакций. Однако, ввиду высокого разнообразия аридных сред многие из них все еще малоизучены или, в принципе, не изучены. Также практически не изучены физиологические особенности населяющих их микроорганизмов.

В настоящей работе исследованы прокариотные сообщества холодных и жарких аридных почв и осадочных пород: их структура и физиологические характеристики штаммов. Установлено, что во всех исследованных экотопах наблюдаются высокие значения общей численности прокариот, среди которых до 6,7% способны переходить в метаболически активное состояние и расти на питательных средах. Максимальные значения численности культивируемых бактерий и их разнообразия выявлены на богатых питательных средах при температуре инкубации 25°C. Структура сообществ метаболически активных прокариот и культивируемых бактерий исследованных образцов была сходна на уровне филумов, в то же время отмечены существенные различия на родовом уровне.

Показано, что большинство штаммов аэробных гетеротрофных бактерий, выделенных из исследованных образцов, способны расти *in vitro* в широких, вплоть до экстремальных, диапазонах температур и pH среды, а также в присутствии различных водорастворимых солей. Полиэкстремотолерантность ранее была показана для отдельных микроорганизмов, выделенных преимущественно из экстремальных местообитаний. В данной работе

выявлено, что полиэкстремотолерантность характерна для большинства культивируемых бактерий, выделенных из крио-аридных и жарких аридных экосистем. Оптимальными для этих сообществ являются значения температур и pH среды, характерные для мезофильных и нейтрофильных организмов, а также низкие концентрации растворимых солей (менее 2%), несмотря на их существование в экстремальных природных средах. Бактерии, выделенные из не аридного экотопа (дерново-подзолистой почвы) характеризовались узкими диапазонами температур, pH и солености среды, пригодных для роста *in vitro*.

Известно, что устойчивость микроорганизмов в составе сообществ в естественной гетерофазной среде существенно превосходит устойчивость в чистой культуре за счет взаимодействий клетки с окружающей ее твердофазной средой, так и с внутри- и межпопуляционными взаимодействиями в сообществах. Результаты исследования позволяют предполагать сохранение метаболической активности бактериальных сообществ исследованных образцов в широких диапазонах внешних факторов, и, следовательно, их участие в биосферных процессах.

Полученные данные о галотолерантности исследуемых штаммов могут рассматриваться как дополнительное свидетельство в пользу потенциальной обитаемости инопланетных тел, в частности в незамерзающих перхлорат-содержащих солевых растворах в реголите Марса и океанах спутника Юпитера Европы. Полученные данные позволяют утверждать, что показанный уровень и химический состав солей в этих средах не являются лимитирующими для организмов земного типа *in vitro*.

Настоящее исследование расширяет существующие представления об устойчивости *in vitro* бактерий, выделенных из экстремальных местообитаний, и свидетельствует в пользу возможного сохранения метаболической активности в естественных условиях не только при наступлении периода благоприятных температурно-влажностных условий, но и на протяжении более длительных, в том числе сезонных и годовых периодов.

Прикладное значение полученных результатов заключается в обнаружении термо- и рН-толерантных штаммов, которые могут использоваться в дальнейшем при разработке новых или модификации существующих биотехнологических производств. Антибиоткоустойчивые изоляты, в особенности характеризующиеся множественной резистентностью, перспективны к дальнейшему исследованию данного явления, с целью его преодоления в медицинской практике, а также для поиска продуцентов новых веществ-антагонистов.

Полученные в ходе исследования штаммы бактерий могут быть использованы в модельных экспериментах направленных на изучение жизнеспособности и/или метаболической активности прокариот при совокупном воздействии стрессовых факторов.

## 6. ВЫВОДЫ

1. В исследованных образцах аридных почв и пород установлена общая численность прокариотных клеток на уровне  $10^7 - 10^8$  клеток/г, из которых до 6,7% способны переходить в метаболически активное состояние *in situ* после увлажнения и до 5% культивируются на питательных средах. Минимальные значения указанных показателей выявлены в древней мерзлоте долины Бикона; максимальные – в мерзлоте архипелага Новая Земля и почвах пустынь Мохаве и Гибсона.
2. Структура сообществ культивируемых бактерий исследованных образцов была сходна на уровне филумов (*Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Firmicutes*), в то же время, отмечены существенные различия на родовом уровне. Наиболее разнообразные в таксономическом и функциональном отношении бактериальные сообщества выявлены в мерзлых породах Северного острова архипелага Новая Земля и поверхностном горизонте почвы пустыни Мохаве. При различных условиях культивирования из этих образцов выделены представители 30 и 26 родов аэробных гетеротрофных бактерий соответственно.
3. Впервые охарактеризованы прокариотные сообщества *in situ* и культивируемые бактериальные комплексы мерзлых осадочных пород Северного острова архипелага Новая Земля. Прокариотное сообщество *in situ* характеризуется высоким биологическим разнообразием, доминирующими в сообществе являются представители филума *Proteobacteria*, субдоминантные позиции занимают представители филумов *Actinobacteria* и *Bacteroidetes*.
4. В ходе работы составлена коллекция из 430 культур представителей 59 родов аэробных гетеротрофных бактерий, в том числе 11 штаммов ранее не описанных видов. Для всех культур определены таксономическое положение и физиологические характеристики, включающие в себя пределы толерантности в отношении температуры, pH среды,

концентрации водорастворимых солей. а также устойчивость к антибиотикам.

5. Показано, что большинство исследованных бактерий (84% штаммов коллекции), а не отдельные изоляты, как считалось ранее, характеризуется полиэкстремотолерантными свойствами *in vitro* в отношении исследованных факторов. Выявлены штаммы бактерий (33 штамма) проявляющие наибольшую толерантность к температурам, рН среды и присутствию водорастворимых солей, для 13 штаммов показана множественная антибиотикоустойчивость.

## 7. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Горленко М.В. Мультисубстратное тестирование почвенных микробных сообществ: Автореф. дис. канд. биол. наук. М., МГУ. 1995.
2. Горленко М.В., Кожевин П.А. Дифференциация почвенных микробных сообществ с помощью мультисубстратного тестирования // Микробиология. 1994. Т. 63. № 2. с. 289–293.
3. Горячкин С.В. Почвенный покров Севера (структура, генезис, экология, эволюция). М., ГЕОС, 2010. - 214 с.
4. Горячкин С.В., Водяницкий Ю.Н., Конюшков Д.Е., Лесовая С.Н., Мергелов Н.А., Титова А.А. Биоклиматогенные и геогенные проблемы географии почв Северной Евразии // Бюллетень Почвенного института им. ВВ Докучаева. 2008. № 62. с. 48–68.
5. Демкина Е.В., Соина В.С., Мулюкин А.Л., Эль-Регистан Г.И., Звягинцев Д.Г. Выживание неспорообразующих бактерий в вечномерзлых осадочных породах // Почвенные процессы и пространственно-временная организация почв. М.: Наука. 2006. с. 58–173.
6. Добровольская Т.Г. Головченко А.В., Звягинцев Д.Г., Инишева Л.И., Кураков А.В., Смагин А.В., Зенова Г.М., Лысак Л.В., Семенова Т.А., Степанов А.Л., Глушакова А.М., Початкова Т.Н., Кухаренко О.С., Качалкин А.В., Поздняков Л.А., Якушев А.В., Богданова О.Ю. Функционирование микробных комплексов верховых торфяников-анализ причин медленной деструкции торфа / под ред. И.Ю. Чернова. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2013. 128 с.
7. Добровольская Т.Г. Структура бактериальных сообществ почв. М.: ИКЦ Академкнига. 2002. 281 с.
8. Добровольская Т.Г., Лысак Л.В., Евтушенко Л.И. Актиномицеты рода *Geodermatophilus* в пустынных биогеоценозах // Микробиология. 1993. Т. 62, № 5. с. 904–915.
9. Заварзин Г.А. Становление биосферы // Вестник Российской академии наук. 2001. Т. 71. №11. с. 988–997.

10. Закалюкина Ю.В., Зенова Г.М., Звягинцев Д.Г. Особенности роста и морфологической дифференцировки ацидофильных и нейтрофильных почвенных стрептомицетов // Микробиология. 2004. Т. 73. №. 1. с. 89–93.
11. Канищев С.Н. Экосистемные проблемы Волго-Ахтубинской поймы // Эколого-экономические проблемы Нижней Волги: Материалы заседания круглого стола. 2001. с. 26–30.
12. Кожевин П.А. Микробные популяции в природе. М.: МГУ, 1989. 175 с.
13. Кряжевских Н.А., Демкина Е.В., Манучарова Н.А., Соина В.С., Гальченко В.Ф., Эль-Регистан Г.И. Реактивация покоящихся и некультивируемых форм бактерий из древних почв и мерзлых подпочвенных отложений // Микробиология. 2012. Т. 81. №. 4. с. 474–485
14. Кудинова А.Г., Лысак Л.В., Соина В.С., Мергелов Н.С., Долгих А.В., Шоркунов И.Г. Бактериальные сообщества в почвах криптогамных пустошей Восточной Антарктиды (оазисы Ларсеманн и Холмы Тала) // Почвоведение. 2015. № 3. с. 317–329.
15. Кудинова А.Г., Петрова М.А., Долгих А.В., Соина В.С., Лысак Л.В., Маслова О.А. Таксономическое разнообразие бактерий и их фильтрующихся форм в почвах восточной Антарктиды (оазисы Холмы Ларсеманн и Холмы Бангера) // Микробиология. 2020. Т. 89. №. 5. с. 581–592.
16. Кузьмина Ж.В., Трешкин С.Е. Климатические изменения в бассейне Нижней Волги и их влияние на состояние экосистем // Аридные экосистемы. 2014. Т. 20. №. 3. с. 14–32.
17. Лысак Л.В., Скворцова И.Н., Добровольская Т.Г. Методы оценки бактериального разнообразия почв и идентификации почвенных бактерий. М.: МАКС пресс. 2003. 120 с.
18. Лысак Л.В., Трошин Д.В., Чернов И.Ю. Бактериальные сообщества солончаков // Микробиология. 1994. Т. 63, № 4. с. 721–729.

19. Матишов Г.Г., Дженюк С.Л., Жичкин А.П., Моисеев Д.В. Климат морей Западной Арктики в начале XXI века // Известия Российской академии наук. Серия географическая. 2011. № 3. с. 17-32.
20. Мулюкин А. Л. Покоящиеся формы неспорообразующих бактерий: свойства, разнообразие, диагностика // Автореф. дисс. д. б. н. М., МГУ. 2010.
21. Нетрусов А.И., Бонч-Осмоловская Е.А., Горленко В.М., Иванов М.В., Кожевин П.А., Колотилова Н.Н., Котова И.Б., Максимов В.Н., Ножевникова А.Н., Семенов А.М., Турова Т.П., Юдина Т.Г. Экология микроорганизмов. М: Юрайт. 2004. 267 с.
22. Нетрусов А.И., Котова И.Б. Микробиология. М: Академия. 2007. 356 с.
23. Пиневич А.В. Микробиология. Биология прокариотов Т. 1 СПб: издательство СПбГУ. 2006. 352 с.
24. Пиневич А.В. Микробиология. Биология прокариотов. Т. 2 СПб.: издательство СПбГУ. 2007. 332 с.
25. Умаров М.М., Кураков А.В., Степанов А.Л. Микробиологическая трансформация азота в почве. М.: ГЕОС. 2007. 134 с.
26. Чепцов В.С., Воробьева Е.А., Полянская Л.М., Горленко М.В., Павлов А.К., Ломасов В.Н. Устойчивость микробных экосистем экстремальных местообитаний к комплексному воздействию физических факторов реголита Марса. // Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение. 2018. № 3. с. 30–35.
27. Abaydulla G., Luo X., Shi J., Peng F., Liu M., Wang Y., Dai J., Fang C. *Rufibacter tibetensis* gen. nov., sp. nov., a novel member of the family Cytophagaceae isolated from soil // Antonie van Leeuwenhoek. 2012. V. 101. №. 4. p. 725-731.
28. Abed R.M., Al-Kindi S., Al-Kharusi S. Diversity of bacterial communities along a petroleum contamination gradient in desert soils // Microbial ecology. 2015. V. 69. №. 1. p. 95-105.

29. Abed R.M., Ramette A., Hübner V., De Deckker P., de Beer D. Microbial diversity of eolian dust sources from saline lake sediments and biological soil crusts in arid Southern Australia // *FEMS microbiology ecology*. 2012. V. 80. №. 2. p. 294-304.
30. Agarwal L., Purohit H.J. Genome sequence of *Rhizobium lupini* HPC (L) isolated from saline desert soil, Kutch (Gujarat) // *Genome Announcements* 2013. V. 1. №. 1. p. e00071-12.
31. Aislabie J.M., Lau A., Dsouza M., Shepherd C., Rhodes P., Turner S.J. Bacterial composition of soils of the Lake Wellman area, Darwin Mountains, Antarctica // *Extremophiles*. 2013. V. 17. №. 5. p. 775-786.
32. Al Soudi A., Farhat O., Chen F., Clark B., Schneegurt, M. Bacterial growth tolerance to concentrations of chlorate and perchlorate salts relevant to Mars // *International Journal of Astrobiology*. 2017. V. 16. №. 3. p. 229-235.
33. Al-Mailem D.M., Kansour M.K., Radwan S.S. Moderately thermophilic, hydrocarbonoclastic bacterial communities in Kuwaiti desert soil: enhanced activity via Ca<sup>2+</sup> and dipicolinic acid amendment // *Extremophiles*. 2015. V. 19. №. 3. p. 573-583.
34. Al-Zarban, S.S., Abbas, I., Al-Musallam, A.A., Steiner, U., Stackebrandt, E., Kroppenstedt, R.M. *Nocardiosis halotolerans* sp. nov., isolated from salt marsh soil in Kuwait // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2002. V. 52. № 2. p. 525-529.
35. Alikkunju A.P., Sainjan N., Silvester R., Joseph A., Rahiman M., Antony A.C., Kumaran R.C. Hatha M. Screening and characterization of cold-active  $\beta$ -galactosidase producing psychrotrophic *Enterobacter ludwigii* from the sediments of Arctic Fjord // *Applied biochemistry and biotechnology*. 2016. V. 180. №. 3. p. 477-490.
36. Alvarado R., Leiva S. Agar-degrading bacteria isolated from Antarctic macroalgae // *Folia microbiologica*. 2017. V. 62. №. 5. p. 409-416.

37. Amann R., Ludwig W. Ribosomal RNA-targeted nucleic acid probes for studies in microbial ecology // FEMS Microbiology Reviews. 2000. V. 24. №. 5. p. 555-565.
38. Amils R., Ellis-Evans C., Hinghofer-Szalkay H. Life in extreme environments. Netherlands: Springer. 2007. 440 p.
39. Amin A., Ahmed I., Salam N., Kim B., Singh D., Zhi X., Xiao M., Li W. Diversity and distribution of thermophilic bacteria in hot springs of Pakistan // Microbial ecology. 2017. V. 74. №. 1. P. 116-127.
40. An H., Xu M., Dai J., Wang Y., Cai F., Qi H., Peng F., Fang C. *Sphingomonas xinjiangensis* sp. nov., isolated from desert sand // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2011. V. 61. №. 8. p. 1865-1869.
41. Angel R., Conrad R. In situ measurement of methane fluxes and analysis of transcribed particulate methane monooxygenase in desert soils // Environmental microbiology. 2009. V. 11. №. 10. p. 2598-2610.
42. Angel R., Pasternak Z., Soares M.I.M., Conrad R., Gillor O. Active and total prokaryotic communities in dryland soils // FEMS microbiology ecology. 2013. V. 86. №. 1. P. 130-138.
43. Ansari F.A., Ahmad I. Plant growth promoting attributes and alleviation of salinity stress to wheat by biofilm forming *Brevibacterium* sp. FAB3 isolated from rhizospheric soil // Saudi Journal of Biological Sciences. 2018.
44. Antranikian G., Suleiman M., Schäfers C., Adams M.W.W., Bartolucci S., Blamey J.M., Birkeland N., Bonch-Osmolovskaya E., da Costa M.S., Cowan D., Danson M., Forterre P., Kelly R., Ishino Y., Littlechild J., Moracci M., Noll K., Oshima T., Robb F., Rossi M., Santos H., Schönheit P., Sterner R., Thauer R., Thomm M., Wiegel J., Stetter K.O. Diversity of bacteria and archaea from two shallow marine hydrothermal vents from Vulcano Island // Extremophiles. 2017. V. 21. №. 4. 3. 733-742.
45. Anupama V.N., Prajeesh, P.V.G., Anju S., Priya P., Krishnakumar B. Diversity of bacteria, archaea and protozoa in a perchlorate treating bioreactor // Microbiological research. 2015. V. 177. p. 8-14.

46. Arahal D.R., Ventosa A. The family Halomonadaceae // The prokaryotes. Springer New York, 2006. p. 811-835.
47. Arahal D.R., Macián M.C., Garay E., Pujalte M.J. *Thalassobius mediterraneus* gen. nov., sp. nov., and reclassification of *Ruegeria gelatinovorans* as *Thalassobius gelatinovorus* comb. nov // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2005. V. 55. № 6. p. 2371-2376.
48. Atkinson B. (ed.). Changes in eukaryotic gene expression in response to environmental stress. Elsevier. 2012. 575 p.
49. Avguštin J.A., Bertok D.Ž., Avguštin G. Isolation and characterization of a novel violacein-like pigment producing psychrotrophic bacterial species *Janthinobacterium svalbardensis* sp. nov // Antonie Van Leeuwenhoek. 2013. V. 103. №. 4. p. 763-769.
50. Aydogan E.L., Busse H., Moser G., Müller C., Kämpfer P., Glaeser S.P. *Aureimonas galii* sp. nov. and *Aureimonas pseudogalii* sp. nov. isolated from the phyllosphere of *Galium album* // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2016. V. 66. №. 9. p. 3345-3354.
51. Azua-Bustos A., González-Silva C. Biotechnological applications derived from microorganisms of the Atacama Desert // BioMed research international. 2014. V. 2014. p. 909312.
52. Azua-Bustos A., Urrejola C., Vicuña R. Life at the dry edge: microorganisms of the Atacama Desert // FEBS letters. 2012. V. 586. №. 18. p. 2939-2945.
53. Baker-Austin C., Wright M.S., Stepanauskas R., McArthur J.V. Co-selection of antibiotic and metal resistance // Trends in microbiology. 2006. V. 14. №. 4. p. 176-182.
54. Balan B.M., Shini S., Krishnan K.P., Mohan M. Mercury tolerance and biosorption in bacteria isolated from Ny-Ålesund, Svalbard, Arctic // Journal of Basic Microbiology. 2018. V. 58. №. 4. p. 286-295.
55. Bär M., Hardenberg J., Meron E., Provenzale A. Modelling the survival of bacteria in drylands: the advantage of being dormant // Proceedings of the

- Royal Society of London. Series B: Biological Sciences. 2002. V. 269. №. 1494. p. 937-942.
56. Bardiya N., Bae J.H. Dissimilatory perchlorate reduction: a review // *Microbiological research*. 2011. V. 166. №. 4. p. 237-254.
  57. Barer M.R. Viable but non-culturable and dormant bacteria: time to resolve an oxymoron and a misnomer? // *Journal of medical microbiology*. 1997. V. 46. №. 8. p. 629-631.
  58. Baubin C., Farrell A.M., Šťovíček A., Ghazaryan L., Giladi I., Gillor O. Seasonal and spatial variability in total and active bacterial communities from desert soil // *Pedobiologia*. 2019. V. 74. p. 7-14.
  59. Bay S., Ferrari B., Greening C. Life without water: how do bacteria generate biomass in desert ecosystems? // *Microbiology Australia*. 2018. V. 39. p. 28-32.
  60. Beblo-Vranesevic K., Bohmeier M., Perras A.K., Schwendner P., Rabbow E., Moissl-Eichinger C., Cockell C.S., Pukall R., Vannier P., Marteinson V.T., Monaghan E.P., Ehrenfreund P., Garcia-Descalzo L., Gómez F., Malki M., Amils R., Gaboyer F., Westall F., Cabezas P., Walter N., Rettberg P. The responses of an anaerobic microorganism, *Yersinia intermedia* MASE-LG-1 to individual and combined simulated Martian stresses // *PloS one*. 2017. V. 12. №. 10. p. e0185178.
  61. Beblo-Vranesevic K., Bohmeier M., Schleumer S., Rabbow E., Perras A.K., Moissl-Eichinger C., Schwendner P., Cockell C.S., Vannier P., Marteinson V.T., Monaghan E.P., Riedo A., Ehrenfreund P., Garcia-Descalzo L., Gómez F., Malki M., Amils R., Gaboyer F., Hickman-Lewis K., Westall F., Cabezas P., Walter N., Rettberg P. Impact of Simulated Martian Conditions on (Facultatively) Anaerobic Bacterial Strains from Different Mars Analogue Sites // *Current Issues in Molecular Biology*. 2020. V. 38. № 1. p. 103-122.
  62. Beegle L.W., Peters G.H., Mungas G.S., Bearman G.H. Smith J.A. Anderson, R.C. Mojave Martian simulant: a new martian soil simulant // *Lunar and Planetary Science Conference*. 2007. V. 38. p. 2005.

63. Bell C.W., Acosta-Martinez V., McIntyre N.E., Cox S., Tissue D.T., Zak J.C. Linking microbial community structure and function to seasonal differences in soil moisture and temperature in a Chihuahuan desert grassland // *Microbial ecology*. 2009. V. 58. №. 4. p. 827-842.
64. Berezovsky I.N., Shakhnovich E.I. Physics and evolution of thermophilic adaptation // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005. V. 102. № 36. p. 12742-12747.
65. Berge O., Guinebretière M.H., Achouak W., Normand P., Heulin T. *Paenibacillus graminis* sp. nov. and *Paenibacillus odorifer* sp. nov., isolated from plant roots, soil and food // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2002. V. 52. №. 2. p. 607-616.
66. Bergmann G.T., Bates S.T., Eilers K.G., Lauber C.L., Caporaso J.G., Walters W.A., Knight R., Fierer N. The under-recognized dominance of Verrucomicrobia in soil bacterial communities // *Soil Biology and Biochemistry*. 2011. V. 43. №. 7. P. 1450-1455.
67. Bergquist L.P., Morgan H.W., Saul D. Selected enzymes from extreme thermophiles with applications in biotechnology // *Current Biotechnology*. 2014. V. 3. № 1. p. 45-59.
68. Bhaganna P., Volkers R.J.M., Bell A.N.W., Kluge K., Timson D.J., McGrath J.W., Ruijssenaars H.J. Hallsworth J.E. Hydrophobic substances induce water stress in microbial cells // *Microbial Biotechnology*. 2010. V. 3. №. 6. p. 701-716.
69. Billings S.A. Schaeffer S.M., Evans R.D. Trace N gas losses and N mineralization in Mojave desert soils exposed to elevated CO<sub>2</sub> // *Soil Biology and Biochemistry*. 2002. V. 34. № 11. p. 1777-1784.
70. Borsodi A.K., Micsinai A., Ruzsnyák A., Vladár P., Kovacs G., Toth E.M., Marialigeti K. Diversity of alkaliphilic and alkalitolerant bacteria cultivated from decomposing reed rhizomes in a Hungarian soda lake // *Microbial ecology*. 2005. V. 50. №. 1. p. 9-18.

71. Bottos E.M., Vincent W.F., Greer C.W., Whyte L.G. Prokaryotic diversity of arctic ice shelf microbial mats // *Environmental microbiology*. 2008. V. 10. №. 4. p. 950-966.
72. Boukhatem Z.F., Merabet C., Bekki A., Sekkour S., Domergue O., Dupponois R., Galiana A. Nodular bacterial endophyte diversity associated with native *Acacia* spp. in desert region of Algeria. // *African Journal of Microbiology Research*. V. 10. №. 18. p. 634-645.
73. Brenner E.V., Brouckov A.V., Kurilshikov A.M., Griva G.I., Kashuba, E., Kashuba, V.I., Melefors O., Repin V.E., Melnikov V.P., Vlassov, V. V. Draft genome sequence of *Bacillus cereus* strain F, isolated from ancient permafrost. // *Genome announcements*. V.1 №. 4. p. e00561-13.
74. Bryanskaya A.V., Berezhnoy A.A., Rozanov A.S., Peltek S.E., Pavlov, A.K. Adaptive capabilities of microorganisms of salt lakes of the Altai Region under conditions of early Mars // *Paleontological Journal*. 2013. V. 47. №. 9. p. 1089-1092.
75. Buckley D.H., Huangyutitham V., Nelson T.A., Rumberger A., Thies, J.E. Diversity of Planctomycetes in soil in relation to soil history and environmental heterogeneity. // *Applied and Environmental Microbiology*. 2006. V. 72 №. 7. p. 4522-4531.
76. Buckley E., Lee K.C., Higgins C.M., Seale, B. Whole-Genome Sequences of One *Arthrobacter* Strain and Three *Pseudarthrobacter* Strains Isolated from the Namib Desert // *Microbiology resource announcements*. 2019. V. 8. №. 43. p. e00885-19.
77. Bulat S.A. Microbiology of the subglacial Lake Vostok: first results of borehole-frozen lake water analysis and prospects for searching for lake inhabitants // *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 2016. V. 374. № 2059. p. 20140292.
78. Bull A.T. Actinobacteria of the extremobiosphere in *Extremophiles Handbook*. (ed.) K. Horikoshi. Springer. 2011. p. 1203–1240.

79. Bulygina O.N., Razuvaev V.N., Korshunova N.N., Groisman P.Y. Climate variations and changes in extreme climate events in Russia // *Environmental Research Letters*. 2007. V. 2. №. 4. p. 045020.
80. Calderón R., Palma P., Parker D., Molina M., Godoy F.A., Escudey M. Perchlorate levels in soil and waters from the Atacama Desert // *Archives of environmental contamination and toxicology*. 2014. V. 66. №. 2. p. 155-161.
81. Camacho A. Planktonic microbial assemblages and the potential effects of metazooplankton predation on the food web of lakes from the maritime Antarctica and sub-Antarctic islands // *Reviews in Environmental Science and BioTechnology*. 2006. V. 5. №. 2-3. p. 167-185.
82. Campos V.L., Valenzuela C., Yarza P., Kämpfer P., Vidal R., Zaror C., Mondaca M., Lopez-Lopez A., Rosselló-Móra R. *Pseudomonas arsenicoxydans* sp nov., an arsenite-oxidizing strain isolated from the Atacama desert // *Systematic and Applied Microbiology*. 2010. V. 33. №. 4. p. 193-197.
83. Canganella F., Bianconi G., Kato C., Gonzalez J. Microbial ecology of submerged marine caves and holes characterized by high levels of hydrogen sulphide // *Life in Extreme Environments*. Springer: Dordrecht. 2006. P. 115-124.
84. Cao Y.R., Wang Q., Jin R.X., Tang S.K., Jiang Y., He W.X., Lai H., Xu L.H. Jiang, C. L. *Methylobacterium soli* sp. nov. a methanol-utilizing bacterium isolated from the forest soil // *Antonie van Leeuwenhoek*. 2011. V. 99. №. 3. p. 629-634.
85. Cary S.C., McDonald I.R., Barrett J.E., Cowan D.A. On the rocks: the microbiology of Antarctic Dry Valley soils // *Nature Reviews Microbiology*. 2010. V. 8. №. 2. p. 129-138.
86. Catling D.C., Claire M.W., Zahnle K.J., Quinn R.C., Clark B.C., Hecht M.H., Kounaves S. Atmospheric origins of perchlorate on Mars and in the Atacama // *Journal of Geophysical Research: Planets*. 2010. V. 115. p. E1.
87. Chanal A., Chapon V., Benzerara K., Barakat M., Christen R., Achouak W., Barras F., Heulin T. The desert of Tataouine: an extreme environment that hosts

- a wide diversity of microorganisms and radiotolerant bacteria // *Environmental Microbiology*. 2006. V. 8. №. 3. p. 514-525.
88. Chang W., Akbari A., David C.A., Ghoshal S. Selective biostimulation of cold- and salt - tolerant hydrocarbon - degrading *Dietzia maris* in petroleum - contaminated sub - Arctic soils with high salinity // *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 2018. V. 93. №. 1. p. 294-304.
89. Chattopadhyay A.N., Singh P., Dey A., Roy P., Chatterjee S., Saha P., Mukhopadhyay S.K. Study of a psychrotolerant amylolytic *Paenibacillus* sp. isolated from Arctic region // *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*. 2013. V. 3. №. 4. p. 24-31.
90. Chattopadhyay M.K. Mechanism of bacterial adaptation to low temperature // *Journal of biosciences*. 2006. V. 31. № 1. p. 157-165.
91. Cheptsov V., Belov A., Vorobyova E., Osipov G., Bulat S. Viability of the soddy-podzolic soil microbial community after 148–1250 kGy gamma irradiation // *Planetary and Space Science*. 2019. V. 172. p. 8-13.
92. Cheptsov V.S., Vorobyova E.A., Manucharova N.A., Gorlenko M.V., Pavlov A.K., Vdovina M.A., Lomasov V.N., Bulat, S.A. 100 kGy gamma-affected microbial communities within the ancient Arctic permafrost under simulated Martian conditions // *Extremophiles*. 2017. V. 21. №. 6. p. 1057-1067.
93. Cheptsov V.S., Vorobyova E.A., Osipov G.A., Manucharova N.A., Polyanskaya L.M., Gorlenko, M.V., Pavlov A.K., Rosanova M.S., Lomasov, V. N. Microbial activity in Martian analog soils after ionizing radiation: Implications for the preservation of subsurface life on Mars // *AIMS microbiology*. 2018. V. 4. №. 3. p. 541.
94. Chesworth W. (ed.). *Encyclopedia of soil science*. Springer Science & Business Media. 2007.

95. Chintalapati S., Kiran M.D., Shivaji, S. Role of membrane lipid fatty acids in cold adaptation // Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France). 2004. V. 50. № 5. p. 631-642.
96. Cho H., Kim J.G., Hwang C.Y., Kang S., Choi A., Rhee S.K., Hyun, J.H. Unique microbial communities dominated by Planctomycetes in the surface sediments of the Amundsen Sea Polynya, Antarctica // 2017 ESA Annual Meeting (August 6-11). ESA, 2017.
97. Cho J.C., Tiedje J.M. Biogeography and degree of endemism of fluorescent *Pseudomonas* strains in soil // Applied and environmental microbiology. 2000. V. 66. №. 12. P. 5448-5456.
98. Cho Y., Lee I., Yang Y.Y., Baek K., Yoon S.J., Lee Y.M., Kang S.H., Lee H.K., Hwang, C. Y. *Aureimonas glaciistagni* sp. nov., isolated from a melt pond on Arctic sea ice // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2015. V. 65. №. 10. p. 3564-3569.
99. Chowdhury S.P., Schmid M., Hartmann A., Tripathi, A.K. Identification of diazotrophs in the culturable bacterial community associated with roots of *Lasiurus indicus*, a perennial grass of Thar Desert, India // Microbial ecology. 2007. V. 54. №. 1. p. 82-90.
100. Christner B.C., Kvitko B.H., Reeve J.N. Molecular identification of bacteria and eukarya inhabiting an Antarctic cryoconite hole // Extremophiles. 2003. V. 7. № 3. p. 177-183.
101. Christner B.C., Mosley-Thompson E., Thompson L.G., Zagorodnov V., Sandman K., Reeve J.N. Recovery and identification of viable bacteria immured in glacial ice // Icarus. 2000. V. 144. №. 2. p. 479-485.
102. Clarke A. The thermal limits to life on Earth // International Journal of Astrobiology. 2014. V. 13. №. 2. p. 141-154.
103. Cloutis E.A., Craig M.A., Kruzelecky R.V., Jamroz W.R., Scott A., Hawthorne F.C., Mertzman S.A. Spectral reflectance properties of minerals exposed to simulated Mars surface conditions // Icarus. 2008. V. 195. №. 1. p. 140-168.

104. Cannon S.A., Lester E.D., Shafaat H.S., Obenhuber, D.C., Ponce A. Bacterial diversity in hyperarid Atacama Desert soils // *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*. 2007. V. 112. p. G4.
105. Cooke R.U. Salt weathering in deserts // *Proceedings of the Geologists' Association*. 1981. V. 92. №. 1. p. 1-16.
106. Costello E.K., Halloy S.R., Reed S.C., Sowell P., Schmidt S.K. Fumarole-supported islands of biodiversity within a hyperarid, high-elevation landscape on Socompa Volcano, Puna de Atacama, Andes // *Applied and Environmental Microbiology*. 2009. V. 75. № 3. p. 735-747.
107. Cottrell M.T., Wood D.N., Yu L., Kirchman D.L. Selected chitinase genes in cultured and uncultured marine bacteria in the  $\alpha$ - and  $\gamma$ -subclasses of the proteobacteria // *Applied and environmental microbiology*. 2000. V. 66. №. 3. p. 1195-1201.
108. Cray J.A., Bell A.N., Bhaganna P., Mswaka A.Y., Timson D.J., Hallsworth J.E. The biology of habitat dominance; can microbes behave as weeds? // *Microbial biotechnology*. 2013. V. 6. №. 5. p. 453-492.
109. Crisafi F., Giuliano L., Yakimov M.M., Azzaro M., Denaro, R. Isolation and degradation potential of a cold-adapted oil/PAH-degrading marine bacterial consortium from Kongsfjorden (Arctic region) // *Rendiconti Lincei*. 2016. V. 27. №. 1. p. 261-270.
110. Crisler J.D., Newville T.M., Chen F., Clark B.C., Schneegurt M.A. Bacterial growth at the high concentrations of magnesium sulfate found in Martian soils // *Astrobiology*. 2012. V. 12. №. 2. p. 98-106.
111. Crits-Christoph A., Robinson C.K., Barnum T., Fricke W.F., Davila A.F., Jedynek B., McKay C.P., DiRuggiero, J. Colonization patterns of soil microbial communities in the Atacama Desert // *Microbiome*. 2013. V. 1. № 1. p. 28.
112. Cui X., Zhu G., Liu H., Jiang G., Wang Y., Zhu, W. Diversity and function of the Antarctic krill microorganisms from *Euphausia superba* // *Scientific reports*. 2016. V. 6. p. 36496.

113. D'Amico S., Collins T., Marx J.C., Feller G., Gerday C., Gerday, C. Psychrophilic microorganisms: challenges for life // EMBO reports. 2006. V. 7. № 4. p. 385-389.
114. Dahal R.H., Kim J. *Microvirga soli* sp. nov., an alphaproteobacterium isolated from soil // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2017. V. 67. №. 1. p. 127-132.
115. Dancer S.J., Shears P., Platt D.J. Isolation and characterization of coliforms from glacial ice and water in Canada's High Arctic // Journal of applied microbiology. 1997. V. 82. №. 5. p. 597-609.
116. Das R., Tiwary B.N. Isolation of a novel strain of *Planomicrobium chinense* from diesel contaminated soil of tropical environment // Journal of basic microbiology. 2013. V. 53. №. 9. p. 723-732.
117. Dastager S.G., Raziuddin Q. S., Deepa C.K., Li W.J., Pandey A. *Pontibacter niistensis* sp. nov., isolated from forest soil // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2010. V. 60. №. 12. p. 2867-2870.
118. Davila A.F., Willson D., Coates J.D., McKay C.P. Perchlorate on Mars: a chemical hazard and a resource for humans // International Journal of Astrobiology. 2013. V. 12. №. 4. p. 321-325.
119. de Los Ríos A., Ascaso C., Wierzchos J., Fernández-Valiente E., Quesada A. Microstructural characterization of cyanobacterial mats from the McMurdo Ice Shelf, Antarctica // Applied and Environmental Microbiology. 2004. V. 70. № 1. p. 569-580.
120. De Santi C., Altermark B., de Pascale D., Willassen, N.P. Bioprospecting around Arctic islands: Marine bacteria as rich source of biocatalysts // Journal of basic microbiology. 2016. V. 56. №. 3. p. 238-253.
121. Deckers J.A., Nachtergaele F. World reference base for soil resources: Introduction. Acco, 1998.
122. Degré A. van der Ploeg M.J., Caldwell T., Gooren H.P. Comparison of soil water potential sensors: a drying experiment // Vadose Zone Journal. 2017. V. 16. №. 4. p. 1-8.

123. del Carmen Montero-Calasanz M., Göker M., Rohde M., Schumann P., Pötter G., Spröer C., Gorbushina A.A., Klenk H. P. *Geodermatophilus siccatus* sp. nov., isolated from arid sand of the Saharan desert in Chad // *Antonie van Leeuwenhoek*. 2013. V. 103. №. 3. p. 449-456.
124. DeLong E.F. Archaea in coastal marine environments // *Proceedings of National Academy of Sciences USA*. 1992. V. 89. № 12. p. 5685–5689.
125. Des Marais D.J., Nuth III J.A., Allamandola L.J., Boss A.P., Farmer J.D., Hoehler T.M., Jakosky B.M., Meadows V.S., Pohorille A., Runnegar B., Spormann, A.M. The NASA astrobiology roadmap // *Astrobiology*. 2008. V. 8. № 4. p. 715-730.
126. Diehl D. Soil water repellency: Dynamics of heterogeneous surfaces // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2013. V. 432. p. 8-18.
127. Dion P. *Microbiology of extreme soils*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2008. 369 p.
128. Doran P.T., Priscu J.C. Lyons W.B., Walsh J.E., Fountain A.G., McKnight D.M., Moorhead D.L., Virginia R.A., Wall D.H., Clow G.D., Fritsen C.H., McKay C.P., Parsons A. N. Antarctic climate cooling and terrestrial ecosystem response // *Nature*. 2002. V. 415. №. 6871. p. 517-520.
129. Drees K.P., Neilson J.W., Betancourt J.L., Quade J., Henderson D.A., Pryor B.M., Maier R. M. Bacterial community structure in the hyperarid core of the Atacama Desert, Chile // *Applied and Environmental Microbiology*. 2006. V. 72. №. 12. p. 7902-7908.
130. Dziewit L., Bartosik D. Plasmids of psychrophilic and psychrotolerant bacteria and their role in adaptation to cold environments // *Frontiers in microbiology*. 2014. V. 5. p. 596.
131. Efimenko T.A., Efremenkova O.V., Demkina E.V., Petrova M.A., Sumarukova I.G., Vasilyeva B.F. Bacteria Isolated from Antarctic Permafrost are Efficient Antibiotic Producers // *Microbiology*. 2018. V. 87. №. 5. p. 692-698.

132. Elberson M.A., Malekzadeh F., Yazdi M.T., Kameranpour N., Noori-Daloii M.R., Matte M.H., Shahamat M., Colwell R.R., Sowers, K. R. *Cellulomonas persica* sp. nov. and *Cellulomonas iranensis* sp. nov., mesophilic cellulose-degrading bacteria isolated from forest soils // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2000. V. 50. №. 3. p. 993-996.
133. Estévez J., Dardanelli M.S., Megías M., Rodríguez-Navarro D.N. Symbiotic performance of common bean and soybean co-inoculated with rhizobia and *Chryseobacterium balustinum* Aur9 under moderate saline conditions // *Symbiosis*. 2009. V. 49. №. 1. p. 29-36.
134. Etemadifar Z., Gholami M., Derikvand P. UV-resistant bacteria with multiple-stress tolerance isolated from desert areas in Iran // *Geomicrobiology journal*. 2016. V. 33. №. 7. p. 1-7.
135. Evtushenko L. Taxonomy of the genus *Clavibacter* // XXXVII Annual Meeting Of The European Culture Collections'Organisation. 2018. p. 107.
136. Fagerli I.L., Svenning M.M. Arctic and subarctic soil populations of *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* nodulating three different clover species: characterisation by diversity at chromosomal and symbiosis loci // *Plant and soil*. 2005. V. 275. №. 1-2. p. 371-381.
137. Fagliarone C., Mosca C., Ubaldi I., Verseux C., Baqué M., Wilmotte A., Billi D. Avoidance of protein oxidation correlates with the desiccation and radiation resistance of hot and cold desert strains of the cyanobacterium *Chroococcidiopsis* // *Extremophiles*. 2017. V. 21. №. 6. p. 981-991.
138. Fairén A.G., Davila A.F., Lim D., Bramall N., Bonaccorsi, R., Zavaleta, J., Uceda E.R., Stoker C., Wierzechos J., Dohm J.M., Amils R., Andersen D., McKay, C.P. Astrobiology through the ages of Mars: the study of terrestrial analogues to understand the habitability of Mars // *Astrobiology*. 2010. V. 10. № 8. p. 821-843.
139. Fierer N., Leff J.W., Adams B.J., Nielsen U.N., Bates S.T., Lauber C. L., Owens S., Gilbert J.A., Wall D.H., Caporaso, J.G. Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes //

- Proceedings of the National Academy of Sciences. 2012. V. 109. №. 52. p. 21390-21395.
140. Foght J., Aislabie J., Turner S., Brown C.E., Ryburn J., Saul D.J., Lawson W.J.M.E. Culturable bacteria in subglacial sediments and ice from two southern hemisphere glaciers // *Microbial Ecology*. 2004. V. 47. № 4. p. 329-340.
141. Foissner W., Agatha S., Berger H. Soil ciliates (Protozoa, Ciliophora) from Namibia (Southwest Africa), with emphasis on two contrasting environments, the Etosha region and the Namib Desert. // *Biologiezentrum der Oberösterreichischen Landesmuseums*. 2002. V. 1459.
142. Foti M., Sorokin D.Y., Lomans B., Mussman M., Zacharova E.E., Pimenov N. V., Kuenen J.G., Muyzer, G. Diversity, activity, and abundance of sulfate-reducing bacteria in saline and hypersaline soda lakes // *Applied and environmental microbiology*. 2007. V. 73. № 7. p. 2093-2100.
143. Fudou R., Jojima Y., Seto A., Yamada K., Kimura E., Nakamatsu T., Hiraishi A., Yamanaka, S. *Corynebacterium efficiens* sp. nov., a glutamic-acid-producing species from soil and vegetables // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2002. V. 52. №. 4. p. 1127-1131.
144. Garcia D.E., Lopez B.R., de-Bashan L.E., Hirsch A.M., Maymon M., Bashan, Y. Functional metabolic diversity of the bacterial community in undisturbed resource island soils in the southern Sonoran Desert // *Land Degradation & Development*. 2018. V. 29. №. 5. p. 1467-1477.
145. Garcia-Descalzo L., Gil-Lozano C., Muñoz-Iglesias V., Ballesteros O.P., Azua-Bustos A., Fairén A.G. Bacterial presence in chaotropic perchlorates solutions at subzero temperatures: Implications to Mars // *Ciencias Planetarias y Exploración del Sistema Solar, CPES6 Congress, held 27-29 May, 2019 at INTA, Madrid, Spain, Abstract Book*. 2019. p. 28.
146. Gawande P.V., LoVetri K., Yakandawala N., Romeo T., Zhanel G.G., Cvitkovitch D.G., Madhyastha S. Antibiofilm activity of sodium bicarbonate,

- sodium metaperiodate and SDS combination against dental unit waterline-associated bacteria and yeast // *Journal of applied microbiology*. 2008. V. 105. №. 4. p. 986-992.
147. Gerday C., Aittaleb M., Bentahir M., Chessa J.P., Claverie P., Collins T., D'Amico S., Dumont J., Garsoux G., Georlette D., Hoyoux A., Lonhienne T., Meuwis M.A., Feller G. Cold-adapted enzymes: from fundamentals to biotechnology // *Trends in biotechnology*. 2000. V. 18. № 3. p. 103- 107.
148. Giannakopoulos C., Hadjinicolaou P., Kostopoulou E., Varotsos K.V., Zerefos C. Precipitation and temperature regime over Cyprus as a result of global climate change // *Advances in Geosciences*. 2010. V. 23. p. 17-24.
149. Gibello A., Vela A.I., Martin M., Barra-Caracciolo A., Grenni P., Fernández-Garayzábal, J.F. Reclassification of the members of the genus *Tetrathlobacter* Ghosh et al. 2005 to the genus *Advenella* Coenye et al. 2005 // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2009. V. 59. №. 8. p. 1914-1918.
150. Gilichinsky D., Rivkina E., Bakermans C., Shcherbakova V., Petrovskaya L., Ozerskaya S., Ivanushkina N., Kochkina G., Laurinavichuis K., Pecheritsina S., Fattakhova R., Tiedje J.M. Biodiversity of cryopegs in permafrost // *FEMS microbiology ecology*. 2005. V. 53. №. 1. p. 117-128.
151. Gilichinsky D., Rivkina E., Shcherbakova V., Laurinavichuis K., Tiedje J. Supercooled water brines within permafrost—an unknown ecological niche for microorganisms: a model for astrobiology // *Astrobiology*. 2003. V. 3. № 2. p. 331-341.
152. Gilichinsky D., Vishnivetskaya T., Petrova M., Spirina E., Mamykin V., Rivkina E. Bacteria in permafrost // *Psychrophiles: from biodiversity to biotechnology*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2008. p. 83-102.
153. Gilichinsky D.A., Wilson G.S., Friedmann E.I., McKay C.P., Sletten R.S., Rivkina E.M., Vishnivetskaya T.A., Erokhina L.G., Ivanushkina N.E., Kochkina G.A., Shcherbakova V.A., Soina V.S., Spirina E.V., Vorobyova E.A., Fyodorov-Davydov D.G., Hallet B., Ozerskaya S.M., Sorokovikov V.A.,

- Laurinavichyus K.S., Shatilovich A.V., Chanton J.P., Ostroumov V.E., Tiedje, J.M. Microbial populations in Antarctic permafrost: biodiversity, state, age, and implication for astrobiology // *Astrobiology*. 2007. V. 7. №. 2. p. 275-311.
154. Gómez-Silva B., Rainey F.A., Warren-Rhodes K.A., McKay C.P., Navarro-González, R. Atacama Desert soil microbiology // *Microbiology of extreme soils*. Springer: Berlin, Heidelberg, 2008. p. 117- 132.
155. González-Toril E., Aguilera Á. Microbial ecology in extreme acidic environments: use of molecular tools // *Microbial Diversity in the Genomic Era*. Academic Press, 2019. p. 227-238.
156. Goodfellow M., Nouioui I., Sanderson R., Xie F., Bull A.T. Rare taxa and dark microbial matter: novel bioactive actinobacteria abound in Atacama Desert soils // *Antonie van Leeuwenhoek*. 2018. V. 111. №. 8. p. 1315-1332.
157. Goordial J., Davila A., Lacelle D., Pollard W., Marinova M.M., Greer C.W., DiRuggiero J., McKay C.P., Whyte, L.G. Nearing the cold-arid limits of microbial life in permafrost of an upper dry valley, Antarctica // *The ISME journal*. 2016. V. 10. №. 7. p. 1613-1624.
158. Gordon N.S., Valenzuela A., Adams S.M., Ramsey P.W., Pollock J.L., Holben W.E., Gannon, J.E. *Pedobacter nyackensis* sp. nov., *Pedobacter alluvionis* sp. nov. and *Pedobacter borealis* sp. nov., isolated from Montana flood-plain sediment and forest soil // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2009. V. 59. №. 7. p. 1720-1726.
159. Gouffi K., Blanco C. Is the accumulation of osmoprotectant the unique mechanism involved in bacterial osmoprotection? // *International journal of food microbiology*. 2000. V. 55. № 1-3. p. 171-174.
160. Graham P.H. Stress tolerance in *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and nodulation under adverse soil conditions // *Canadian Journal of Microbiology*. 1992. V. 38. №. 6. p. 475-484.
161. Grant W.D. Life at low water activity // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. 2004. V. 359. №. 1448. p. 1249-1267.

162. Grant W.D., Gemmell R.T., McGenity T.J. Halobacteria: the evidence for longevity // *Extremophiles*. 1998. V. 2. №. 3. p. 279-287.
163. Graziano G., Merlino A. Molecular bases of protein halotolerance // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*. 2014. V. 1844. № 4. p. 850-858.
164. Gunde-Cimerman N., Sonjak S., Zalar P., Frisvad J.C., Diderichsen B., Plemenitaš, A. Extremophilic fungi in arctic ice: a relationship between adaptation to low temperature and water activity // *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*. 2003. V. 28. №. 28-32. p. 1273-1278.
165. Hallbeck L. Microbial processes in glaciers and permafrost. A literature study on microbiology affecting groundwater at ice sheet melting. Swedish Nuclear Fuel and Waste Management Co., 2009.
166. Hamidizade M., Taghavi S.M., Martins S.J., Herschlag R.A., Hockett K.L., Bull C.T., Osdaghi, E. Bacterial Brown Pit, a New Disease of Edible Mushrooms Caused by *Mycetocola* sp // *Plant Disease*. 2020. V. 104. №. 5. p. 1445-1454.
167. Hanna A.L., Youssef H.H., Amer W.M., Monib M., Fayez M., Hegazi N.A. Diversity of bacteria nesting the plant cover of north Sinai deserts, Egypt // *Journal of advanced research*. 2013. V. 4. №. 1. p. 13-26.
168. Hansen A.A., Herbert R.A. Mikkelsen K., Jensen L.L., Kristoffersen T., Tiedje J.M., Lomstein B.A., Finster, K.W. Viability, diversity and composition of the bacterial community in a high Arctic permafrost soil from Spitsbergen, Northern Norway // *Environmental microbiology*. 2007. V. 9. №. 11. p. 2870-2884.
169. Hardeman F., Sjöling S. Metagenomic approach for the isolation of a novel low-temperature-active lipase from uncultured bacteria of marine sediment // *FEMS microbiology ecology*. 2006. V. 59. № 2. p. 524- 534.
170. Hartmann D.L. *Global physical climatology*. Newnes, 2015.

171. Harwani D. Biodiversity of rare thermophilic actinomycetes in the great Indian Thar desert: an overview // *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*. 2013. V. 3. p. 9349-9356.
172. Hayes C.S., Low D.A. Signals of growth regulation in bacteria // *Current opinion in microbiology*. 2009. V. 12. №. 6. p. 667-673.
173. Hecht M.H., Kounaves S.P., Quinn R.C., West S.J., Young S.M.M., Ming D.W., Catling D.C., Clark B.C., Boynton W.V., Hoffman J., DeFlores L.P., Gospodinova K., Kapit J., Smith, P.H. Detection of perchlorate and the soluble chemistry of martian soil at the Phoenix lander site // *Science*. 2009. V. 325. №. 5936. p. 64-67.
174. Heinrich M.R. (ed.). *Extreme environments: Mechanisms of microbial adaptation*. Elsevier. 2013. 362 p.
175. Heinz J., Krahn T., Schulze-Makuch D.A New Record for Microbial Perchlorate Tolerance: Fungal Growth in NaClO<sub>4</sub> Brines and its Implications for Putative Life on Mars // *Life*. 2020. V. 10. №. 5. P. 53.
176. Heinz J., Waajen A.C., Airo A., Alibrandi A., Schirmack J., Schulze-Makuch D. Bacterial growth in chloride and perchlorate brines: Halotolerances and salt stress responses of *Planococcus halocryophilus* // *Astrobiology*. 2019. V. 19. №. 11. p. 1377-1387.
177. Hereford R., Webb R.H., Longpré C.I. Precipitation history and ecosystem response to multidecadal precipitation variability in the Mojave Desert region, 1893–2001 // *Journal of Arid Environments*. 2006. V. 67. p. 13-34.
178. Hirota K., Miura C., Motomura N., Matsuyama H., Yumoto I. Isolation and identification of bacteria from high-temperature compost at temperatures exceeding 90C // *African Journal of Microbiology Research*. 2019. V. 13. №. 7. p. 134-144.
179. Horikoshi K., Antranikian G., Bull A.T., Robb F.T., Stetter K.O. (Eds.). *Extremophiles handbook*. Springer Science & Business Media, 2010. 608 p.
180. Hozzein W.N., Yang Z.W., Alharbi S.A., Alsakkaf W.A., Asem M.D., Xiao M., Salam N., Li W.J. *Georgenia deserti* sp. nov., a halotolerant

- actinobacterium isolated from a desert sample // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2018. V. 68. №. 4. p. 1135-1139.
181. Hu Q.W., Chu X., Xiao M., Li C.T., Yan Z.F., Hozzein W.N., Kim C.J., Zhi X.Y., Li W.J. *Arthrobacter deserti* sp. nov., isolated from a desert soil sample // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2016. V. 66. №. 5. p. 2035-2040.
182. Idris H., Goodfellow M., Sanderson R., Asenjo J.A., Bull A.T. Actinobacterial rare biospheres and dark matter revealed in habitats of the Chilean Atacama Desert // Scientific reports. 2017. V. 7. №. 1. p. 1-11.
183. Izard D., Ferragut C., Gavini F., Kersters K., De Ley J., Leclerc H. *Klebsiella terrigena*, a new species from soil and water // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 1981. V. 31. №. 2. p. 116-127.
184. Jakosky B.M., Nealson K.H., Bakermans C., Ley R.E., Mellon M.T. Subfreezing activity of microorganisms and the potential habitability of Mars' polar regions // Astrobiology. 2003. V. 3. № 2. p. 343-350.
185. Janek T., Łukaszewicz M., Krasowska A. Identification and characterization of biosurfactants produced by the Arctic bacterium *Pseudomonas putida* BD2 // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2013. V. 110. p. 379-386.
186. Jansson J.K., Taş N. The microbial ecology of permafrost // Nature Reviews Microbiology. 2014. V. 12. № 6. p. 414.
187. Jiang H., Dong H., Zhang G., Yu B., Chapman L.R., Fields M. W. Microbial diversity in water and sediment of Lake Chaka, an athalassohaline lake in northwestern China // Applied and environmental microbiology. 2006. V. 72. № 6. p. 3832-3845.
188. Jones D., Keddie R.M. The genus *Arthrobacter* // Prokaryotes. 2006. V. 3. p. 945-960.
189. Jones S.E., Lennon J.T. Dormancy contributes to the maintenance of microbial diversity // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2010. V. 107. №. 13. p. 5881-5886.

190. Juck D.F., Whissell G., Steven B., Pollard W., McKay C.P., Greer C.W., Whyte L.G. Utilization of fluorescent microspheres and a green fluorescent protein-marked strain for assessment of microbiological contamination of permafrost and ground ice core samples from the Canadian High Arctic // *Applied and environmental microbiology*. 2005. V. 71. № 2. p. 1035-1041.
191. Junge K., Eicken H., Deming J.W. Bacterial activity at -2 to -20 degrees C in Arctic wintertime sea ice // *Applied and Environmental Microbiology*. 2004. V. 70. № 1. p. 550–557.
192. Jurelevicius D., Cotta S.R., Peixoto R., Rosado A.S., Seldin L. Distribution of alkane-degrading bacterial communities in soils from King George Island, Maritime Antarctic // *European journal of soil biology*. 2012. V. 51. p. 37-44.
193. Kämpfer P., Rossello-Mora R., Scholz H. C., Welinder-Olsson C., Falsen E., Busse H.J. Description of *Pseudochrobactrum* gen. nov., with the two species *Pseudochrobactrum asaccharolyticum* sp. nov. and *Pseudochrobactrum saccharolyticum* sp. nov // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2006. V. 56. №. 8. p. 1823-1829.
194. Khalilova E.A., Kotenko S.T., Islammagomedova E.A., Gasanov R.Z., Abakarova A.A., Aliverdieva D. A. Extremophilic microbial communities of saline soils and their diversity in the regions of the Caspian Depression // *Arid Ecosystems*. 2017. V. 7. №. 2. 3. 116-120.
195. Khessairi A., Fhoula I., Jaouani A., Turki Y., Cherif A., Boudabous A., Hassen A., Ouzari H. Pentachlorophenol degradation by *Janibacter* sp., a new actinobacterium isolated from saline sediment of arid land // *BioMed Research International*. 2014. V. 2014. p. 296472.
196. Kiamarsi Z., Soleimani M., Nezami A., Kafi M. Biodegradation of n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons using novel indigenous bacteria isolated from contaminated soils // *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2019. V. 16. №. 11. p. 6805-6816.

197. Kiamarsi Z., Soleimani M., Nezami A., Kafi, M. *Sphingobacterium daejeonense* sp. nov., isolated from a compost sample // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2006. V. 56. №. 9. p. 2031-2036.
198. Kim M., Boldgiv B., Singh D., Chun J., Lkhagva A., Adams J.M. Structure of soil bacterial communities in relation to environmental variables in a semi-arid region of Mongolia // Journal of arid environments. 2013. V. 89. p. 38-44.
199. Kim S.B., Falconer C., Williams E., Goodfellow, M. *Streptomyces thermocarboxydovorans* sp. nov. and *Streptomyces thermocarboxydus* sp. nov., two moderately thermophilic carboxydotrophic species from soil // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 1998. V. 48. №. 1. p. 59-68.
200. Kim T., Kim M., Kang O., Jiang F., Chang X., Liu P., Zhang Y., Da X., Zheng C., Fang C., Peng, F. *Chryseobacterium frigidum* sp. nov., isolated from high-Arctic tundra soil, and emended descriptions of *Chryseobacterium bernardetii* and *Chryseobacterium taklimakanense* // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2016. V. 66. №. 2. P. 609-615.
201. Klindworth A., Pruesse E., Schweer T., Peplies J., Quast C., Horn M., Glöckner F.O. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies // Nucleic Acids Research. 2013. V. 41. № 1. p. e1.
202. Köberl M., Müller H., Ramadan E.M., Berg, G. Desert farming benefits from microbial potential in arid soils and promotes diversity and plant health // PLoS One. 2011. V. 6. №. 9. p. e24452.
203. Kregel K.C. Invited review: heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance // Journal of applied physiology. 2002. V. 92. № 5. p. 2177-2186.
204. Kudinova A.G., Soina V.S., Maksakova S.A., Petrova, M.A. Basic antibiotic resistance of bacteria isolated from different biotopes // Microbiology. 2019. V. 88. №. 6. p. 739-746.

205. Kulbachinskiy A., Bass I., Bogdanova E., Goldfarb A., Nikiforov, V. Cold sensitivity of thermophilic and mesophilic RNA polymerases // *Journal of bacteriology*. 2004. V. 186. № 22. p. 7818-7820.
206. Kurapova A.I., Zenova G.M., Sudnitsyn I.I., Kizilova A.K., Manucharova N.A., Norovsuren Z.H., Zvyagintsev D. G. Thermotolerant and thermophilic actinomycetes from soils of Mongolia desert steppe zone // *Microbiology*. 2012. V. 81. №. 1. p. 98-108.
207. Kurtmann L., Carlsen C.U., Skibsted L.H., Risbo J. Water activity-temperature state diagrams of freeze-dried *Lactobacillus acidophilus* (La-5): Influence of physical state on bacterial survival during storage // *Biotechnology Progress*. 2009. V. 25. №. 1. p. 265-270.
208. La Ferla R., Azzaro M., Michaud L., Caruso G., Giudice A.L., Paranhos R., Cabral A.S., Conte A., Cosenza A., Maimone G., Papale M., Rappazzo A.C., Guglielmin M. Prokaryotic abundance and activity in permafrost of the northern Victoria land and upper Victoria Valley (Antarctica) // *Microbial ecology*. 2017. V. 74. №. 2. p. 402-415.
209. Lane D.J. 16S/23S rRNA sequencing // *Nucleic acid techniques in bacterial systematic*. Stackebrandt E., Goodfellow M. (Eds.). West Sussex, England: John Wiley & Sons Ltd. 1991. p. 115–175.
210. Laurent B., Marticorena B., Bergametti G., Léon J.F., Mahowald N.M. Modeling mineral dust emissions from the Sahara desert using new surface properties and soil database // *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*. 2008. V. 113. №. D14. p. 218.
211. Le P.T., Makhalanyane T.P., Guerrero L.D., Vikram S., Van de Peer Y., Cowan D.A. Comparative metagenomic analysis reveals mechanisms for stress response in hypoliths from extreme hyperarid deserts // *Genome biology and evolution*. 2016. V. 8. №. 9. p. 2737-2747.
212. LeBlanc J.C., Gonçalves E.R., Mohn W.W. Global response to desiccation stress in the soil actinomycete *Rhodococcus jostii* RHA1 // *Applied and Environmental Microbiology*. 2008. V. 74. №. 9. p. 2627-2636.

213. Lebre P.H., De Maayer P., Cowan D.A. Xerotolerant bacteria: surviving through a dry spell // *Nature Reviews Microbiology*. 2017. V. 15. №. 5. p. 285-296.
214. Lebuhn M., Achouak W., Schloter M., Berge O., Meier H., Barakat M., Hartmann A., Heulin, T. Taxonomic characterization of *Ochrobactrum* sp. isolates from soil samples and wheat roots, and description of *Ochrobactrum tritici* sp. nov. and *Ochrobactrum grignonense* sp. nov // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2000. V. 50. №. 6. p. 2207-2223.
215. Lee L.H., Azman A.S., Zainal N., Eng S.K., Ab Mutalib N.S., Yin W.F., Chan, K.G. *Microbacterium mangrovi* sp. nov., an amylolytic actinobacterium isolated from mangrove forest soil // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2014. V. 64. №. 10. p. 3513-3519.
216. Lee M., Ten L.N., Lee H.W., Oh H.W., Im W.T., Lee S.T. *Sphingopyxis ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field in South Korea // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2008. V. 58. №. 10. p. 2342-2347.
217. Lee Y.K., Kim H.W., Cho K.H., Kang S.H., Lee H.K., Kim Y.D. Phylogenetic analysis of culturable arctic bacteria // *Ocean and Polar Research*. 2004. V. 26. №. 1. p. 51-58.
218. Lee Y.M., Kim E.H. Lee H.K., Hong, S.G. Biodiversity and physiological characteristics of Antarctic and Arctic lichens-associated bacteria // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2014. V. 30. №. 10. p. 2711-2721.
219. Lester E. D., Satomi M., Ponce A. Microflora of extreme arid Atacama Desert soils // *Soil Biology and Biochemistry*. 2007. V. 39. №. 2. p. 704-708.
220. Lewin A., Wentzel A., Valla S. Metagenomics of microbial life in extreme temperature environments // *Current opinion in biotechnology*. 2013. V. 24. №. 3. p. 516-525.
221. Li F., Liu S., Lu Q., Zheng H., Osterman I.A., Lukyanov D.A., Sergiev P.V., Dontsova O.A., Liu S., Ye J., Huang D., Sun C. Studies on antibacterial activity

- and diversity of cultivable actinobacteria isolated from mangrove soil in Futian and Maowehai of China // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2019. V. 2019. p. 3476567.
222. Li F.N., Lu Q., Liao S.L., Jin T., Li W., Sun C.H. *Labeledella phragmitis* sp. nov. and *Labeledella populi* sp. nov., two endophytic actinobacteria isolated from plants in the Taklamakan Desert and emended description of the genus *Labeledella* // Systematic and applied microbiology. 2019. V. 42. №. 5. p. 126004.
223. Li J., Chen C., Zhao G.Z., Klenk H.P., Pukall R., Zhang Y.Q., Tang S.K., Li W.J. Description of *Dietzia lutea* sp. nov., isolated from a desert soil in Egypt // Systematic and applied microbiology. 2009. V. 32. №. 2. p. 118-123.
224. Li J., Liu Y., Liu G., Zhang B., Zhang W., Chen T., Zhang G. Variations in sand physiochemical properties and bacterial communities along an altitude gradient in the Taklimakan Desert // Authorea Preprints. 2020. V. 10.
225. Li M.G., Li W.J., Xu P., Cui X.L., Xu L.H., Jiang C.L. *Nocardiopsis xinjiangensis* sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from a saline soil sample in China // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2003. V. 53. № 1. p. 317-321.
226. Li W.J., Kroppenstedt R.M., Wang D., Tang S.K., Lee J.C., Park D.J., Kim C.J., Xu L.H., Jiang, C. L. Five novel species of the genus *Nocardiopsis* isolated from hypersaline soils and emended description of *Nocardiopsis salina* // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2006. V. 56. № 5. p. 1089-1096.
227. Li W.J., Park D.J., Tang S.K., Wang D., Lee J.C., Xu L.H., Kim C.J., Jiang C.L. *Nocardiopsis salina* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from saline soil in China // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2004. V. 54. № 5. p. 1805- 1809.
228. Li W.J., Xu P., Schumann P., Zhang Y.Q., Pukall R., Xu L.H., Stackebrandt E., Jiang C.L. *Georgenia ruanii* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from forest soil in Yunnan (China), and emended description of the genus *Georgenia*

- // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2007. V. 57. №. 7. p. 1424-1428.
229. Li W.J., Zhang Y.Q., Schumann P., Chen H.H., Hozzein W.N., Tian X. P., Xu L.H. Jiang C.L. *Kocuria aegyptia* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from a saline, alkaline desert soil in Egypt // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2006. V. 56. №. 4. p. 733-737.
230. Liebensteiner M.G., Pinkse M.W., Schaap P.J., Stams A.J., Lomans B.P. Archaeal (per) chlorate reduction at high temperature: an interplay of biotic and abiotic reactions // Science. 2013. V. 340. №. 6128. p. 85-87.
231. Lim J.M., Jeon C.O., Lee J.C., Xu L.H., Jiang C.L., Kim C.J. *Paenibacillus gansuensis* sp. nov., isolated from desert soil of Gansu Province in China // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2006. V. 56. №. 9. p. 2131-2134.
232. Liu H., Xu Y., Ma Y., Zhou P. Characterization of *Micrococcus antarcticus* sp. nov., a psychrophilic bacterium from Antarctica // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2000. V. 50. № 2. p. 715-719.
233. Liu L., Hui N., Liang L.X., Zhang X.X., Li L.B., Sun Q.W. *Sphingobacterium haloxyli* sp. nov., an endophytic bacterium isolated from *Haloxylon ammodendron* stems in Kumtag desert // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2018. V. 68. №. 10. p. 3279-3284.
234. Liu P., Klose M., Conrad R. Temperature effects on structure and function of the methanogenic microbial communities in two paddy soils and one desert soil // Soil Biology and Biochemistry. 2018. V. 124. p. 236-244.
235. Logan B.E., Zhang H., Mulvaney P., Milner M.G., Head I.M., Unz R.F. Kinetics of perchlorate- and chlorate-respiring bacteria // Applied and environmental microbiology. 2001. V. 67. №. 6. p. 2499-2506.
236. Lopatina A., Krylenkov V., Severinov K. Activity and bacterial diversity of snow around Russian Antarctic stations // Research in microbiology. 2013. V. 164. №. 9. p. 949-958.

237. Luo X., Wang J., Zeng X.C., Wang Y., Zhou L., Nie Y., Dai J., Fang, C. *Mycetocola manganoxydans* sp. nov., an actinobacterium isolated from the Taklamakan desert // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2012. V. 62. №. 12. p. 2967-2970.
238. Lushchak V.I. Adaptive response to oxidative stress: Bacteria, fungi, plants and animals // *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 2011. V. 153. № 2. p. 175-190.
239. Lybrand R.A., Michalski G., Graham R.C., Parker D.R. The geochemical associations of nitrate and naturally formed perchlorate in the Mojave Desert, California, USA // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 2013. V. 104. p. 136-147.
240. Maguire M.E. Magnesium transporters: properties, regulation and structure // *Frontiers in Bioscience*. 2006. V. 11. p. 3149-3163.
241. Mahaney W.C., Hart K.M., O'Reilly S.S., Allen C.C., Dohm J.M., Hancock R.G., Kelleher B.P., Milner M.W. Coleoptera and microbe biomass in Antarctic Dry Valley paleosols adjacent to the Inland Ice: Implications for Mars // *Planetary and Space Science*. 2012. V. 60. № 1. p. 386-398.
242. Makarova K.S., Aravind L., Wolf Y.I., Tatusov R.L., Minton K.W., Koonin E.V., Daly M.J. Genome of the extremely radiation-resistant bacterium *Deinococcus radiodurans* viewed from the perspective of comparative genomics // *Microbiology and molecular biology reviews*. 2001. V. 65. №. 1. p. 44-79.
243. Makhalanyane T.P., Valverde A., Gunnigle E., Frossard A., Ramond J.B., Cowan D.A. Microbial ecology of hot desert edaphic systems // *FEMS microbiology reviews*. 2015. V. 39. №. 2. p. 203-221.
244. Makhalanyane T.P., Van Goethem M.W., Cowan D.A. Microbial diversity and functional capacity in polar soils // *Current opinion in biotechnology*. 2016. V. 38. p. 159-166.
245. Mandakovic D., Cabrera P., Pulgar R., Maldonado J., Aravena P., Latorre M., Cambiazo V., González M. Complete genome sequence of *Microbacterium* sp.

- CGR1, bacterium tolerant to wide abiotic conditions isolated from the Atacama Desert // *Journal of biotechnology*. 2015. V. 216. p. 149-150.
246. Manefield M., Lee M., Koenig J. The Nature and Relevance of Solvent Stress in Microbes and Mechanisms of Tolerance // *Microbial Ecology of Extreme Environments*. Springer, Cham, 2017. p. 201-213.
247. Manucharova N.A., Trosheva E.V., Kol'tsova E.M., Demkina E.V., Karaevskaya E.V., Rivkina E.M., Mardanov A.V. Characterization of the structure of the prokaryotic complex of Antarctic permafrost by molecular genetic techniques // *Microbiology*. 2016. V. 85. № 1. p. 102-108.
248. Manucharova N.A., Vlasenko A.N., Men'ko, E.V., Zvyagintsev D.G. Specificity of the chitinolytic microbial complex of soils incubated at different temperatures // *Microbiology*. 2011. V. 80. № 2. p. 205-215.
249. Manzanera M., Vílchez J.I., García-Fontana C., Calvo C., González-López J. Genome sequence of *Leucobacter* sp. 4J7B1, a plant-osmoprotectant soil microorganism // *Genome announcement*. 2015. V. 3. № 3. p. e00398-15.
250. Marasco R., Rolli E., Ettoumi B., Vigani G., Mapelli F., Borin S., Abou-Hadid A.F., El-Behairy U.A., Sorlini C, Cherif A., Zocchi G., Daffonchio, D.A drought resistance-promoting microbiome is selected by root system under desert farming // *PloS one*. 2012. V. 7. №. 10. p. e48479.
251. Marchesi J.R., Sato T., Weightman A.J., Martin T.A., Fry J.C., Hiom S.J., Wade W.G. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA // *Applied and Environmental Microbiology*. 1998. V. 64. № 2. p. 795–799.
252. Marcolefes E., Leung T., Okshevsky M., McKay G., Hignett E., Hamel J., Aguirre G., Blenner-Hassett O., Boyle B., Lévesque R.C., Nguyen D., Gruenheid S., Whyte L. Culture-dependent bioprospecting of bacterial isolates from the Canadian high Arctic displaying antibacterial activity // *Frontiers in microbiology*. 2019. V. 10. p. 1836.
253. Margesin R. Effect of temperature on growth parameters of psychrophilic bacteria and yeasts // *Extremophiles*. 2009. V. 13. № 2. p. 257-262.

254. Margesin R., Feller G. Biotechnological applications of psychrophiles // Environmental technology. 2010. V. 31. № 8-9. p. 835-844.
255. Margesin R., Miteva V. Diversity and ecology of psychrophilic microorganisms // Research in microbiology. 2011. V. 162. №. 3. p. 346-361.
256. Margesin R., Schinner F. Potential of halotolerant and halophilic microorganisms for biotechnology // Extremophiles. 2001. V. 5. № 2. p. 73-83.
257. Margesin R., Schinner F., Marx J.C., Gerday C. (Eds.). Psychrophiles: from biodiversity to biotechnology. Berlin: Springer, 2008. 462 p.
258. Marshak S. Earth: Portrait of a Planet: Fourth International Student Edition. WW Norton & Company. 2011. 992 p.
259. McHugh T.A., Compson Z., van Gestel N., Hayer M., Ballard L., Haverty M., Hines J., Irvine N., Krassner D., Lyons T., Musta E.J., Schiff M., Zint P., Schwartz E. Climate controls prokaryotic community composition in desert soils of the southwestern United States // FEMS microbiology ecology. 2017. V. 93. № 10. p. 116.
260. Meola M., Lazzaro A., Zeyer J. Bacterial composition and survival on Sahara dust particles transported to the European Alps // Frontiers in microbiology. 2015. V. 6. P. 1454.
261. Merino N., Aronson H.S., Bojanova D.P., Feyhl-Buska J., Wong, M.L., Zhang S., Giovannelli D. Living at the Extremes: Extremophiles and the Limits of Life in a Planetary Context // Frontiers in microbiology. 2019. V. 10. p. 780.
262. Mesbah N.M., Cook G.M., Wiegel, J. The halophilic alkalithermophile *Natranaerobius thermophilus* adapts to multiple environmental extremes using a large repertoire of Na<sup>+</sup> (K<sup>+</sup>)/H<sup>+</sup> antiporters // Molecular microbiology. 2009. V. 74. № 2. p. 270-281.
263. Miteva V. Bacteria in snow and glacier ice // Psychrophiles: from biodiversity to biotechnology. Springer, Berlin, Heidelberg, 2008. p. 31-50.
264. Miteva V. Bacteria in snow and glacier ice. In Psychrophiles: From Biodiversity to Biotechnology, Margesin, R. Schinner, F.; Marx, J.C. (Eds.). Springer: Berlin, Germany. 2008. p. 31–50.

265. Miteva V., Rinehold K., Sowers T., Sebastian A., Brenchley J. Abundance, viability and diversity of the indigenous microbial populations at different depths of the NEEM Greenland ice core // *Polar Research*. 2015. V. 34. №. 1. p. 25057.
266. Miteva V., Rinehold K., Sowers T., Sebastian A., Brenchley, J. Abundance, viability and diversity of the indigenous microbial populations at different depths of the NEEM Greenland ice core // *Polar Research*. 2015. V. 34. №. 1. p. 25057.
267. Miteva V., Teacher C., Sowers T., Brenchley, J. Comparison of the microbial diversity at different depths of the GISP2 Greenland ice core in relationship to deposition climates // *Environmental microbiology*. 2009. V. 11. № 3. p. 640-656.
268. Miteva V.I., Brenchley J.E. Detection and isolation of ultrasmall microorganisms from a 120,000-year-old Greenland glacier ice core // *Applied and Environmental Microbiology*. 2005. V. 71. № 12. p. 7806-7818.
269. Miwa H., Ahmed I., Yokota A., Fujiwara T. *Lysinibacillus parviboronicapiens* sp. nov., a low-boron-containing bacterium isolated from soil // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2009. V. 59. №. 6. p. 1427-1432.
270. Mohammadipanah F., Wink J. Actinobacteria from arid and desert habitats: diversity and biological activity // *Frontiers in microbiology*. 2016. V. 6. p. 1541
271. Montero-Calasanz M., Göker M., Pötter G., Rohde M., Spröer C., Schumann P., Gorbushina A.A., Klenk H.P. *Geodermatophilus arenarius* sp. nov., a xerophilic actinomycete isolated from Saharan desert sand in Chad // *Extremophiles*. 2012. V. 16. №. 6. p. 903-909.
272. Montero-Calasanz M., Göker M., Rohde M., Schumann P., Pötter G., Spröer C., Gorbushina A.A., Klenk H. P. *Geodermatophilus siccatus* sp. nov., isolated from arid sand of the Saharan desert in Chad // *Antonie van Leeuwenhoek*. 2013. V. 103. №. 3. p. 449-456.

273. Montero-Calasanz M.D.C., Göker M., Pötter G., Rohde M., Spröer C., Schumann P., Klenk H.P., Gorbushina A.A. *Geodermatophilus telluris* sp. nov., an actinomycete isolated from Saharan desert sand // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2013. V. 63. №. 6. p. 2254-2259.
274. Moreno M.L., Piubeli F., Bonfá M.R.L., García M.T., Durrant L.R., Mellado E. Analysis and characterization of cultivable extremophilic hydrolytic bacterial community in heavy-metal- contaminated soils from the Atacama Desert and their biotechnological potentials // *Journal of applied microbiology*. 2012. V. 113. № 3. p. 550-559.
275. Morton S.R., Smith D.S., Dickman C.R., Dunkerley D.L., Friedel M.H., McAllister R.R.J., Reid J.R.W., Roshier D.A., Smith M.A., Walsh F.J., Wardle G.M., Watson I.W., Westoby M. A fresh framework for the ecology of arid Australia // *Journal of Arid Environments*. 2011. V. 75. №. 4. p. 313-329.
276. Moyano F.E., Manzoni S., Chenu C. Responses of soil heterotrophic respiration to moisture availability: An exploration of processes and models // *Soil Biology and Biochemistry*. 2013. V. 59. p. 72-85.
277. Müller O., Bang-Andreasen T., White III R.A., Elberling B., Taş N., Kneafsey T., Jansson J.K., Øvreås L. Disentangling the complexity of permafrost soil by using high resolution profiling of microbial community composition, key functions and respiration rates // *Environmental microbiology*. 2018. V. 20. №. 12. p. 4328-4342.
278. Mykytczuk N.C., Foote S.J., Omelon C.R., Southam G., Greer C.W., Whyte L.G. Bacterial growth at -15 C; molecular insights from the permafrost bacterium *Planococcus halocryophilus* Or1 // *The ISME journal*. 2013. V. 7. № 6. p. 1211.
279. Mykytczuk N.C., Wilhelm R.C., Whyte L.G. *Planococcus halocryophilus* sp. nov., an extreme sub-zero species from high Arctic permafrost // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2012. V. 62. №. 8. p. 1937-1944.

280. Naidoo Y., Valverde A., Cason E.D., Pierneef R.E., Cowan D.A. A clinically important, plasmid-borne antibiotic resistance gene ( $\beta$ -lactamase TEM-116) present in desert soils // *Science of The Total Environment*. 2020. V. 719. p. 137497.
281. Navarro-González R., Iniguez E., Rosa J.D.L., McKay C.P. Characterization of organics, microorganisms, desert soils, and Mars-like soils by thermal volatilization coupled to mass spectrometry and their implications for the search for organics on Mars by Phoenix and future space missions // *Astrobiology*. 2009. V. 9. № 8. p. 703-715
282. Navarro-Gonzalez R., Sutter B., Archer D., Ming D., Eigenbrode J., Franz H., Glavin D, McAdam A., Stern J., McKay C., Coll P., Cabane M., Conrad P., Mahaffy p., Martín-Torres F. Zorzano-Mier M., Grotzinger J. Possible detection of perchlorates by the Sample Analysis at Mars (SAM) Instrument: Comparison with previous missions // *EGU General Assembly Conference Abstracts*. 2013. V. 15.
283. Navarro-González R., Vargas E., de La Rosa J., Raga A.C., McKay C.P. Reanalysis of the Viking results suggests perchlorate and organics at midlatitudes on Mars // *Journal of Geophysical Research: Planets*. 2010. V. 115. № E12.
284. Neethu C.S., Rahiman K.M., Rosmine E., Saramma A.V., Hatha A. M. Utilization of agro-industrial wastes for the production of lipase from *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from Arctic and optimization of physical parameters // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2015. V. 4. №. 4. p. 703-709.
285. Neilson J.W., Quade J., Ortiz M., Nelson W.M., Legatzki A., Tian F., LaComb M., Betancourt J.L. Wing R.A., Soderlund C.A., Maier R. M. Life at the hyperarid margin: novel bacterial diversity in arid soils of the Atacama Desert, Chile // *Extremophiles*. 2012. V. 16. № 3. p. 553-566.

286. Nejdat A. Nitrification and occurrence of salt-tolerant nitrifying bacteria in the Negev desert soils // FEMS microbiology ecology. 2005. V. 52. № 1. p. 21-29.
287. New M., Hewitson B., Stephenson D.B., Tsiga A., Kruger A., Manhique A., Gomez B., Coelho C.A.S., Masisi D.N., Kululanga E., Mbambalala E., Adesina F., Saleh H., Kanyanga J., Adosi J., Bulane L., Fortunata L., Mdoka M.L., Lajoie R. Evidence of trends in daily climate extremes over southern and west Africa // Journal of Geophysical Research: Atmospheres. 2006. V. 111. № D14.
288. Nguyen L.M., Buttner M.P., Cruz P., Smith S.D., Robleto E.A. Effects of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> on rhizosphere soil microbial communities in a Mojave Desert ecosystem // Journal of arid environments. 2011. V. 75. № 10. p. 917-925.
289. Nhi-Cong L.T., Mikolasch A., Awe S., Sheikhany H., Klenk H.P., Schauer F. Oxidation of aliphatic, branched chain, and aromatic hydrocarbons by *Nocardia cyriacigeorgica* isolated from oil-polluted sand samples collected in the Saudi Arabian Desert // Journal of basic microbiology. 2010. V. 50. №. 3. p. 241-253.
290. Nishimura Y., Ino T., Iizuka H. *Acinetobacter radioresistens* sp. nov. isolated from cotton and soil // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 1988. V. 38. №. 2. p. 209-211.
291. Nweke C.O., Okpokwasili G.C. Drilling fluid base oil biodegradation potential of a soil *Staphylococcus* species // African Journal of Biotechnology. 2003. V. 2. №. 9. p. 293-295.
292. Oarga A. Life in extreme environments // Revista de Biologia e ciencias da Terra. 2009. V. 9. №. 1. p. 1-10.
293. Obuekwe C.O., Al-Jadi Z.K., Al-Saleh E.S. Hydrocarbon degradation in relation to cell-surface hydrophobicity among bacterial hydrocarbon degraders from petroleum-contaminated Kuwait desert environment // International Biodeterioration & Biodegradation. 2009. V. 63. №. 3. p. 273-279.
294. Ochsenreiter T., Selezi D., Quaiser A., Bonch-Osmolovskaya L., Schleper C. Diversity and abundance of Crenarchaeota in terrestrial habitats studied by 16S

- RNA surveys and real time PCR // *Environmental Microbiology*. 2003. V. 5. №. 9. p. 787-797.
295. Okeke B.C., Giblin T., Frankenberger Jr W.T. Reduction of perchlorate and nitrate by salt tolerant bacteria // *Environmental Pollution*. 2002. V. 118. №. 3. p. 357-363.
296. Okoro C.K., Brown R., Jones A.L., Andrews B.A., Asenjo J.A., Goodfellow M., Bull, A.T. Diversity of culturable actinomycetes in hyper-arid soils of the Atacama Desert, Chile // *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2009. V. 95. №. 2. p. 121-133.
297. Oren A. Diversity of halophilic microorganisms: environments, phylogeny, physiology, and applications // *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2002. V. 28. № 1. p. 56-63.
298. Oren A. Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity // *Saline systems*. 2008. V. 4. №. 1. P. 2.
299. Padan E., Bibi E., Ito M., Krulwich T.A. Alkaline pH homeostasis in bacteria: new insights // *Biochimica et biophysica acta (BBA)-biomembranes*. 2005. V. 1717. №. 2. p. 67-88.
300. Palmer F.E., Staley J.T., Murray R.G.E., Counsell T., Adams J.B. Identification of manganese-oxidizing bacteria from desert varnish // *Geomicrobiology Journal*. 1986. V. 4. №. 4. p. 343-360.
301. Palmisano M.M., Nakamura L.K., Duncan K.E., Istock C.A., Cohan F.M. *Bacillus sonorensis* sp. nov., a close relative of *Bacillus licheniformis*, isolated from soil in the Sonoran Desert, Arizona // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2001. V. 51. №. 5. p. 1671-1679.
302. Park M.K., Park Y.J., Kim M.C., Kang G.U., Kim M., Jo Y., Kwon H.J., Kang M.S., Kim M.H., Kim S.Y., Shin J. H. Complete genome sequence of *Pseudarthrobacter* sp. NIBRBAC000502771 isolated from shooting range soil in Republic of Korea // *The Microbiological Society of Korea*. 2019. V. 55. №. 4. p. 419-421.

303. Perron G.G., Whyte L., Turnbaugh P.J., Goordial J., Hanage W.P., Dantas G., Desai M.M. Functional characterization of bacteria isolated from ancient arctic soil exposes diverse resistance mechanisms to modern antibiotics // *PLoS One*. 2015. V. 10. №. 3. p. e0069533
304. Peters G.H., Abbey W., Bearman G.H., Mungas G.S., Smith J.A., Anderson R.C., Douglas S., Beegle L.W. Mojave Mars simulant—Characterization of a new geologic Mars analog // *Icarus*. 2008. V. 197. №. 2. p. 470-479.
305. Phadtare S. Recent developments in bacterial cold-shock response // *Current issues in molecular biology*. 2004. V. 6. № 2. p. 125-136.
306. Pointing, S.B., Belnap, J. Microbial colonization and controls in dryland systems. // *Nature Reviews Microbiology*. 2012. V. 10. P. 551-562.
307. Price P.B., Sowers T. Temperature dependence of metabolic rates for microbial growth, maintenance, and survival // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004. V. 101. № 13. p. 4631-4636.
308. Qiao L., Wang J. Microbial degradation of pyridine by *Paracoccus* sp. isolated from contaminated soil // *Journal of hazardous materials*. 2010. V. 176. №. 1-3. p. 220-225.
309. Qin S., Li W.J., Dastager S.G., Hozzein W.N. (). Actinobacteria in special and extreme habitats: Diversity, function roles, and environmental adaptations. // *Frontiers in microbiology*. 2016. V. 7. p. 1415.
310. Qiu X., Qu Z., Jiang F., Ren L., Chang X., Kan W., Fang C., Peng F. (2014). *Pedobacter huanghensis* sp. nov. and *Pedobacter glacialis* sp. nov., isolated from Arctic glacier foreland // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2014. V. 64. №. 7. p. 2431-2436.
311. Rainey F.A., Ray K., Ferreira M., Gatz B.Z., Nobre M.F., Bagaley D., Rash B.A., Park M.J., Earl A.M., Shank N.C., Small A.M., Henk M.C., Battista J.R., Kämpfer P., da Costa, M.S. Extensive diversity of ionizing-radiation-resistant bacteria recovered from Sonoran Desert soil and description of nine new species of the genus *Deinococcus* obtained from a single soil sample // *Applied and environmental microbiology*. 2005. V. 71. №. 9. p. 5225-5235.

312. Ramadoss D., Lakkineni V.K., Bose P., Ali S., Annapurna K. Mitigation of salt stress in wheat seedlings by halotolerant bacteria isolated from saline habitats // SpringerPlus. 2013. V. 2. № 1. p. 6.
313. Rampelotto P.H. Biotechnology of extremophiles. Springer International Publishing, 2016. 726 p.
314. Rampelotto P.H. Resistance of microorganisms to extreme environmental conditions and its contribution to astrobiology // Sustainability. 2010. V. 2. № 6. p. 1602-1623.
315. Ranjard L., Dequiedt S., Prévost-Bouré N.C., Thioulouse J., Saby N.P.A., Lelievre M., Maron P.A., Morin F.E.R, Bispo A., Jolivet C., Arrouays D., Lemanceau P. Turnover of soil bacterial diversity driven by wide-scale environmental heterogeneity // Nature communications. 2013. V. 4. № 1. p. 1-10.
316. Rateb M.E., Houssen W.E., Arnold M., Abdelrahman M.H., Deng H., Harrison W.T., Okoro C.K., Asenjo J.A., Andrews B.A., Ferguson G., Bull A.T., Goodfellow M., Ebel R., Jaspars M. Chaxamycins A–D, bioactive ansamycins from a hyper-arid desert *Streptomyces* sp // Journal of Natural products. 2011. V. 74. № 6. p. 1491-1499.
317. Ray D., Mohandass S.N., Roy P. Molecular phylogeny of arctic microbes using metagenomic approach // Advances in Microbiology. 2014. V. 4. № 16. p. 1278.
318. Reddy G.S., Chattopadhyay M.K., Shivaji S. Biodiversity, Adaptation and Biotechnological Importance of Bacteria Occurring in Cold Climates // Biotechnology of Extremophiles. Springer, Cham, 2016. p. 47-81.
319. Redman J.A., Walker S.L., Elimelech M. Bacterial adhesion and transport in porous media: Role of the secondary energy minimum // Environmental Science & Technology. 2004. V. 38. № 6. p. 1777-1785.
320. Ren M., Li X., Zhang Y., Jin Y., Li S., Huang H. *Massilia armeniaca* sp. nov., isolated from desert soil // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2018. V. 68. № 7. p. 2319-2324.

321. Rettberg P., Panitz C., Rabbow E., Beblo-Vranesevic K. Can bacteria from Mars analogue sites on Earth survive on Mars? Impact of perchlorates, drought, and radiation in an anoxic atmosphere. AbSciCon. 2019.
322. Reynolds R.L., Reheis M., Yount J., Lamothe P. Composition of aeolian dust in natural traps on isolated surfaces of the central Mojave Desert—Insights to mixing, sources, and nutrient inputs // Journal of Arid Environments. 2006. V. 66. №. 1. p. 42-61.
323. Rittershaus E.S., Baek S.H. Sasseti, C.M. The normalcy of dormancy: common themes in microbial quiescence. // Cell Host Microbe. 2013. V. 13, p. 643-651.
324. Rivkina E.M., Friedmann E.I., McKay C.P., Gilichinsky D.A. Metabolic activity of permafrost bacteria below the freezing point // Applied and Environmental Microbiology. 2000. V. 66. № 8. p. 3230-3233.
325. Robertson C.E., Harris J.K., Spear J.R., Pace N.R. Phylogenetic diversity and ecology of environmental Archaea // Current opinion in microbiology. 2005. V. 8. №. 6. p. 638-642.
326. Romanenko L.A., Tanaka N., Frolova G.M., Mikhailov V.V. *Pseudochrobactrum glaciei* sp. nov., isolated from sea ice collected from Peter the Great Bay of the Sea of Japan // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2008. V. 58. №. 10. p. 2454-2458.
327. Rothschild L.J., Mancinelli R.L. Life in extreme environments // Nature. 2001. V. 409. №. 6823. p. 1092-1101.
328. Röttig A., Hauschild P., Madkour M.H., Al-Ansari A.M., Almakishah N.H., Steinbüchel A. Analysis and optimization of triacylglycerol synthesis in novel oleaginous *Rhodococcus* and *Streptomyces* strains isolated from desert soil // Journal of biotechnology. 2016. V. 225. p. 48-56.
329. Salam L.B., Obayori S.O., Nwaokorie F.O., Suleiman A., Mustapha R. Metagenomic insights into effects of spent engine oil perturbation on the microbial community composition and function in a tropical agricultural soil //

- Environmental Science and Pollution Research. 2017. V. 24. №. 8. p. 7139-7159.
330. Salles J.F., Van Veen J.A., Van Elsas J.D. Multivariate analyses of Burkholderia species in soil: effect of crop and land use history // Applied and Environmental Microbiology. 2004. V. 70. №. 7. p. 4012-4020.
331. Santhanam R., Rong X., Huang Y., Andrews B.A., Asenjo J.A., Goodfellow M. Streptomyces bullii sp. nov., isolated from a hyper-arid Atacama Desert soil // Antonie van Leeuwenhoek. 2013. V. 103. №. 2. p. 367-373.
332. Santos H., Da Costa M.S. Compatible solutes of organisms that live in hot saline environments. Environmental Microbiology 2002. V. 4 № 9. p. 501-509.
333. Santos R., de Carvalho C.C., Stevenson A., Grant I.R., Hallsworth J.E. Extraordinary solute-stress tolerance contributes to the environmental tenacity of mycobacteria // Environmental microbiology reports. 2015. V. 7. № 5. p. 746-764.
334. Saxena A.K., Yadav A.N., Rajawat M.V.S., Rajeev K., Rajesh K., Radha P., Shukla L.. Microbial diversity of extreme regions: an unseen heritage and wealth // Indian Journal of Plant Genetic Resources. 2016. V. 29. №. 3. p. 246-248.
335. Schelble R.T., McDonald G.D., Hall J.A., Nealson K.H. Community structure comparison using FAME analysis of desert varnish and soil, Mojave Desert, California // Geomicrobiology Journal. 2005. V. 22. № 7-8. p. 353-360.
336. Schlesinger W.H., Phippen J.S., Wallenstein M.D., Hofmockel K.S., Klepeis D.M., Mahall B.E. Community composition and photosynthesis by photoautotrophs under quartz pebbles, southern Mojave Desert // Ecology. 2003. V. 84. № 12. p. 3222-3231.
337. Schmid A.K., Allers T., DiRuggiero J. SnapShot: Microbial Extremophiles // Cell. 2020. V. 180. №. 4. p. 818-818.
338. Schuerger A.C., Lee P. Microbial ecology of a crewed rover traverse in the Arctic: low microbial dispersal and implications for planetary protection on human Mars missions // Astrobiology. 2015. V. 15. №. 6. p. 478-491.

339. Schwinning S., Sala O.E., Loik M.E., Ehleringer J.R. Thresholds, memory, and seasonality: understanding pulse dynamics in arid/semi-arid ecosystems // *Oecologia*. 2004. V. 141. p. 191–193.
340. Scott K., Pain C. (ed.). *Regolith science*. Csiro Publishing, 2009. 472 p.
341. Selenska S., Klingmüller W. Direct detection of nif-gene sequences of *Enterobacter agglomerans* in soil // *FEMS microbiology letters*. 1991. V. 80. №. 2-3. p. 243-245.
342. Serreze M.C., Barry R.G. *The Arctic climate system*. Cambridge University Press, 2014. 404 p.
343. Setlow P. The germination of spores of *Bacillus* species: what we know and don't know. // *Journal of Bacteriology*. 2014. V. 196. p. 1297-1305.
344. Shaieb F.M., Elghazawani A.H., Issa A. Studies on crude oil degrading bacteria isolated from Libyan desert // *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2015. V. 4. №. 2. p. 920-927.
345. Sharma R., Manda R., Gupta S., Kumar S., Kumar V. Isolation and characterization of osmotolerant bacteria from Thar Desert of Western Rajasthan (India) // *Revista de biologia tropical*. 2013. V. 61. №. 4. p. 1551-1562.
346. Shcherbakova V., Oshurkova V., Yoshimura Y. The effects of perchlorates on the permafrost methanogens: implication for autotrophic life on Mars // *Microorganisms*. 2015. V. 3. №. 3. P. 518-534.
347. Shcherbakova V., Rivkina E., Laurinavichuis K., Pecheritsina S., Gilichinsky D. Physiological characteristics of bacteria isolated from water brines within permafrost // *International Journal of Astrobiology*. 2004. V. 3. №. 1. p. 37-43.
348. Shcherbakova V.A., Chuvil'skaya N.A., Rivkina E.M., Pecheritsyna S.A., Suetin S.V., Laurinavichius K.S., Lysenko A.M., Gilichinsky D.A. Novel halotolerant bacterium from cryopeg in permafrost: Description of *Psychrobacter muriicola* sp. nov // *Microbiology*. 2009. V. 78. №. 1. p. 84-91.
349. Shen F.T., Goodfellow M., Jones A.L., Chen Y.P., Arun A.B., Lai, W.A., Rekha P.D., Young C.C. *Gordonia soli* sp. nov., a novel actinomycete isolated from

- soil // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2006. V. 56. №. 11. p. 2597-2601.
350. Shen L., Yao T., Liu Y., Jiao N., Kang S., Xu B., Zhang S., Liu X. Downward-shifting temperature range for the growth of snow-bacteria on glaciers of the Tibetan Plateau // Geomicrobiology Journal. 2014. V. 31. № 9. p. 779-787.
351. Shi Y.L., Sun Y., Ruan Z.Y., Su J., Yu L.Y., Zhang Y.Q. *Cellulomonas telluris* sp. nov., an endoglucanase-producing actinobacterium isolated from Badain Jaran desert sand // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2020. V. 70. № 1. p. 631-635.
352. Shin S.C., Ahn D.H., Lee J.K., Kim S.J., Hong S.G., Kim E.H., Park H. Genome sequence of *Sphingomonas* sp. strain PAMC 26605, isolated from Arctic lichen (*Ochrolechia* sp.). Journal of Bacteriology. 2012. V. 194 № 6. p. 1607.
353. Shivaji S., Ray M.K., Rao N.S., Saisree L., Jagannadham M.V., Kumar G.S., Reddy G.S.N, Bhargava, P.M. *Sphingobacterium antarcticus* sp. nov., a psychrotrophic bacterium from the soils of Schirmacher Oasis, Antarctica // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 1992. V. 42. № 1. p. 102-106.
354. Shivlata L., Tulasi S. Thermophilic and alkaliphilic Actinobacteria: biology and potential applications // Frontiers in microbiology. 2015. V. 6. P. 1014.
355. Shoemaker W.R., Muscarella M.E., Lennon J.T. Genome sequence of the soil bacterium *Janthinobacterium* sp. KBS0711 // Genome Announc. 2015. V. 3. №. 3. P. e00689-15.
356. Shukla M., Chaturvedi R., Tamhane D., Vyas P., Archana G., Apte S., Bandekar J., Desai A. Multiple-stress tolerance of ionizing radiation-resistant bacterial isolates obtained from various habitats: correlation between stresses // Current microbiology. 2007. V. 54. №. 2. p. 142-148.
357. Siddikee M.A., Chauhan P.S., Anandham R., Han G.H., Sa T.M. Isolation, characterization, and use for plant growth promotion under salt stress, of ACC

- deaminase-producing halotolerant bacteria derived from coastal soil // *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2010. V. 20. № 11. p. 1577-1584.
358. Sikka D. R. Desert climate and its dynamics // *Current Science*. 1997. p. 35-46.
359. Singer A. *The soils of Israel*. - Springer Science & Business Media, 2007. 306 p.
360. Singh H., Du J., Yang J.E., Yin C.S., Kook M., Yi T.H. *Brachybacterium horti* sp. nov., isolated from garden soil // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2016. V. 66. №. 1. p. 189-195.
361. Singh P., Singh S.M., Dhakephalkar P. Diversity, cold active enzymes and adaptation strategies of bacteria inhabiting glacier cryoconite holes of High Arctic // *Extremophiles*. 2014. V. 18. №. 2. p. 229-242.
362. Singh S.K., Tripathi V.R., Jain R.K., Vikram S., Garg S.K. An antibiotic, heavy metal resistant and halotolerant *Bacillus cereus* SIU1 and its thermoalkaline protease // *Microbial cell factories*. 2010. V. 9. № 1. p. 1-7.
363. Smith H.D., Baqué M., Duncan A.G., Lloyd C.R., McKay C.P., Billi, D. Comparative analysis of cyanobacteria inhabiting rocks with different light transmittance in the Mojave Desert: a Mars terrestrial analogue // *International Journal of Astrobiology*. 2014. V. 13. № 3. p. 271-277.
364. Sowani H., Kulkarni M., Zinjarde S. An insight into the ecology, diversity and adaptations of *Gordonia* species // *Critical reviews in microbiology*. 2018. V. 44. №. 4. p. 393-413.
365. Spain A.M., Krumholz L.R., Elshahed M.S. Abundance, composition, diversity and novelty of soil Proteobacteria // *The ISME journal*. 2009. V. 3. №. 8. p. 992-1000.
366. Stan-Lotter H., Fendrihan S. *Adaption of microbial life to environmental extremes*. Vienna: Springer Vienna, 2012. 345 p.
367. Stasic A.J., Wong A.C.L., Kaspar C.W. Osmotic and desiccation tolerance in *Escherichia coli* O157: H7 requires *rpoS* ( $\sigma$  38) // *Current microbiology*. 2012. V. 65. №. 6. p. 660-665.

368. Steven B., Briggs G., McKay C.P., Pollard W.H., Greer C.W., Whyte L.G. Characterization of the microbial diversity in a permafrost sample from the Canadian high Arctic using culture-dependent and culture-independent methods // *FEMS microbiology ecology*. 2007. V. 59. № 2. p. 513-523.
369. Steven B., Leveille R., Pollard W.H., Whyte, L.G. Microbial ecology and biodiversity in permafrost // *Extremophiles*. 2006. V. 10. № 4. p. 259-267
370. Steven B., Lionard M., Kuske C.R., Vincent W.F. High bacterial diversity of biological soil crusts in water tracks over permafrost in the high arctic polar desert // *PLoS One*. 2013. V. 8. №. 8. p. e71489.
371. Steven B., Pollard W.H., Greer C.W., Whyte L.G. Microbial diversity and activity through a permafrost/ground ice core profile from the Canadian high Arctic // *Environmental Microbiology*. 2008. V. 10. №. 12. p. 3388-3403.
372. Stevenson A., Burkhardt J., Cockell C.S., Cray J.A., Dijksterhuis J., Fox-Powell M., Kee T.P., Kminek G., McGenity T.J., Timmis K.N., Timson D.J., Voytek M.A., Westall F., Yakimov M.M., Hallsworth, J.E. Multiplication of microbes below 0.690 water activity: implications for terrestrial and extraterrestrial life // *Environmental microbiology*. 2015. V. 17. №. 2. p. 257-277.
373. Stevenson A., Hallsworth J.E. Water and temperature relations of soil Actinobacteria // *Environmental microbiology reports*. 2014. V. 6. №. 6. p. 744-755.
374. Strazzulli A., Iacono R., Giglio R., Moracci M., Cobucci-Ponzano B. Metagenomics of Hyperthermophilic Environments: Biodiversity and Biotechnology // *Microbial Ecology of Extreme Environments*. Springer, Cham, 2017. p. 103-135.
375. Subhash Y., Lee S.S. *Shinella curvata* sp. nov., isolated from hydrocarbon-contaminated desert sands // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2016. V. 66. №. 10. p. 3929-3934.

376. Subramanian P., Joe M.M., Yim W.J., Hong B.H., Tipayno S.C., Saravanan V.S., Yoo J.H., Chung J.B., Sultana T., Sa T.M. Psychrotolerance mechanisms in cold-adapted bacteria and their perspectives as plant growth-promoting bacteria in temperate agriculture // *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer*. 2011. V. 44. № 4. p. 625-636.
377. Suzuki T., Nakayama T., Kurihara T., Nishino T., Esaki N. Cold-active lipolytic activity of psychrotrophic *Acinetobacter* sp. strain no. 6 // *Journal of bioscience and bioengineering*. 2001. V. 92. №. 2. p. 144-148.
378. Świącilo A., Zych-Wężyk I. Bacterial stress response as an adaptation to life in a soil environment // *Polish Journal of Environmental Studies*. 2013. V. 22. №. 6. p. 1577.
379. Takai K. Limits of terrestrial life and biosphere // *Astrobiology*. Springer, Singapore, 2019. p. 323-344.
380. Takai K., Nakamura K., Toki T., Tsunogai U., Miyazaki M., Miyazaki J., Hirayama H., Nakagawa S., Nunoura T., Horikoshi K. Cell proliferation at 122 C and isotopically heavy CH<sub>4</sub> production by a hyperthermophilic methanogen under high-pressure cultivation // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008. V. 105. № 31. p. 10949–10954.
381. Takarada H., Sekine M., Kosugi H., Matsuo Y., Fujisawa T., Omata S., Kishi E., Shimizu A., Tsukatani N., Tanikawa S., Fujita N., Harayama S. Complete genome sequence of the soil actinomycete *Kocuria rhizophila* // *Journal of bacteriology*. 2008. V. 190. №. 12. p. 4139-4146.
382. Tang Y., Wang Y., Ji S., Zhang K., Dai J., Zhang L., Peng F., Fang C. *Pedobacter xinjiangensis* sp. nov., from desert, Xinjiang // *Journal of microbiology and biotechnology*. 2010. V. 20. p. 397-402.
383. Tao X.Q., Lu G.N., Dang Z., Yang C., Yi X.Y. A phenanthrene-degrading strain *Sphingomonas* sp. GY2B isolated from contaminated soils // *Process Biochemistry*. 2007. V. 42. №. 3. p. 401-408.
384. Taş N., Prestat E., McFarland J.W., Wickland K.P., Knight R., Berhe A.A., Jorgenson T., Waldrop M.P., Jansson, J. K. Impact of fire on active layer and

- permafrost microbial communities and metagenomes in an upland Alaskan boreal forest // *The ISME journal*. 2014. V. 8. № 9. p. 1904.
385. Thombre R.S., Shivakarthik E., Sivaraman B., Vaishampayan P.A., Seuylemezian A., Meka J.K., Vijayan S., Kulkarni P.P., Pataskar T., Patil B.S. Survival of Extremotolerant Bacteria from the Mukundpura Meteorite Impact Crater // *Astrobiology*. 2019. V. 19. №. 6. P. 785-796.
386. Titus J.H., Nowak R.S., Smith S.D. Soil resource heterogeneity in the Mojave Desert // *Journal of Arid Environments*. 2002. V. 52. №. 3. p. 269-292.
387. Tobler M. Divergence in trophic ecology characterizes colonization of extreme habitats // *Biological Journal of the Linnean Society*. 2008. V. 95. №. 3. p. 517-528.
388. Trotsenko Y.A., Khmelenina V.N. Biology of extremophilic and extremotolerant methanotrophs // *Archives of Microbiology*. 2002. V. 177. №. 2. p. 123-131.
389. Van Der Wielen P.W., Bolhuis H., Borin S., Daffonchio D., Corselli C., Giuliano L., D'Auria G., de Lange G.J., Huebner A., Varnavas S.P., Thomson J., Tamburini C., Marty D., McGenity T.J., Timmis K.N. The enigma of prokaryotic life in deep hypersaline anoxic basins // *Science*. 2005. V. 307. № 5706. p. 121- 123.
390. van Gestel N.C., Reischke S., Bååth E. Temperature sensitivity of bacterial growth in a hot desert soil with large temperature fluctuations // *Soil Biology and Biochemistry*. 2013. V. 65. p. 180-185.
391. Vaniman D.T., Bish D.L., Chipera S.J., Fialips C.I., Carey J.W., Feldman W.C. Magnesium sulphate salts and the history of water on Mars // *Nature*. 2004. V. 431. № 7009. p. 663.
392. Varin T., Lovejoy C., Jungblut A.D., Vincent W.F., Corbeil, J. Metagenomic analysis of stress genes in microbial mat communities from Antarctica and the High Arctic. // *Applied and environmental microbiology*. 2012. V. 78 №2.p.549-559.

393. Vaughan D.G., Comiso J., Allison I., Carrasco J., Kaser G., Kwok R., Midgley, P. M. Observations: cryosphere // *Climate change*. 2013. V. 2103. p. 317-382.
394. Ventosa A. Unusual micro-organisms from unusual habitats: hypersaline environments // *Symposia-society for general microbiology*. Cambridge; Cambridge University Press; 2006. V. 66. p. 223.
395. Ventosa A., Mellado E., Sanchez-Porro C., Marquez M.C. Halophilic and halotolerant micro-organisms from soils // *Microbiology of extreme soils*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2008. p. 87-115.
396. Verdier T., Coutand M., Bertron A., Roques C. A review of indoor microbial growth across building materials and sampling and analysis methods // *Building and environment*. 2014. V. 80. p. 136-149.
397. Vikram S., Guerrero L.D., Makhalyane T.P., Le P.T., Seely M., Cowan D.A. Metagenomic analysis provides insights into functional capacity in a hyperarid desert soil niche community // *Environmental microbiology*. 2016. V. 18. №. 6. p. 1875-1888.
398. Vilain S., Luo Y., Hildreth M.B., Brözel V.S. Analysis of the life cycle of the soil saprophyte *Bacillus cereus* in liquid soil extract and in soil // *Applied and environmental microbiology*. 2006. V. 72. №. 7. p. 4970-4977.
399. Vishnivetskaya T. A. Viable cyanobacteria and green algae from the permafrost darkness // *Permafrost soils*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2009. p. 73-84.
400. Vishnivetskaya T., Kathariou S., McGrath J., Gilichinsky D., Tiedje, J.M. Low-temperature recovery strategies for the isolation of bacteria from ancient permafrost sediments // *Extremophiles*. 2000. V. 4. №. 3. p. 165-173.
401. Vishnivetskaya T.A., Petrova M.A., Urbance J., Ponder M., Moyer C.L., Gilichinsky D.A., Tiedje J.M. Bacterial community in ancient Siberian permafrost as characterized by culture and culture-independent methods // *Astrobiology*. 2006. V. 6. №. 3. p. 400-414.
402. Vivas A., Barea J. M., Azcón R. Interactive effect of *Brevibacillus brevis* and *Glomus mosseae*, both isolated from Cd contaminated soil, on plant growth,

- physiological mycorrhizal fungal characteristics and soil enzymatic activities in Cd polluted soil // *Environmental pollution*. 2005. V. 134. №. 2. P. 257-266.
403. Vorobyova E., Soina V., Gorlenko M., Minkovskaya N., Zalinova N., Mamukelashvili A., Gilichinsky D., Rivkina E., Vishnivetskaya T. The deep cold biosphere: facts and hypothesis // *FEMS Microbiology Reviews*. 1997. V. 20. №. 3-4. p. 277-290.
404. Wagner D. Microbial communities and processes in Arctic permafrost environments // *Microbiology of extreme soils*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2008. p. 133-154.
405. Wagner D., Lipski A., Embacher A., Gattinger A. Methane fluxes in permafrost habitats of the Lena Delta: effects of microbial community structure and organic matter quality // *Environmental microbiology*. 2005. V. 7. № 10. p. 1582-1592.
406. Wang H., Zhang X., Wang S., Zhao B., Lou K., Xing, X.H. *Massilia violaceinigra* sp. nov., a novel purple-pigmented bacterium isolated from glacier permafrost // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2018. V. 68. №. 7. p. 2271-2278.
407. Wang K., Zhang L., Li J., Pan Y., Meng L., Xu T., Zhang C., Liu H., Hong S., Huang H. Jiang J. *Planococcus dechangensis* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from saline and alkaline soils in Dechang Township, Zhaodong City, China // *Antonie van Leeuwenhoek*. 2015. V. 107. №. 4. p. 1075-1083.
408. Wang L., Zhang Y., Lu Z., Shi Y., Liu Z., Maldonado L., Goodfellow M. *Nocardia beijingensis* sp. nov., a novel isolate from soil // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2001. V. 51. №. 5. p. 1783-1788.
409. Ward M.K., Pollard W.H. A hydrohalite spring deposit in the Canadian high Arctic: A potential Mars analogue // *Earth and Planetary Science Letters*. 2018. V. 504. p. 126-138.
410. Warren-Rhodes K.A., Lee K.C., Archer S.D., Cabrol N., Ng-Boyle L., Wettergreen D., Zacny C., Pointing S.B. Subsurface Microbial Habitats in an

- Extreme Desert Mars-Analog Environment // *Frontiers in microbiology*. 2019. V. 10. p. 69.
411. Warren-Rhodes K.A., Rhodes K.L., Pointing S.B., Ewing S.A., Lacap D.C., Gomez-Silva B., Amundson R., Friedmann E.I., McKay C.P. Hypolithic cyanobacteria, dry limit of photosynthesis, and microbial ecology in the hyperarid Atacama Desert // *Microbial ecology*. 2006. V. 52. №. 3. p. 389-398.
412. Weisburg W.G., Barns S.M., Pelletier D.A., Lane D.J. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study // *Journal of Bacteriology*. 1991. V. 173. № 2. p. 697–703.
413. Weon H.Y., Yoo S.H., Anandham R., Schumann P., Kroppenstedt R.M., Kwon S.W., Stackebrandt E. *Tsukamurella soli* sp. nov., isolated from soil // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2010. V. 60. №. 7. p. 1667-1671.
414. Whitman W.B., Coleman D.C., Wiebe W.J. Prokaryotes: the unseen majority // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998. V. 95. №. 12. p. 6578-6583.
415. Whyte L.G., Schultz A., Van Beilen J.B., Luz A.P., Pellizari V., Labbé D., Greer C.W. Prevalence of alkane monooxygenase genes in Arctic and Antarctic hydrocarbon-contaminated and pristine soils // *FEMS Microbiology Ecology*. 2002. V. 41. №. 2. p. 141-150.
416. Wierzchos J., Ríos A.D.L., Ascaso C. Microorganisms in desert rocks: the edge of life on Earth. // *International Microbiology*. 2012. V. 15. p. 171-181.
417. Wilhelm R.C., Niederberger T.D., Greer C., Whyte L.G. Microbial diversity of active layer and permafrost in an acidic wetland from the Canadian High Arctic // *Canadian Journal of Microbiology*. 2011. V. 57. №. 4. p. 303-315.
418. Wilhelm R.C., Radtke K J., Mykytczuk N.C., Greer C.W., Whyte L.G. Life at the wedge: the activity and diversity of Arctic ice wedge microbial communities. // *Astrobiology* 2012. V. 12. p. 347–360

419. Xiang S.R., Shang T.C., Chen Y., Jing Z.F., Yao T. Dominant bacteria and biomass in the Kuytun 51 Glacier // *Applied and environmental microbiology*. 2009. V. 75. № 22. p. 7287-7290.
420. Yamamura H., Lisdiyanti P., Ridwan R., Ratnakomala S., Sarawati R., Lestari Y., Triana E., Kartina G., Widyastuti Y., Ando K. *Dietzia timorensis* sp. nov., isolated from soil // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2010. V. 60. № 2. p. 451-454.
421. Yandigeri M.S., Meena K.K., Singh D., Malviya N., Singh D.P., Solanki M.K., Yadav A.K., Arora D.K. Drought-tolerant endophytic actinobacteria promote growth of wheat (*Triticum aestivum*) under water stress conditions // *Plant Growth Regulation*. 2012. V. 68. № 3. p. 411-420.
422. Yang A., Si L., Shi Z., Tian L., Liu D., Zhou D., Proksch P., Lin W. Nitrosporeusines A and B, unprecedented thioester-bearing alkaloids from the Arctic *Streptomyces nitrosporeus* // *Organic letters*. 2013. V. 15. № 20. p. 5366-5369.
423. Yao T., Xiang S., Zhang X., Wang N., Wang Y. Microorganisms in the Malan ice core and their relation to climatic and environmental changes // *Global Biogeochemical Cycles*. 2006. V. 20. № 1. p. GB1004.
424. Yazdani A., Nepal S., Chevrier V.F., Kumar P. Adaptive Evolution of Bacteria to High Concentrations of Magnesium Sulfate: Implication for Europa // 2019 Astrobiology Science Conference. AGU. 2019. p. 3019.
425. Yergeau E., Hogues H., Whyte L.G., Greer C.W. The functional potential of high Arctic permafrost revealed by metagenomic sequencing, qPCR and microarray analyses. // *ISME Journal*. 2010. V. 4. p. 1206–1214
426. Yergeau E., Newsham K.K., Pearce D.A., Kowalchuk G.A. Patterns of bacterial diversity across a range of Antarctic terrestrial habitats // *Environmental microbiology*. 2007. V. 9. № 11. p. 2670-2682.
427. Yergeau E., Sanschagrin S., Beaumier D., Greer C.W. Metagenomic analysis of the bioremediation of diesel-contaminated Canadian high arctic soils // *PLoS one*. 2012. V. 7. № 1. p. e30058.

428. Yi Pan S., Tan G.Y., Convey P., Pearce D.A., Tan I.K. Diversity and bioactivity of actinomycetes from Signy Island terrestrial soils, maritime Antarctic // *Advances in Polar Science*. 2013. V. 24. №. 4. p. 208-212.
429. Yoon J.H., Kang S.J., Lee J.S., Oh H.W., Oh T.K. *Brevundimonas lenta* sp. nov., isolated from soil // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2007. V. 57. №. 10. p. 2236-2240.
430. Yoon J.H., Kang S.J., Oh H.W., Oh T.K. *Stenotrophomonas dokdonensis* sp. nov., isolated from soil // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2006. V. 56. №. 6. p. 1363-1367.
431. Yoon J.H., Lee K.C., Kang S.S., Kho Y.H., Kang K.H., Park Y.H. *Janibacter terrae* sp. nov., a bacterium isolated from soil around a wastewater treatment plant // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2000. V. 50. №. 5. p. 1821-1827.
432. Yu E.Y., Kwon M.A., Lee M., Oh J.Y., Choi J.E., Lee J.Y., Song B.K., Hahm D.H., Song, J. K. Isolation and characterization of cold-active family VIII esterases from an arctic soil metagenome // *Applied microbiology and biotechnology*. 2011. V. 90. №. 2. P. 573-581.
433. Yu L.Z.H., Luo X.S., Liu M., Huang Q. Diversity of ionizing radiation-resistant bacteria obtained from the Taklimakan Desert // *Journal of basic microbiology*. 2015. V. 55. №. 1. p. 135-140.
434. Zeng Y., Zheng T., Yu Y., Chen B., He J. Relationships between Arctic and Antarctic *Shewanella* strains evaluated by a polyphasic taxonomic approach // *Polar biology*. 2010. V. 33. №. 4. p. 531-541.
435. Zeng Y.H., Koblížek M., Li Y.X., Liu Y.P., Feng F.Y., Ji J.D., Jian J.C., Wu, Z. H. Long PCR RFLP of 16S-ITS-23S rRNA genes: a high resolution molecular tool for bacterial genotyping // *Journal of applied microbiology*. 2013. V. 114. №. 2. p. 433-447.
436. Zhang B., Kong W., Wu N., Zhang Y. Bacterial diversity and community along the succession of biological soil crusts in the Gurbantunggut Desert, Northern China // *Journal of basic microbiology*. 2016. V. 56. №. 6. p. 670-679.

437. Zhang D.C., Brouchkov A., Griva G., Schinner F., Margesin R. Isolation and characterization of bacteria from ancient Siberian permafrost sediment // *Biology*. 2013. V. 2. №. 1. 3. 85-106.
438. Zhang D.C., Liu H.C., Xin Y.H., Yu Y., Zhou P.J., Zhou Y.G. *Salinibacterium xinjiangense* sp. nov., a psychrophilic bacterium isolated from the China № 1 glacier // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2008. V. 58. №. 12. p. 2739-2742.
439. Zhang G., Cao T., Ying J., Yang Y., Ma L. Diversity and novelty of actinobacteria in Arctic marine sediments // *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2014. V. 105. №. 4. p. 743-754.
440. Zhang G., Ma X., Niu F., Dong M., Feng H., An L., Cheng G. Diversity and distribution of alkaliphilic psychrotolerant bacteria in the Qinghai–Tibet Plateau permafrost region // *Extremophiles*. 2007. V. 11. № 3. p. 415-424.
441. Zhang J.G., Xu X.W., Lei J.Q., Li S.Y., Hill R.L., Zhao Y. The effects of soil salt crusts on soil evaporation and chemical changes in different ages of Taklimakan Desert Shelterbelts // *Journal of soil science and plant nutrition*. 2013. V. 13. №. 4. p. 1019-1028.
442. Zhang J.Y., Liu X.Y., Liu S.J. *Agrococcus terreus* sp. nov. and *Micrococcus terreus* sp. nov., isolated from forest soil // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2010. V. 60. №. 8. p. 1897-1903.
443. Zhang L., Zhang Q., Luo X., Tang Y., Dai J., Li Y., Wang Y., Chen G., Fang C. *Pontibacter korlensis* sp. nov., isolated from the desert of Xinjiang, China // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2008. V. 58. №. 5. p. 1210-1214.
444. Zhang Y.Q., Chen J., Liu H.Y., Zhang Y.Q., Li W.J., Yu L.Y. *Geodermatophilus ruber* sp. nov., isolated from rhizosphere soil of a medicinal plant // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2011. V. 61. №. 1. p. 190-193.
445. Zhou Y., Dong J., Wang X., Huang X., Zhang K.Y., Zhang Y.Q., Guo Y.F., Lai R., Li W.J. *Chryseobacterium flavum* sp. nov., isolated from polluted soil

- // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2007. V. 57. №. 8. P. 1765-1769.
446. Zhou Z., Yuan M., Tang R., Chen M., Lin M., Zhang W. *Corynebacterium deserti* sp. nov., isolated from desert sand // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2012. V. 62. №. 4. p. 791-794.
447. Zhu S., Zhao Q., Zhang G., Jiang Z., Sheng H., Feng H., An L. *Paracoccus tibetensis* sp. nov., isolated from Qinghai-Tibet Plateau permafrost // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2013. V. 63. №. 5. p. 1902-1905.
448. Zul D., Wanner G., Overmann J. *Massilia brevitalea* sp. nov., a novel betaproteobacterium isolated from lysimeter soil // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2008. V. 58. №. 5. p. 1245-1251.
449. Zvyagintsev D.G., Zenova G.M., Sudnitsyn I.I., Gracheva T.A., Lapygina E.V., Napol'skaya K.R., Sydnitsyna A.E. Development of actinomycetes in brown semidesert soil under low water pressure // Eurasian soil science. 2012. V. 45. №. 7. p. 717-723.
450. Zvyagintsev D.G., Zenova G.M., Sudnitsyn I.I., Gracheva T.A., Napol'skaya K.R., Belousova M.A. Dynamics of spore germination and mycelial growth of streptomycetes under low humidity conditions // Microbiology. 2009. V. 78. №. 4. p. 440-444.

## 8. ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1. Физиологические характеристики наиболее устойчивых штаммов

№	Образец	Условия выделения		Таксономическое положение	Температурный диапазон		рН диапазон		Максимальная концентрация, при которой наблюдается рост, %				
		t, °C	Среда		min	max	min	max	NaCl	KCl	MgSO <sub>4</sub>	NaHCO <sub>3</sub>	Mg(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>
1	Пустыня Сахара, Египет	10	ГПД	<i>Leucobacter sp.</i>	10	45	5	10	5	10	20	2	5
2	Пустыня Сахара, Египет	25	ЧМ	<i>Sphingorhxis chilensis</i>	10	37	4	9	5	5	20	<2	2
3	Пустыня Мохаве, США	10	ГПД	<i>Leucobacter aridicollis</i>	10	25	3	12	20	20	20	<2	15
4	Пустыня Мохаве, США	10	ЧМ	<i>Streptomyces sp.</i>	2	25	4	12	20	20	20	20	15
5	Пустыня Мохаве, США	25	ГПД	<i>Arthrobacter sp.</i>	10	45	4	12	20	20	20	2	15
6	Пустыня Мохаве, США	25	ГПД	<i>Arthrobacter sp.</i>	2	45	3	12	20	20	20	20	15
7	Пустыня Мохаве, США	25	ГПД	<i>Microbacterium sp.</i>	2	45	4	12	20	20	20	5	15
8	Пустыня Мохаве, США	25	ГПД	<i>Bacillus pumilus</i>	2	45	4	12	20	20	20	5	15
9	Пустыня Мохаве, США	25	ГПД	<i>Microbacterium sp.</i>	2	37	4	11	20	20	20	15	15
10	Пустыня Мохаве, США	25	ГПД	<i>Arthrobacter sp.</i>	2	37	7	12	20	20	20	20	15
11	Пустыня Мохаве, США	25	ГПД	<i>Cellulomonas sp.</i>	2	37	7	12	20	20	20	20	15

12	Пустыня Мохаве, США	25	ГПД	<i>Planomicrobium okeanoikoites</i>	2	37	4	12	20	20	20	20	5	15
13	Пустыня Мохаве, США	25	ГПД	<i>Georgenia sp.</i>	2	37	4	12	20	20	20	20	15	15
14	Пустыня Мохаве, США	25	ГПД	<i>Microbacterium barkeri</i>	2	37	4	12	20	20	20	20	15	10
15	Пустыня Мохаве, США	25	ГПД	<i>Rufibacter sp.</i>	10	45	4	12	20	20	20	20	20	15
16	Пустыня Мохаве, США	25	ГПД	<i>Arthrobacter sp.</i>	2	45	3	12	20	20	20	20	20	15
17	Пустыня Мохаве, США	25	ГПД	<i>Microbacterium paraoxydans</i>	4	45	3	12	20	20	20	20	<2	15
18	Пустыня Мохаве, США	25	ГПД	<i>Pseudarthrobacter sp.</i>	10	45	4	12	15	20	20	20	15	5
19	Пустыня Мохаве, США	25	ГПД	<i>Kocuria sp.</i>	10	45	3	12	20	20	20	20	15	15
20	Пустыня Мохаве, США	25	ЧМ	<i>Bacillus sp.</i>	2	25	6	12	15	15	20	20	<2	15
21	Пустыня Мохаве, США	25	ЧМ	<i>Salinibacterium sp.</i>	10	45	4	12	15	20	20	20	15	15
22	Пустыня Мохаве, США	25	ЧМ	<i>Arthrobacter sp.</i>	2	37	4	11	20	20	20	20	20	15
23	Пустыня Мохаве, США	25	ЧМ	<i>Arthrobacter crystallopolietes</i>	4	45	4	12	20	20	20	20	<2	15
24	Пустыня Мохаве, США	25	ЧМ	<i>Pontibacter sp.</i>	2	25	3	12	20	20	20	20	<2	15
25	Морена, Новая Земля	25	ГПД	<i>Brevibacterium aureum</i>	10	37	4	12	5	<2	20	20	5	1

26	Морена и лед, Новая Земля	10	ГПД	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	2	25	5	11	2	<2	10	2	1
27	Морена и лед, Новая Земля	25	ГПД	<i>Arthrobacter ginsengisoli</i>	4	37	4	12	5	2	20	10	5
28	Лед, Новая Земля	10	ГПД	<i>Klebsiella sp.</i>	10	37	4	10	15	2	20	15	5
29	Лед, Новая Земля	25	ГПД	<i>Ochrobactrum sp.</i>	4	25	4	9	5	2	20	10	1
30	Лед, Новая Земля	25	ГПД	<i>Micrococcus sp.</i>	10	37	6	12	10	2	20	10	5
31	Долина Бикона, Антардита	10	ЧМ	<i>Geodermatophilus sp.</i>	10	37	4	12	5	10	20	<2	2
32	Долина Бикона, Антардита	25	ГПД	<i>Gordonia terrae</i>	2	37	4	8	5	10	20	5	2
33	Сухие Долины, Антарктида	25	ЧМ	<i>Streptomyces sp.</i>	2	50	4	11	10	5	20	2	2

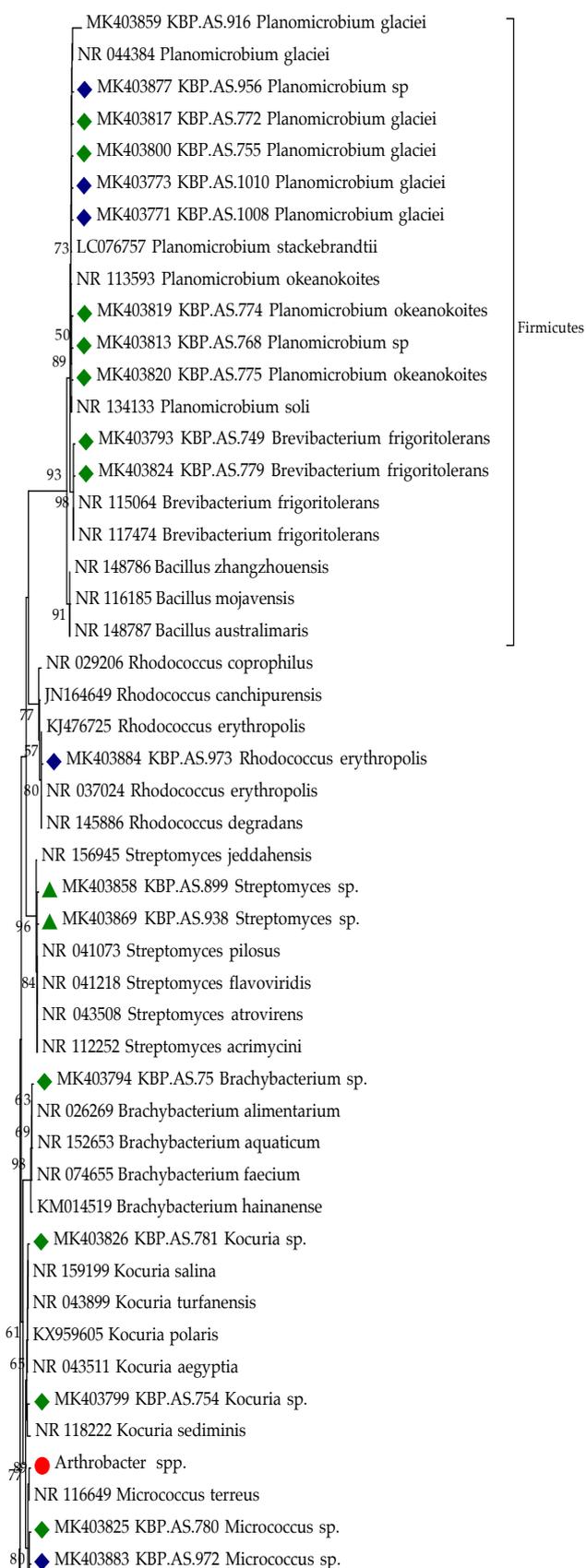
## Приложение 2. Чувствительность к антибиотикам множественно устойчивых штаммов

№	Образец	Условия выделения		Таксономическое положение	Присутствие в среде антибиотика в концентрации 100 мг/л							
		t, °C	Среда		Amp	Chl	Rif	Tet	Kan	Dox	Seph	
1	Пустыня Сахара, Египет	10	ГПД	<i>Leucobacter sp.</i>	R	R	S	R	R	R	R	S
2	Пустыня Сахара, Египет	25	ЧМ	<i>Sphingoryx chilensis</i>	R	R	R	R	R	R	R	R
3	Пустыня Мохаве, США	10	ГПД	<i>Leucobacter aridicollis</i>	R	R	S	R	R	R	S	R
4	Пустыня Мохаве, США	25	ЧМ	<i>Bacillus sp.</i>	R	S	S	R	R	R	R	R
5	Морена, Новая Земля	25	ГПД	<i>Brevibacterium aureum</i>	R	R	S	R	R	R	S	R
6	Морена и лед, Новая Земля	10	ГПД	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	R	R	R	S	R	R	S	R
7	Морена и лед, Новая Земля	25	ГПД	<i>Arthrobacter ginsengisoli</i>	R	R	S	R	R	R	R	S
8	Лед, Новая Земля	10	ГПД	<i>Klebsiella sp.</i>	R	R	S	R	R	R	R	S
9	Лед, Новая Земля	25	ГПД	<i>Ochrobactrum sp.</i>	R	R	R	S	R	R	S	R
10	Лед, Новая Земля	25	ГПД	<i>Micrococcus sp.</i>	R	R	S	R	S	R	R	R
11	Долина Бикона, Антардита	10	ЧМ	<i>Geodermatophilus sp.</i>	R	R	S	R	R	R	S	R
12	Долина Бикона, Антардита	25	ГПД	<i>Gordonia terrae</i>	S	R	S	R	R	R	R	R
13	Сухие Долины, Антарктида	25	ЧМ	<i>Streptomyces sp.</i>	R	R	R	R	R	R	S	R

Amp – ампициллин, Chl – хлорамфеникол, Rif – рифампицин, Tet – тетрациклин, Kan – канамицин, Dox – доксициклин,

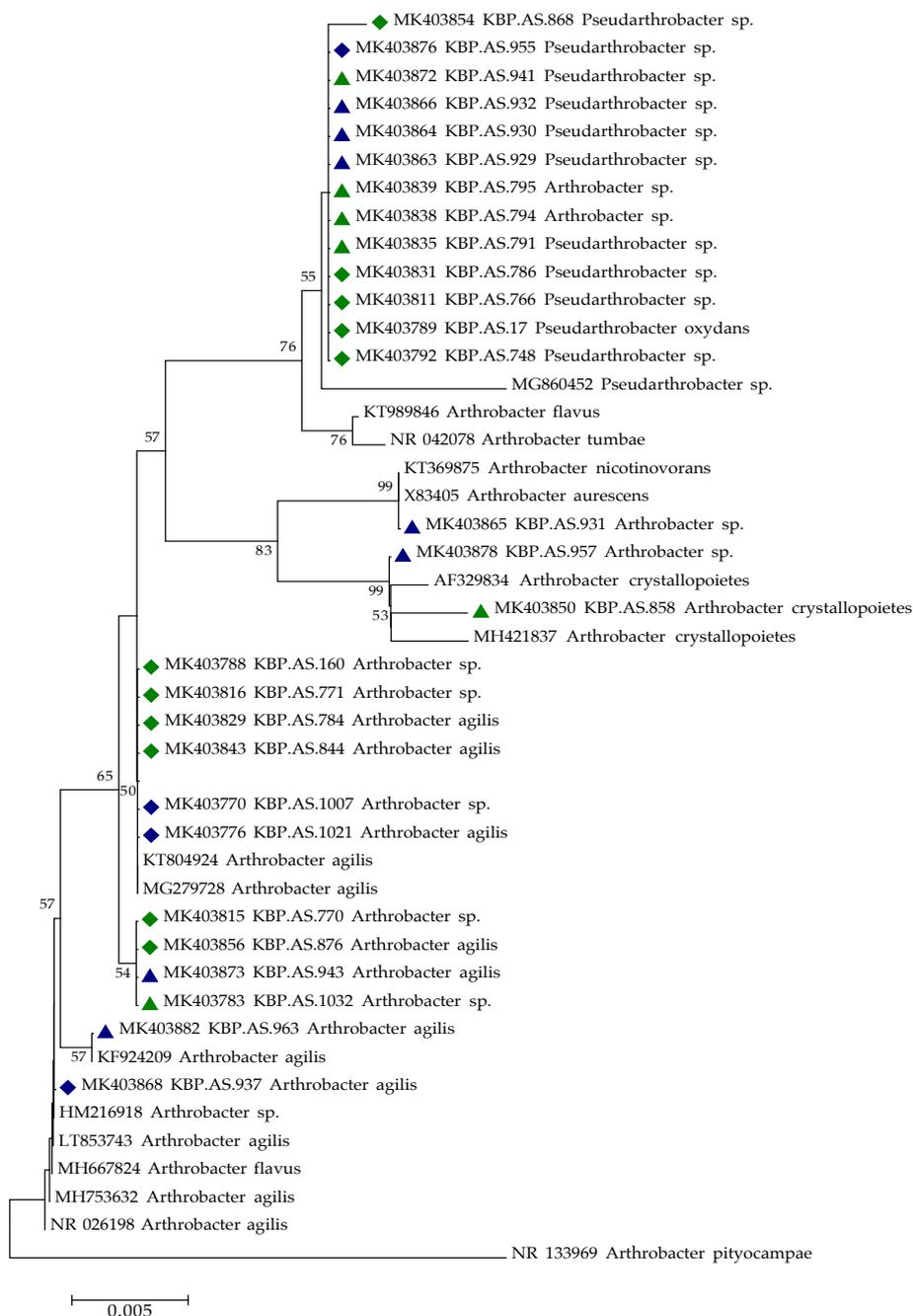
Seph – цефралексин; R – штамм устойчив к данному антибиотику, S – штамм чувствителен к данному антибиотику.

### Приложение 3. Филогенетические деревья изолятов

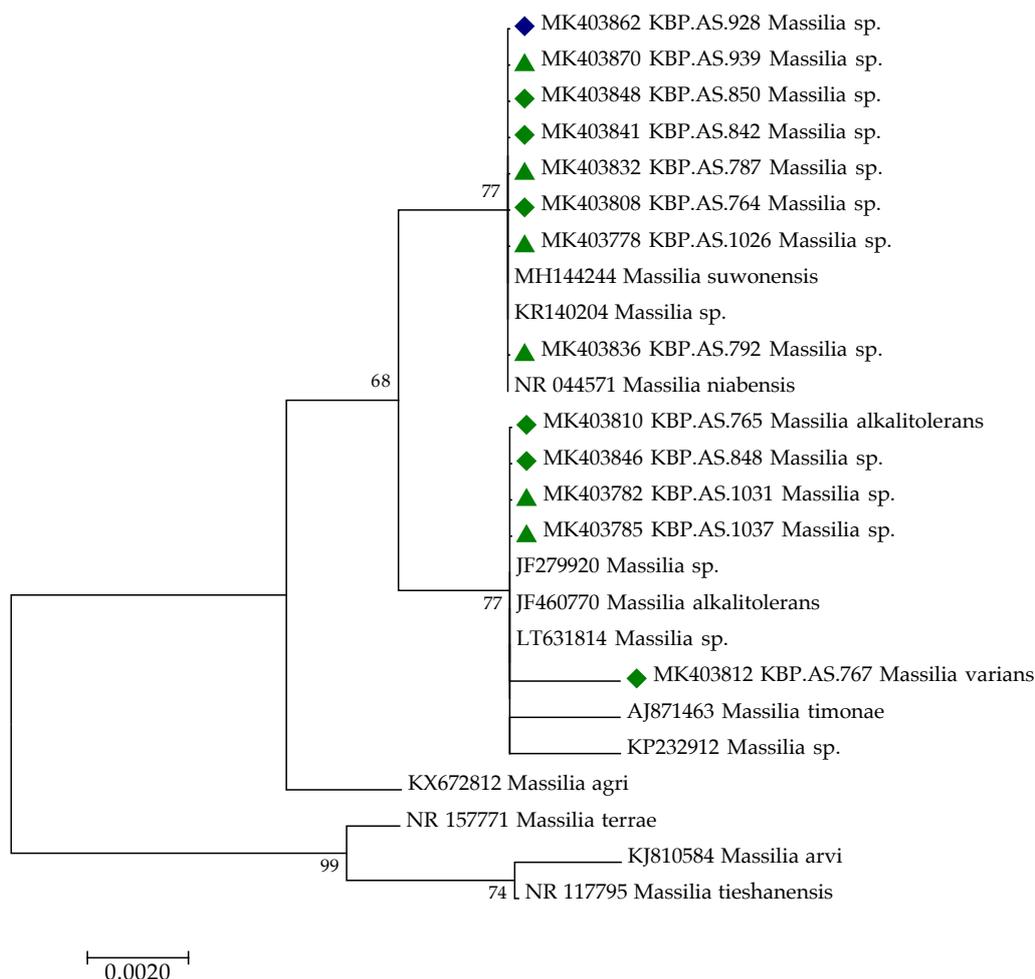




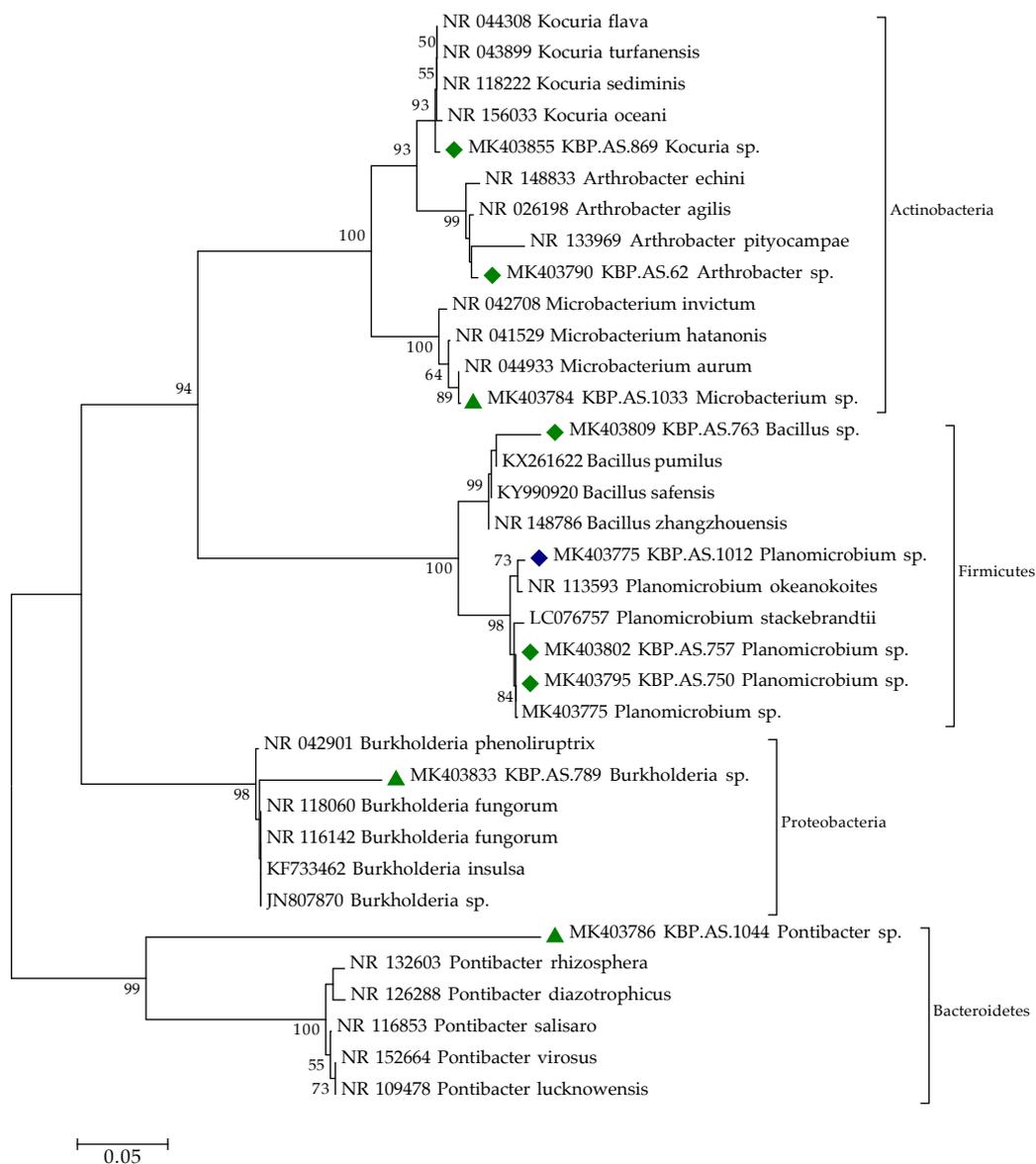
**Рисунок 3.1.** Филогенетическое дерево, построенное по результатам анализа фрагмента гена 16S рРНК, штаммов, выделенных из пустыни Мохаве, секвенированных с использованием праймера 1100r. Дерево построено методом ближайшего соседа (Neighbor-Joining method) с использованием наиболее близких последовательностей из базы данных GenBank. Количество таксонов – 92, количество значимых нуклеотидов – 375. Количество повторностей при построении дерева – 500. Ромбом обозначены штаммы, выделенные на среде ГПД, треугольником – на среде ЧМ; зеленый и синий цвет указывают на температуру выделения штамма равной 25 и 10°C, соответственно. Красным кругом обозначены рода бактерий, для которых построены вложенные деревья (Рисунки 3.1а, 3.1б). Линейка на схеме указывает на число филогенетически значимых замен нуклеотидов.



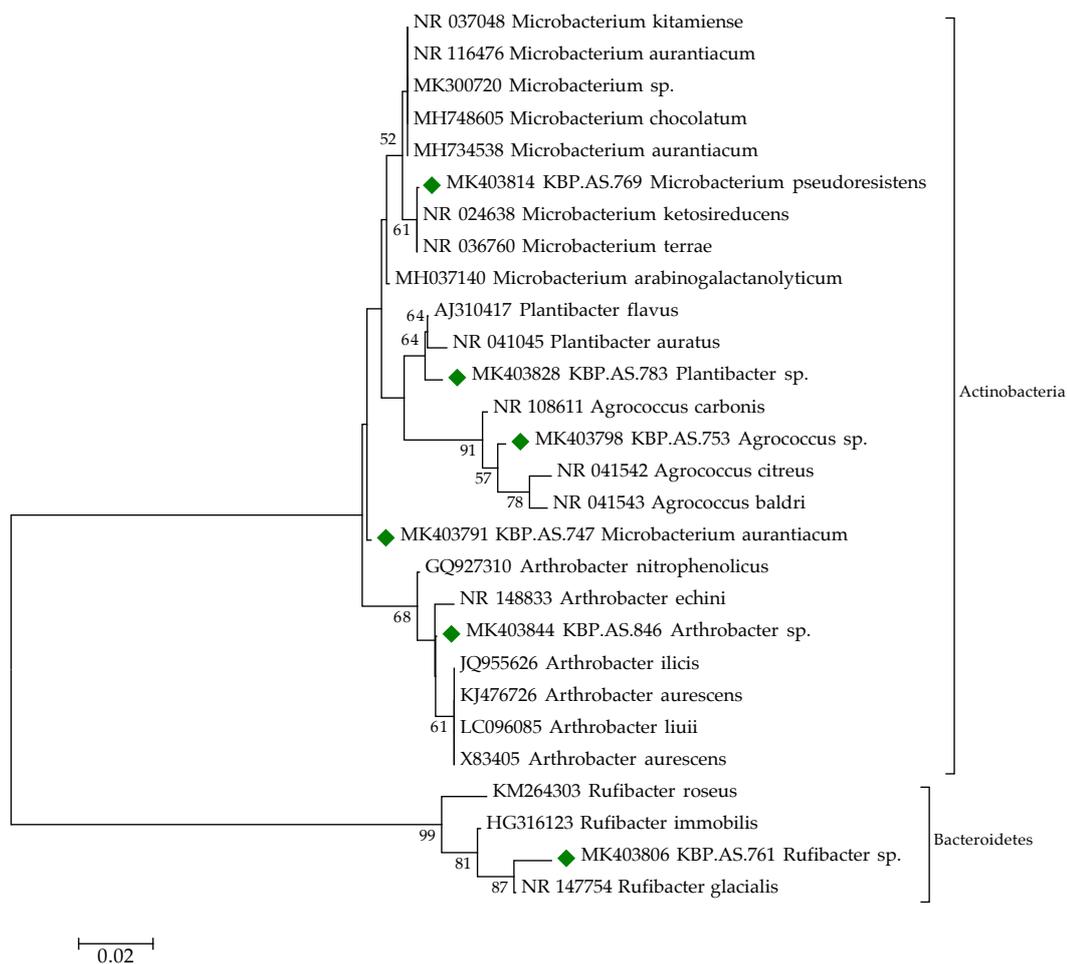
**Рисунок 3.1а.** Филогенетическое дерево, построенное по результатам анализа фрагмента гена 16S рНК, штаммов, выделенных из пустыни Мохаве, секвенированных с использованием праймера 1100г. Дерево построено методом ближайшего соседа (Neighbor-Joining method) с использованием наиболее близких последовательностей из базы данных GenBank. Количество таксонов – 45, количество значимых нуклеотидов – 391. Количество повторностей при построении дерева – 500. Ромбом обозначены штаммы, выделенные на среде ГПД, треугольником – на среде ЧМ; зеленый и синий цвет указывают на температуру выделения штамма равной 25 и 10°C, соответственно. Линейка на схеме указывает на число филогенетически значимых замен нуклеотидов.



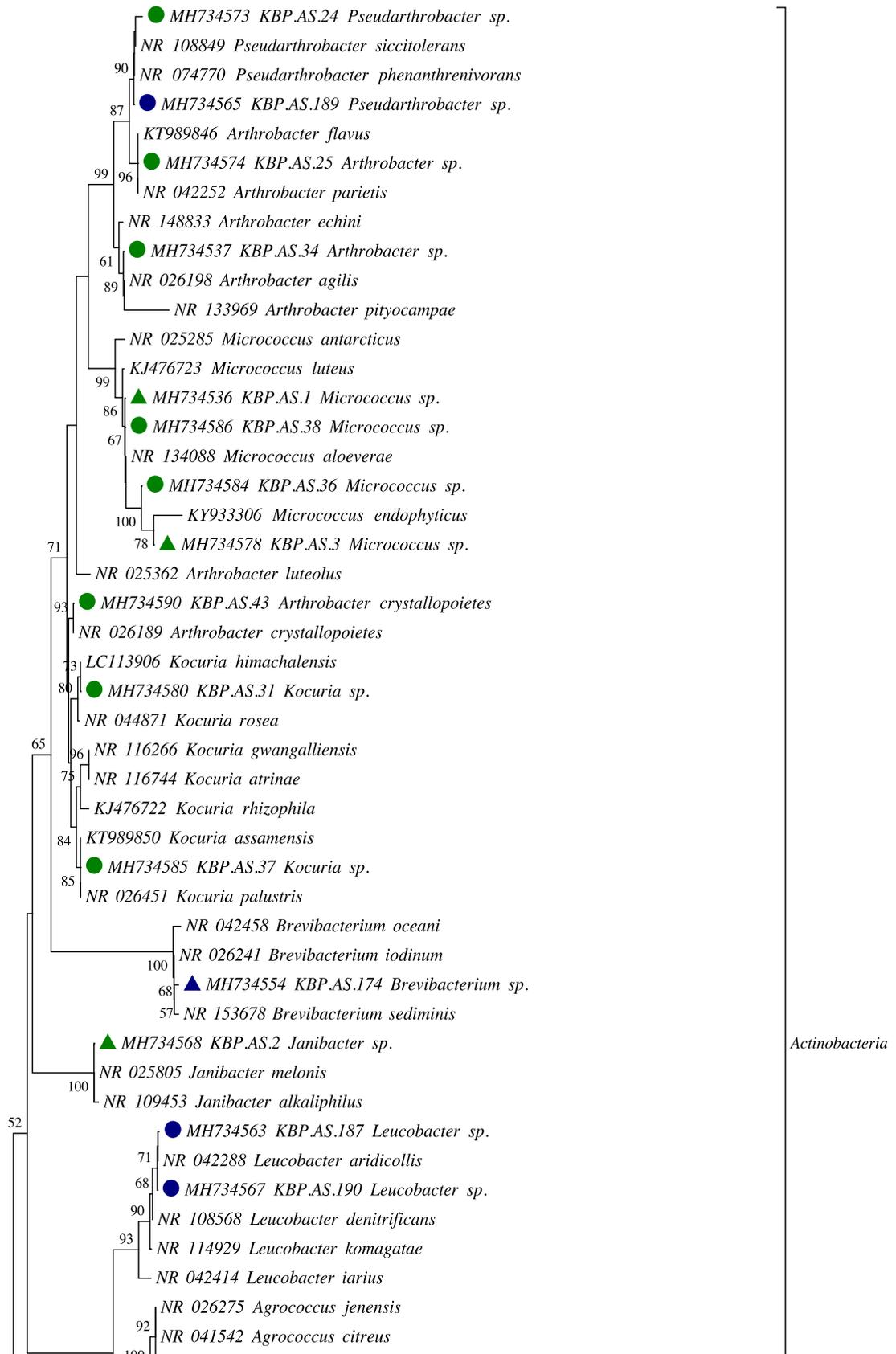
**Рисунок 3.16.** Филогенетическое дерево, построенное по результатам анализа фрагмента гена 16S рРНК, штаммов, выделенных из пустыни Мохава, секвенированных с использованием праймера 1100г. Дерево построено методом ближайшего соседа (Neighbor-Joining method) с использованием наиболее близких последовательностей из базы данных GenBank. Количество таксонов – 25, количество значимых нуклеотидов – 459. Количество повторностей при построении дерева – 500. Ромбом обозначены штаммы, выделенные на среде ГПД, треугольником – на среде ЧМ; зеленый и синий цвет указывают на температуру выделения штамма равной 25 и 10°C, соответственно. Линейка на схеме указывает на число филогенетически значимых замен нуклеотидов.

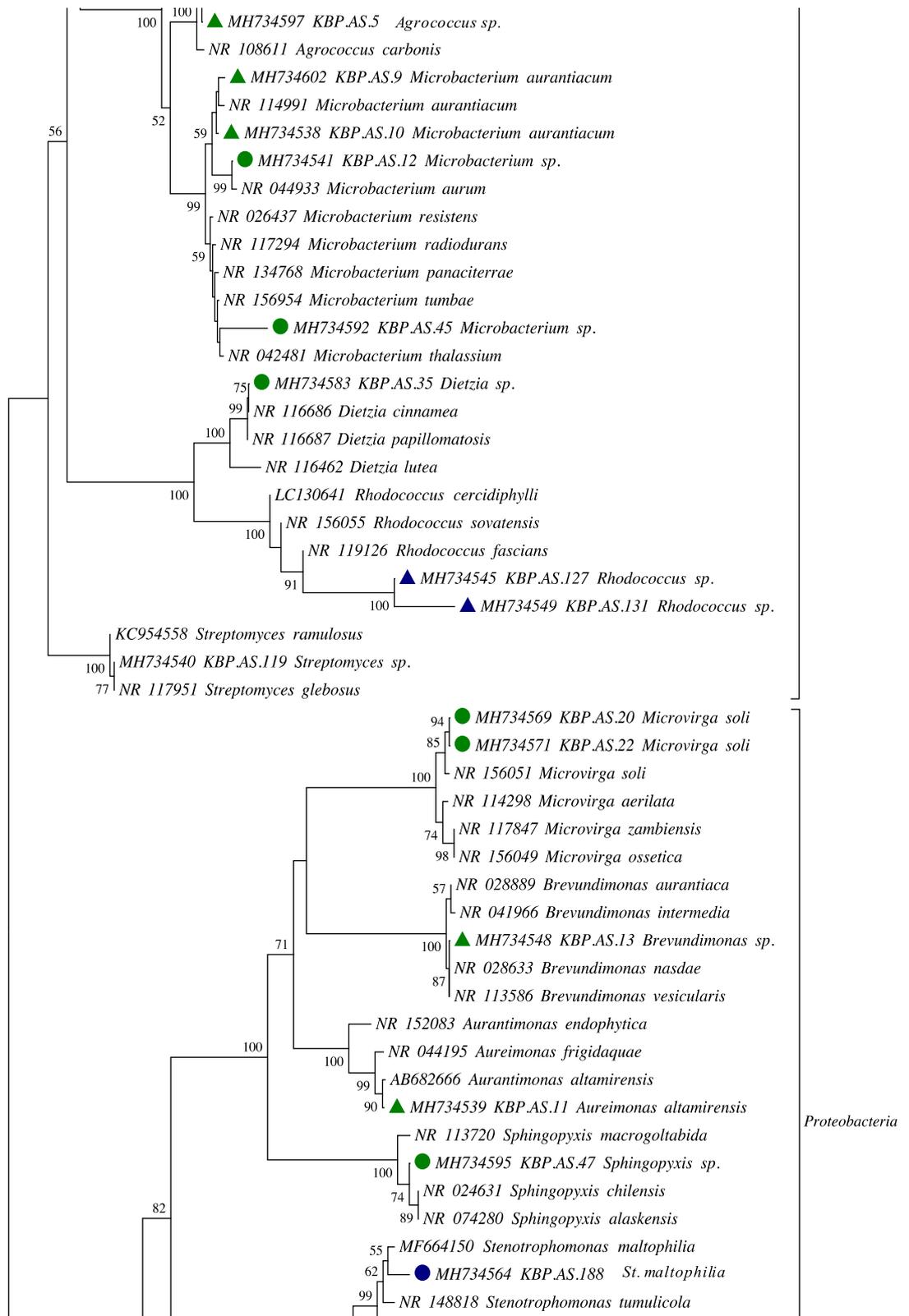


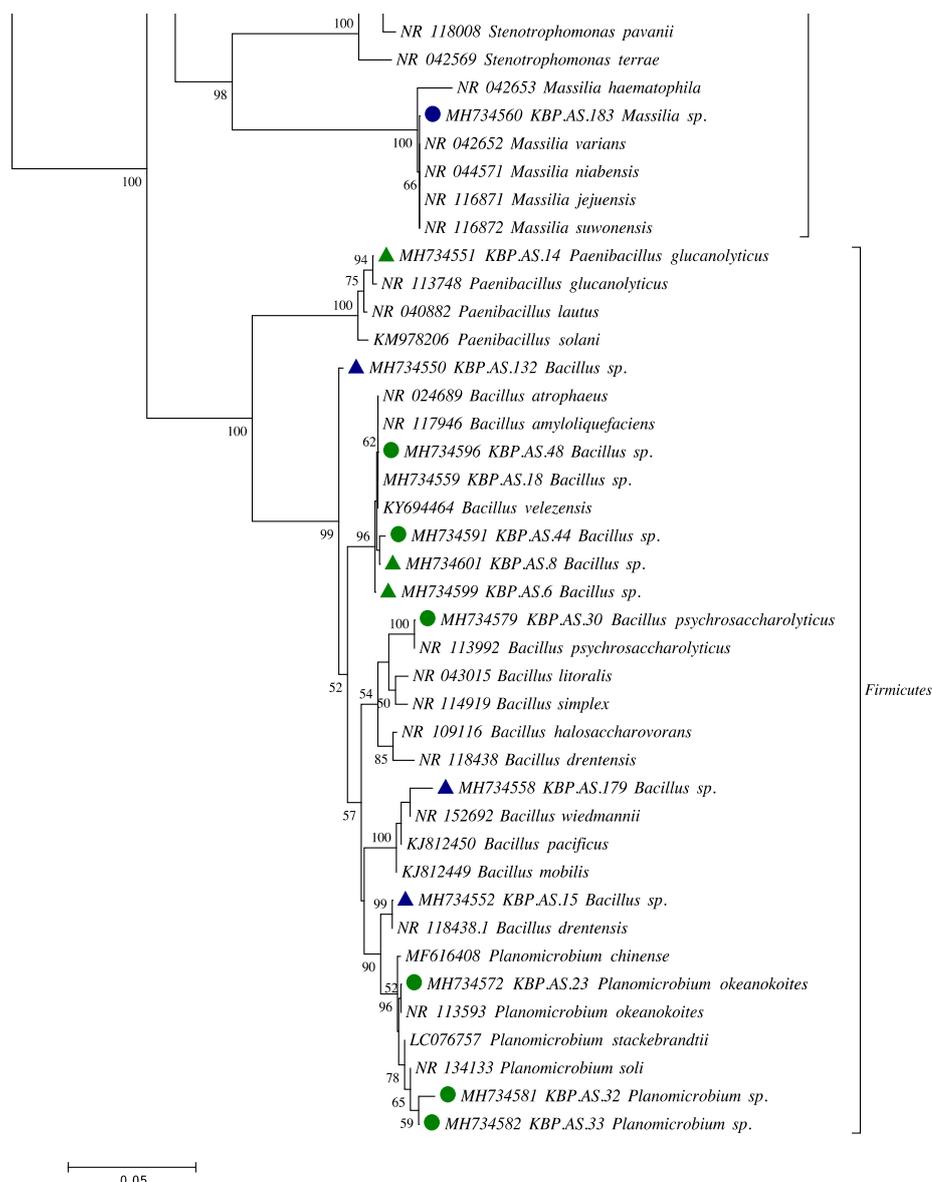
**Рисунок 3.2.** Филогенетическое дерево, построенное по результатам анализа фрагмента гена 16S рРНК, штаммов, выделенных из пустыни Мохаве, секвенированных с использованием праймера 805г. Дерево построено методом ближайшего соседа (Neighbor-Joining method) с использованием наиболее близких последовательностей из базы данных GenBank. Количество таксонов – 35, количество значимых нуклеотидов – 320. Количество повторностей при построении дерева – 500. Ромбом обозначены штаммы, выделенные на среде ГПД, треугольником – на среде ЧМ; зеленый и синий цвет указывают на температуру выделения штамма равной 25 и 10°C, соответственно. Линейка на схеме указывает на число филогенетически значимых замен нуклеотидов.



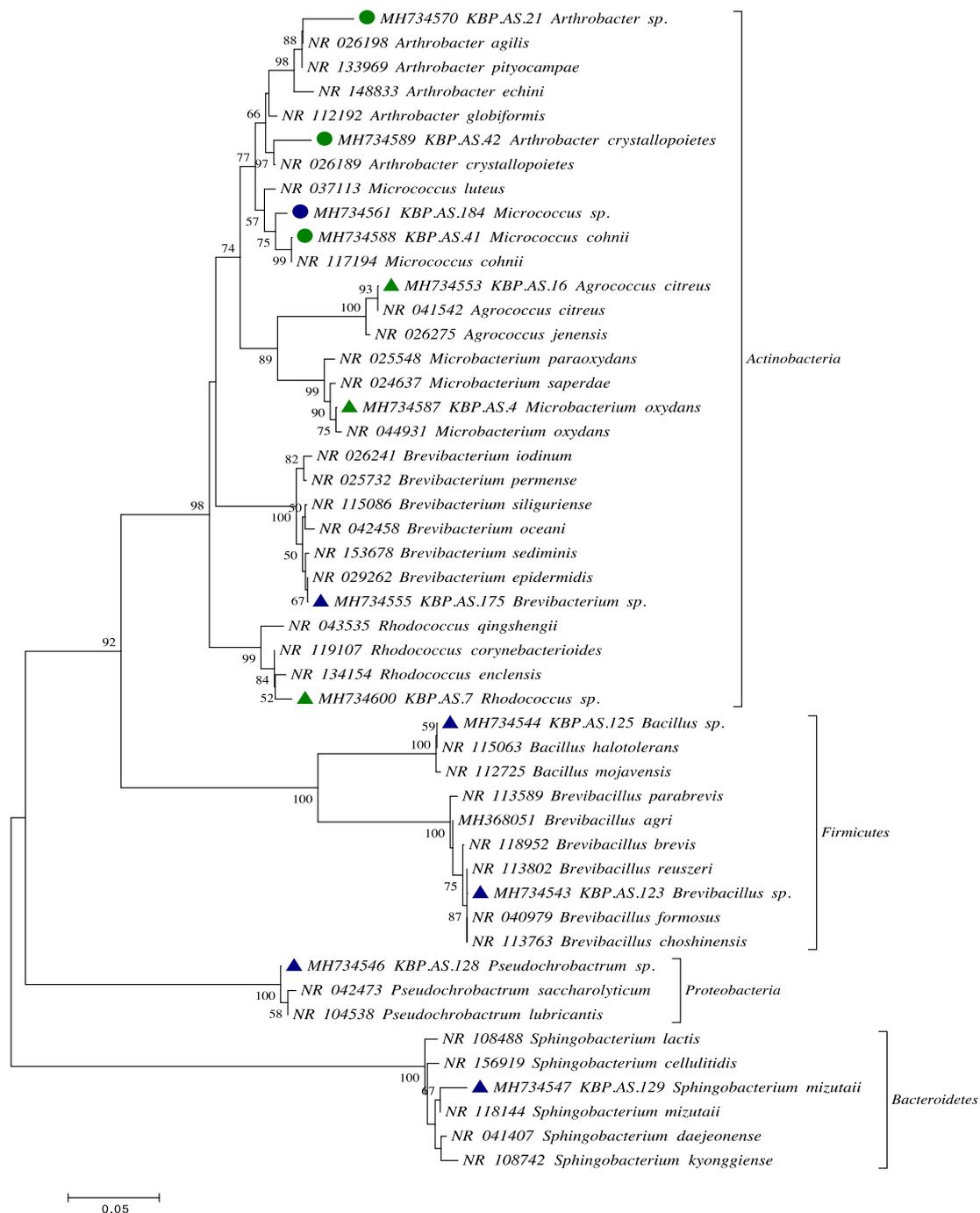
**Рисунок 3.3.** Филогенетическое дерево, построенное по результатам анализа фрагмента гена 16S рРНК, штаммов, выделенных из пустыни Мохаве, секвенированных с использованием праймера 537r. Дерево построено методом ближайшего соседа (Neighbor-Joining method) с использованием наиболее близких последовательностей из базы данных GenBank. Количество таксонов – 28, количество значимых нуклеотидов – 191. Количество повторностей при построении дерева – 500. Ромбом обозначены штаммы, выделенные на среде ГПД, треугольником – на среде ЧМ; зеленый и синий цвет указывают на температуру выделения штамма равной 25 и 10°C, соответственно. Линейка на схеме указывает на число филогенетически значимых замен нуклеотидов.



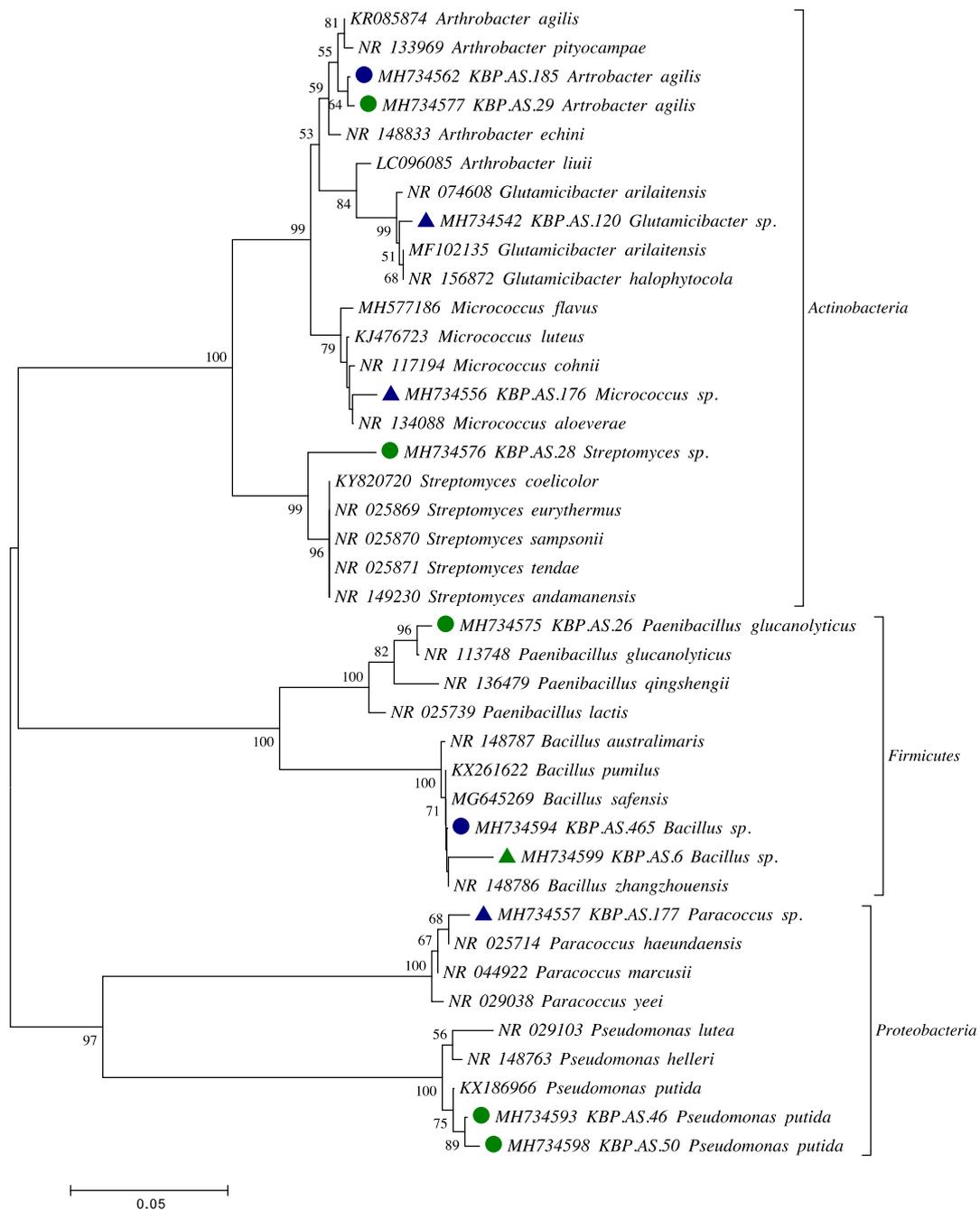




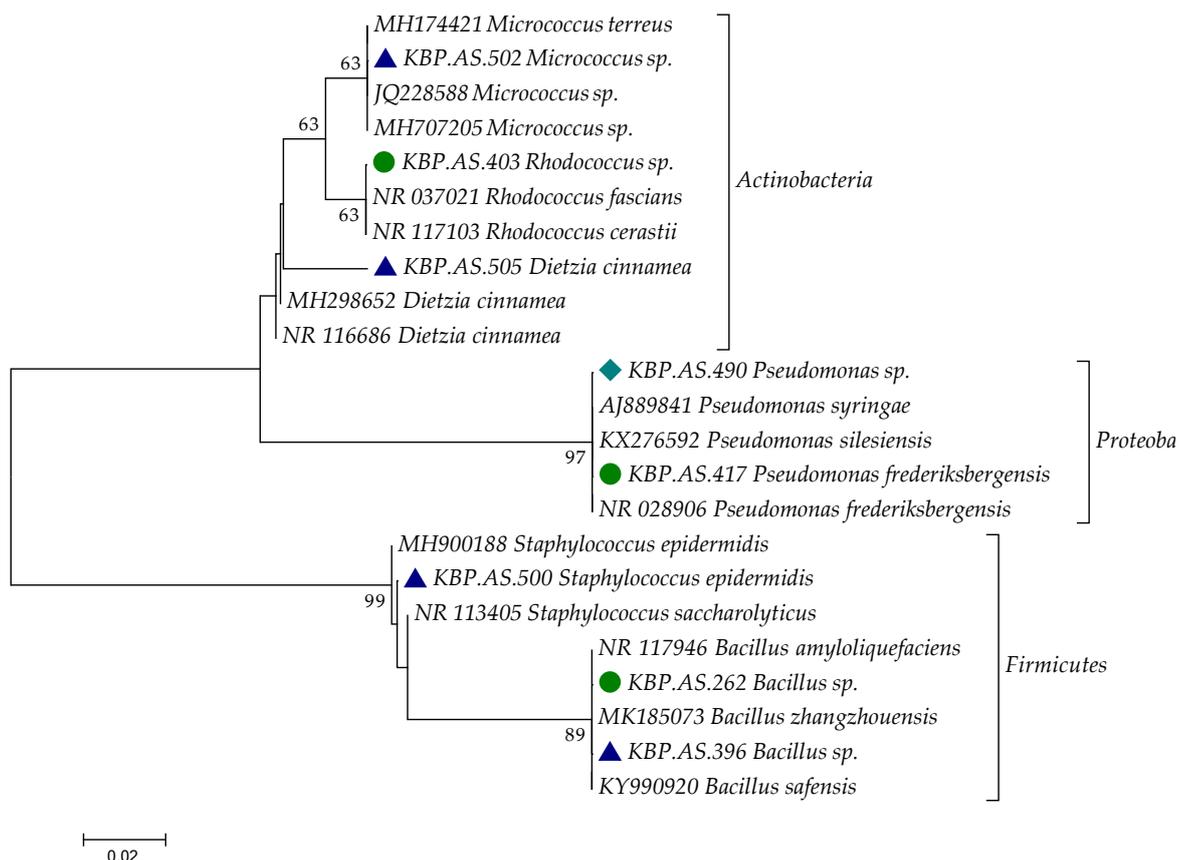
**Рисунок 3.4.** Филогенетическое дерево, построенное по результатам анализа фрагмента гена 16S рРНК, штаммов, выделенных из пустынь Сахара и Гибсона, секвенированных с использованием праймера 1100r. Дерево построено методом ближайшего соседа (Neighbor-Joining method) с использованием наиболее близких последовательностей из базы данных GenBank. Количество таксонов – 82, количество значимых нуклеотидов – 640. Количество повторов при построении дерева – 500. Кругом обозначены штаммы, выделенные из пустыни Сахара, треугольником – из пустыни Гибсона; зеленый и синий цвет указывают на температуру выделения штамма равной 25 и 10°C, соответственно. Линейка на схеме указывает на число филогенетически значимых замен нуклеотидов.



**Рисунок 3.5.** Филогенетическое дерево, построенное по результатам анализа фрагмента гена 16S рРНК, штаммов, выделенных из пустынь Сахара и Гибсона, секвенированных с использованием праймера 537г. Дерево построено методом ближайшего соседа (Neighbor-Joining method) с использованием наиболее близких последовательностей из базы данных GenBank. Количество таксонов – 45, количество значимых нуклеотидов – 342. Количество повторностей при построении дерева – 500. Кругом обозначены штаммы, выделенные из пустыни Сахара, треугольником – из пустыни Гибсона; зеленый и синий цвет указывают на температуру выделения штамма равной 25 и 10°C, соответственно. Линейка на схеме указывает на число филогенетически значимых замен нуклеотидов.

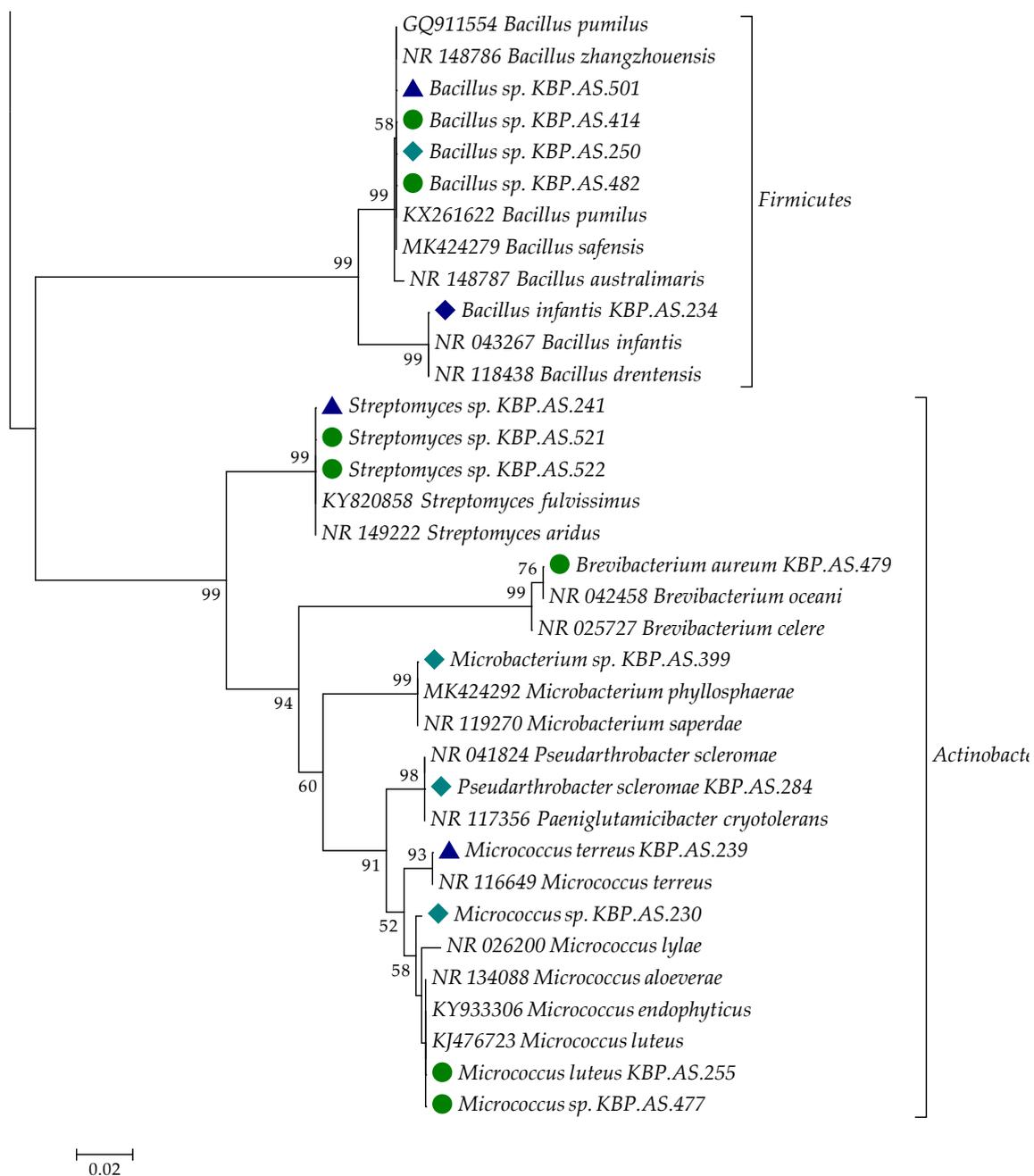


**Рисунок 3.6.** Филогенетическое дерево, построенное по результатам анализа фрагмента гена 16S рРНК, штаммов, выделенных из пустынь Сахара и Гибсона, секвенированных с использованием праймера 805г. Дерево построено метода ближайшего соседа (Neighbor-Joining method) с использованием наиболее близких последовательностей из базы данных GenBank. Количество таксонов – 40, количество значимых нуклеотидов – 382. Количество повторностей при построении дерева – 500. Кругом обозначены штаммы, выделенные из пустыни Сахара, треугольником – из пустыни Гибсона; зеленый и синий цвет указывают на температуру выделения штамма равной 25 и 10°C, соответственно. Линейка на схеме указывает на число филогенетически значимых замен нуклеотидов.

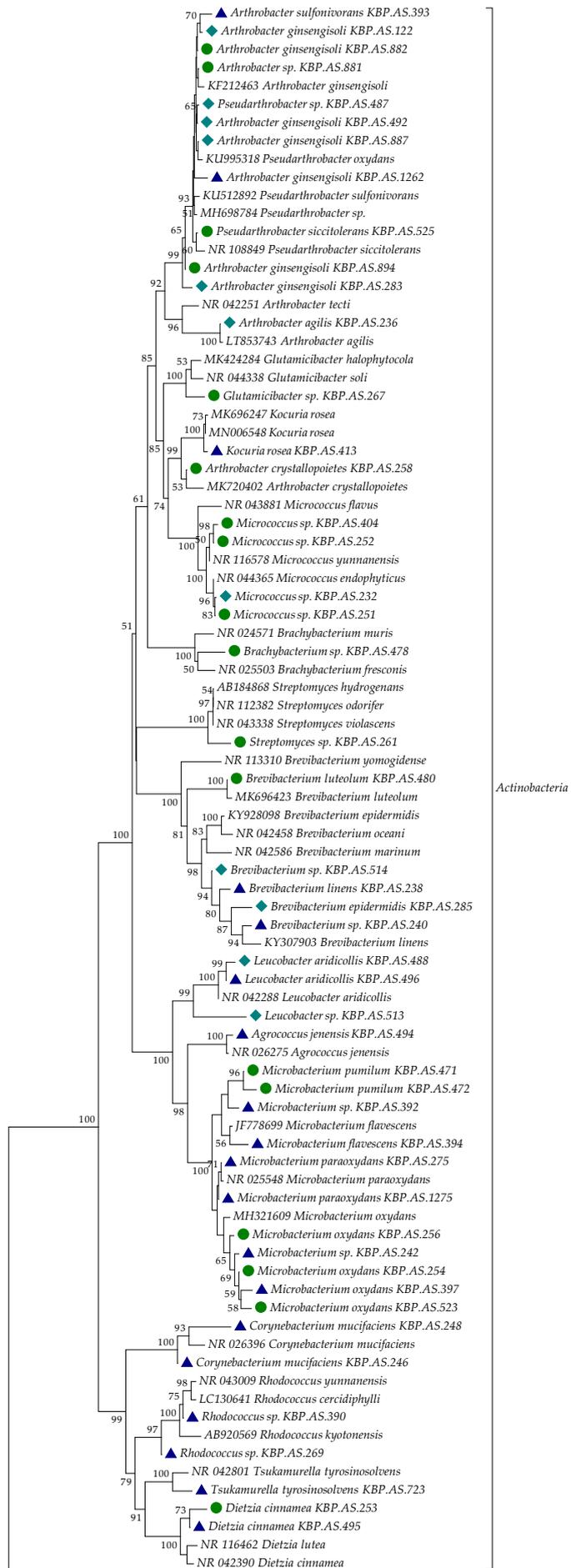


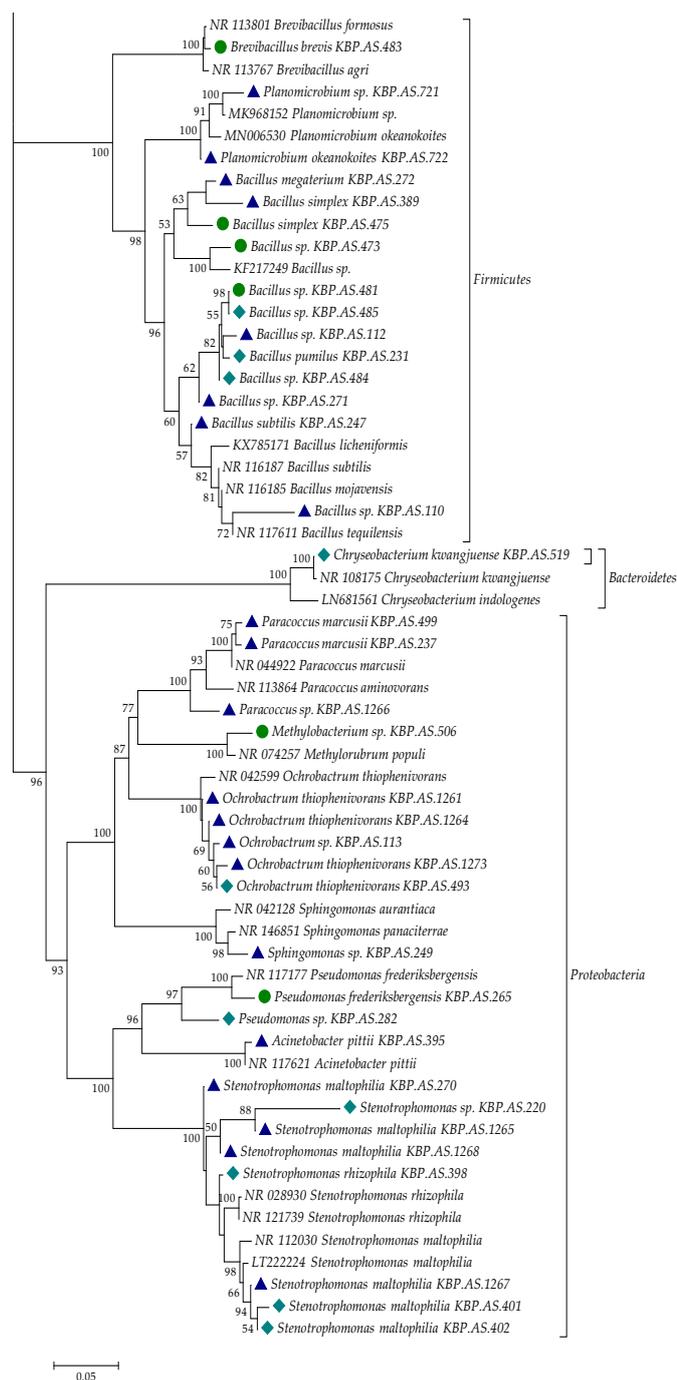
**Рисунок 3.7.** Филогенетическое дерево, построенное по результатам анализа фрагмента гена 16S рРНК, штаммов, выделенных из мерзлоты архипелага Новая Земля, секвенированных с использованием праймера 537г. Дерево построено метода ближайшего соседа (Neighbor-Joining method) с использованием наиболее близких последовательностей из базы данных GenBank. Количество таксонов – 23, количество значимых нуклеотидов – 51. Количество повторностей при построении дерева – 500. Кругом обозначены штаммы, выделенные из образца морены [Nz 1], ромбом – из образца морены и льда [Nz 2], треугольником – из образца льда [Nz 3]; зеленый и синий цвет указывают на температуру выделения штамма равной 25 и 10°C, соответственно. Линейка на схеме указывает на число филогенетически значимых замен нуклеотидов.





**Рисунок 3.8.** Филогенетическое дерево, построенное по результатам анализа фрагмента гена 16S рРНК, штаммов, выделенных из мерзлоты архипелага Новая Земля, секвенированных с использованием праймера 805г. Дерево построено метода ближайшего соседа (Neighbor-Joining method) с использованием наиболее близких последовательностей из базы данных GenBank. Количество таксонов – 56, количество значимых нуклеотидов – 275. Количество повторностей при построении дерева – 500. Кругом обозначены штаммы, выделенные из образца морены [Nz 1], ромбом – из образца морены и льда [Nz 2], треугольником – из образца льда [Nz 3]; зеленый и синий цвет указывают на температуру выделения штамма равной 25 и 10°C, соответственно. Линейка на схеме указывает на число филогенетически значимых замен нуклеотидов.





**Рисунок 3.9.** Филогенетическое дерево, построенное по результатам анализа фрагмента гена 16S рРНК, штаммов, выделенных из мерзлоты архипелага Новая Земля, секвенированных с использованием праймера 1100г. Дерево построено метода ближайшего соседа (Neighbor-Joining method) с использованием наиболее близких последовательностей из базы данных GenBank. Количество таксонов – 146, количество значимых нуклеотидов – 1617. Количество повторностей при построении дерева – 500. Кругом обозначены штаммы, выделенные из образца морены [Nz 1], ромбом – из образца морены и льда [Nz 2], треугольником – из образца льда [Nz 3]; зеленый и синий цвет указывают на температуру выделения штамма равной 25 и 10°C, соответственно. Линейка на схеме указывает на число филогенетически значимых замен нуклеотидов.