

## УСТОЙЧИВОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ КСЕРОФИТНЫХ ЭКОТОПОВ К ВОЗДЕЙСТВИЮ ИНАКТИВИРУЮЩИХ ФАКТОРОВ

Е.А. ВОРОБЬЕВА<sup>1,2</sup>, А.А. БЕЛОВ<sup>1</sup>, В.С. ЧЕПЦОВ<sup>1</sup>, В.С. СОИНА<sup>1</sup>,  
М.О. КРЮЧКОВА<sup>1</sup>, Е.С. КАРАЕВСКАЯ<sup>3</sup>, А.Е. ИВАНОВА<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова;  
<sup>2</sup> Институт космических исследований РАН; <sup>3</sup> Институт физико-химических  
и биологических проблем почвоведения РАН)

*Устойчивость микроорганизмов к воздействию физико-химических факторов превышает общепринятые представления и требует всестороннего изучения. Природная среда обеспечивает защиту и способствует развитию уникальных механизмов резистентности микробных сообществ. Авторским коллективом проводятся исследования устойчивости прокариот и эукариот, выделенных из различных ксерофитных экстремальных экотопов, с целью оценки возможности существования биологической формы жизни за пределами Земли и создания коллекции наиболее устойчивых видов гетеротрофных бактерий и грибов.*

*Естественные микробные сообщества полярных и засушливых экстремальных местообитаний Земли проявляют множественную устойчивость к воздействию физико-химических факторов. Характерной особенностью экстремофилов в гетерофазных экотопах является расширение диапазона устойчивости к неблагоприятным воздействиям. Бактерии-экстремофилы и в культуре сохраняют устойчивость к широкому спектру физико-химических и биотических факторов среды, в частности, устойчивы к широкому спектру антибиотиков, флуктуациям температуры и рН среды, воздействию окислителей и присутствию солей в среде.*

*Взаимодействие с минеральной средой, а также низкая температура и низкое давление повышают устойчивость культур бактерий к ионизирующей радиации*

*Механизмы расширения спектра устойчивости у бактерий, обитающих в экстремальных условиях, а также проявление множественной устойчивости к воздействию физико-химических факторов требуют дальнейшего изучения.*

**Ключевые слова:** микроорганизмы, микробные сообщества, экстремальные местообитания, устойчивость, стресс, температура, ионизирующее излучение, антибиотики.

## Введение

Исследования микроорганизмов в естественной природной среде обитания в последние десятилетия широко распространилось в регионы, испытывающие постоянные экстремальные воздействия: пустыни [13], засоленные территории и водоемы [30], полярные области [1, 3, 6, 31], ледники [10], глубокие континентальные и морские осадки [7, 24]. Новые данные существенно обогатили пред-

ставления об устойчивости микроорганизмов и внутриклеточных механизмах поддержания жизнедеятельности клетки в условиях стресса. Изучение функционирования микроорганизмов *in situ* выявляет важнейшую роль среды в развитии процессов адаптации, выборе популяциями стратегии жизнеобеспечения, развитии коммуникативного ответа микробных сообществ на внешнее воздействие, проявляющегося как на уровне сообщества в целом, так и на уровне отдельных филумов. Природная среда обеспечивает защиту и способствует развитию уникальных механизмов резистентности микробных сообществ [27]. Во многих случаях неблагоприятное воздействие факторов среды на клетку проявляется через окислительный стресс. Защита бактерий от окислителей предусмотрена природой, и она обеспечивается полимерными структурами оболочки, постоянным присутствием в клетке низкомолекулярных антиоксидантов и индукцией белков, катализирующих нейтрализацию оксидантов и репарацию повреждений. Синтез этих белков обеспечивается специфической системой индуцируемых генов. Рассматривают три линии обороны клетки от окислителей: 1) оболочка клетки; 2) дыхательные ферменты, супероксиддисмутаза, оксидазы, пероксидазы и другие ферментные системы защиты, регулируемые низкомолекулярными ауторегуляторами; 3) низкомолекулярные жирорастворимые антиоксиданты мембран (каротиноиды, мена- и убихиноны) и водорастворимые антиоксиданты цитоплазмы (глутатион, аскорбат и др.) [8], а также конформационную защиту. В ответ на окислительный стресс бактерии синтезируют заново или значительно усиливают синтез нескольких десятков белков. Замечено, что метаболические механизмы ответной реакции клетки на различные стрессовые воздействия в значительной мере перекрываются. По-видимому, причина этого не только в стремлении клетки реализовать единый механизм ответа на стресс, но в том, что воздействие радиации, температуры (нагрев), влияние повышенных концентраций солей, поливалентных металлов, растворителей, воздействие голодания и старение, по крайней мере, для аэробных организмов, связано с усилением активности окислителей. При экстремальных нагрузках защитная система клетки обеспечивает ее многофункциональную стабильность к воздействию целого ряда неблагоприятных факторов. На конкретные механизмы повреждения клетка имеет специфические механизмы ответа [8].

Имшенецкий с соавторами [4], рассмотрев проблему окислительного стресса в естественной среде обитания (почва, модельные минералы), показали, что почвенная микрофлора устойчива к широкому спектру концентрации окислителей, возможны также стимуляция роста и размножения микроорганизмов, предположительно за счет усиления локальной аэрации. Важную роль в процессах детоксикации активных форм кислорода могут играть органическое вещество почвы, глинистые минералы, восстановленные формы металлов переменной валентности, карбонаты и бикарбонаты, аккумуляированные в почве ферменты (каталазы, пероксидазы).

Важнейшим механизмом физиологического ответа клетки на стресс является переход в покоящееся состояние: споруляция [5] или образование иных покоящихся форм [25, 26, 28] с возможностью восстановления жизнеспособности. Предложена модель реакции клетки на стресс, согласно которой на первом этапе часть клеток автолизуются, освобождая при этом фактор-метаболит, который на втором этапе индуцирует образование покоящихся форм оставшейся части популяции.

Коллектив авторов проводит исследования устойчивости к физико-химическим факторам прокариот и эукариот, выделенных из экстремально аридных

экотопов полярных и засушливых пустынных областей, а также микробных сообществ *in situ*, с целью оценки протекторной роли минеральной среды в защите микроорганизмов от стресса, выяснения пределов жизнеспособности микроорганизмов в природных экотопах, создания коллекции наиболее устойчивых видов гетеротрофных бактерий.

В данной работе представлены результаты изучения устойчивости микроорганизмов экстремальных ксерофитных местообитаний к воздействию температуры и исследованию роли температурного фактора в защите от ионизирующего излучения.

### Объекты и методы

Многолетние исследования охватывают широкий спектр образцов из аридных полярных местообитаний (почв и мерзлых пород Арктики и Антарктиды) и аридных почв пустынь. Исследуются содержание микроорганизмов в различных биотопах, их репродуктивная активность, структура микробных аэробных гетеротрофных сообществ, физиологическая активность, устойчивость к воздействию физических и химических факторов, в том числе экстремальному воздействию, моделирующему инопланетные условия (Марс) или условия ранней Земли.

В данной работе представлены результаты исследований, проведенных на образцах из аридных областей, которые характеризуются наиболее экстремальными условиями для жизни:

1) Горная серо-коричневая (неполноразвитая) почва (образец S1) (Марокко. FAO: Xerosols; USDA: Entceptisols Mollisols – Suborder xerosols). Образец отобран с глубины 5–10 см в горной пустыне у подножия Атласа. Основная порода – андезит. Вулканический подъем нижних слоев коры с выходом на поверхность древних отложений. Возраст – Прекембрий, верхний Палеозой;

2) Серозем на лессах (образец SN) из пустыни Негев (Авдат, Израиль, 30°47'N, 34°46'E, WRB: Aridic Calcisols), известной очень низким количеством годовых осадков;

3) Мерзлая осадочная порода Антарктической пустыни (образец А–6/99–6) (Сухие Долины, долина Бикона, скважина 6/99, 77°50'S, 160°36'E, 1270 м над ур. моря, глубина отбора 1,3–1,5 м), лед (образец А–99) и песок (образец ДН–1) на границе ледника и поверхности мерзлоты в месте бурения скважины. Свободные ото льда холодные пустыни Dry Valleys на юге Земли Виктории (Victoria Land), сочетающие экстремально засушливые и крайне холодные условия, считаются наиболее суровыми холодными местообитаниями на Земле. Глубина отбора 1,5–3,0 м. Возраст мерзлоты по разным датировкам [15, 29] 8 млн. или 70 тыс. лет. Мерзлая порода представляет собой крупнозернистый песок с включениями гальки, сцементированный льдом в массивную криогенную структуру. Отбор и доставка образцов описаны ранее [15];

4) Мерзлая осадочная порода полярной Арктики (образец М–1/91). Образец отобран из скважины 1/91 (Восточная Сибирь) с глубины 34,0 м из отложений олерской свиты (возраст мерзлоты 1.8–2 млн. лет);

5) Образцы поверхностного мелкозема (Н 3–1), ледогрунт (Н 3–2) и образец чистого льда, (Н 3–3), отобранные на северо-востоке о. Северный (у истока р. Снежная) архипелага Новая Земля с глубины 0–5 см. Слагающие архипелаг породы палеозойского возраста (морена) сверху покрыты четвертичными ледниково-морскими отложениями толщиной до 1,5–2,5 м. рН образцов ледогрунта и льда 5.0 – 5.4.

Некоторые химические показатели образцов представлены в таблице 1.

## Химическая характеристика образцов

Образец	SN	S1	M-1/91	A-6/99-6
pH	8,11	8,61	7,51	8,21
Содержание воды (льда), %	3,33	1,45	1,87	1,02
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мг/кг	следы	следы	следы	следы
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мг/кг	1,03	1,06	0,89	0,78
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , мг/кг	4,12	4,50	3,34	2,56
Cl <sup>-</sup> , мг/кг	58,15	51,92	49,84	62,30
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , мг/кг	330,41	129,29	129,29	172,39
Na <sup>+</sup> , мг/кг	512,70	297,75	87,57	915,15
Mn <sup>+2</sup> , мг/кг	1348,20	161,10	3,23	331,35
Mg <sup>+2</sup> , мг/кг	136,46	720,75	170,40	10,47
K <sup>+</sup> , мг/кг	877,50	376,65	40,47	106,98
Fe <sup>+3</sup> , мг/кг	4,35	1,41	29,55	34,22

Общее содержание микроорганизмов в образцах определяли методом эпифлуоресцентной микроскопии (ЭФМ). Численность репродуцирующих культивируемых бактерий – стандартными микробиологическими методами.

Бактериальные культуры выделяли из образцов на твердые питательные среды различного состава (глюкозо–пептонно–дрожжевая, триптиказо–соевая 1:2, R<sub>2</sub>A–агар и др.) и хранили в криоконсервированном состоянии или под вазелиновым маслом.

Систематическое положение штаммов определяли методом анализа нуклеотидных последовательностей генов 16S РНК [19].

Определение температурных границ роста штаммов проводили путем посева из бактериальных суспензий на жидкие питательные среды (ГПД) в трехкратной повторности в 96–луночных культуральных планшетах с добавлением индикатора метаболической активности (соли тетразолия) с последующей инкубацией в термостате при заданных температурах: +4°C, +10°C, +20°C, +30°C, +37°C, +40°C, +45°C и +50°C. Результаты регистрировали на микропланшетном фотометре Tecan Sunrise при длине волны  $\lambda = 492$  нм. Для контроля из каждой лунки делали высев на твердую питательную среду с целью проверки макроморфологических и микроморфологических признаков культуры. Кривые роста микроорганизмов в периодической культуре снимали фотометрически на основании падения интенсивности света прошедшего через клеточную суспензию на микропланшетном фотометре Tecan Sunrise. Для каждого штамма строили кривые в координатах: скорость изменения оптической плотности суспензии от температуры. По максимуму на кривой  $\Delta D_{opt,492} \text{ нм} / \Delta t = f(T^\circ\text{C})$ , где  $\Delta D_{opt,492} \text{ нм}$  – изменение оптической плотности при 492 нм;  $\Delta t$  – время;  $T^\circ\text{C}$  – температура – судили об оптимальной температуре роста.

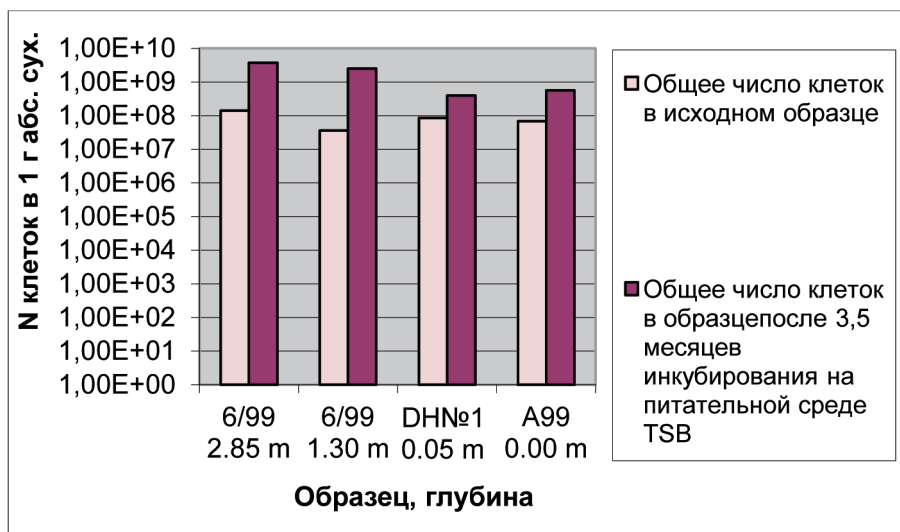
Культивирование микромицетов проводили методом глубинного посева на питательные среды: среда Чапека для грибов, среда Чапека с глицерином (активность

воды около 0.85), щелочной агар с рН 8.0. Перед посевом почвенные суспензии прогревали (52°C, 2 мин.) и встряхивали 2 мин. на вортексе (3500 об/мин) для десорбции грибных пропагул.

### Результаты и обсуждение

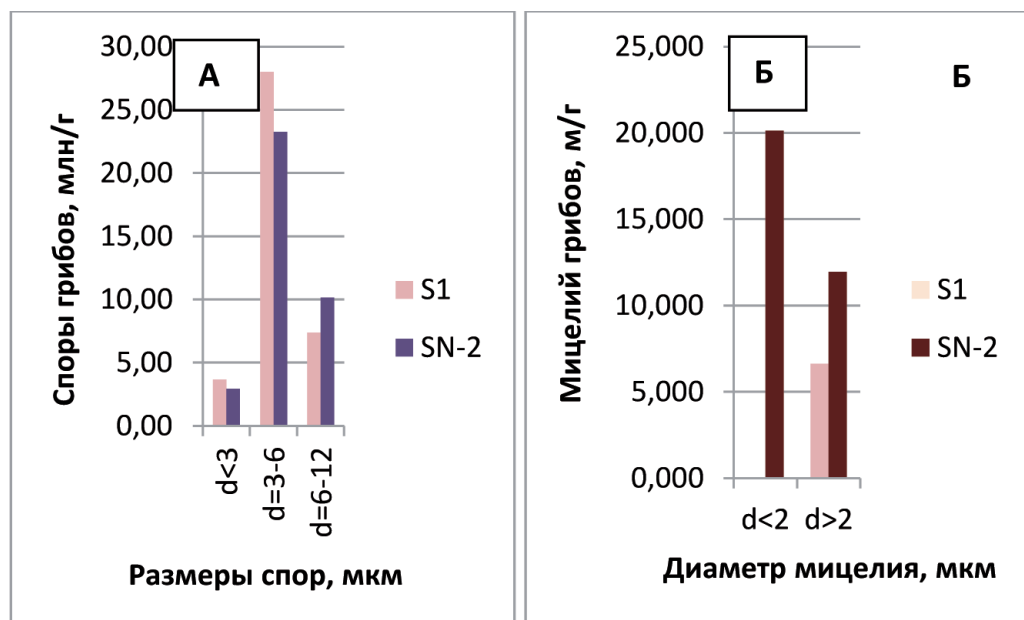
Исследования экстремальных ксерофитных местообитаний убеждают в том, что в сбалансированных минеральных гетерофазных экосистемах, длительное время пребывающих под воздействием определенной совокупности физико-химических факторов, в том числе факторов, рассматриваемых как неблагоприятные для жизни, общее содержание микроорганизмов остается величиной практически постоянной, варьирующей в пределах порядка, при средней величине показателя  $10^7-10^8$  кл/г абсолютно сухой почвы. Известны единичные исследования, отмечающие низкое содержание клеток (по прямому микроскопическому счету) в наиболее уникальных экстремальных местообитаниях Земли. Недавно были опубликованы результаты микробиологических исследований одного из наиболее сухих мест на планете – Долины Университет (University Valley, Dry Valleys) в Антарктиде [17, 18]. Сообщается, что численность бактерий в этих экотопах была на 4–5 порядков ниже, по сравнению с данными, полученными в других, в том числе близлежащих, районах Антарктиды. При этом авторы подтвердили, что особенностью антарктических местообитаний является глубоко покоящееся состояние микроорганизмов и чрезвычайно замедленная их реактивация, в отличие от микробных экосистем арктической мерзлоты и сухих биотопов пустынь.

Все исследованные нами образцы, в том числе образцы древней антарктической мерзлоты из района Сухих Долин, не отличались значительным варьированием в общей численности микроорганизмов и содержали десятки–сотни миллионов жизнеспособных клеток на грамм сухого веса, при различном содержании культивируемых реплицирующих форм. На рис. 1 представлены показатели для антарктических образцов.



**Рис. 1.** Изменение общей численности бактерий в мерзлых осадочных породах и грунтовом льду Антарктиды до и после инкубирования в течение 3–4 месяцев при 20° С (ЭФМ)

Стоит обратить внимание, что активизация бактериальных сообществ *in situ* в образцах древней мерзлоты происходит более интенсивно, чем в образцах поверхностного льда и песка под ледником. Противоположные данные были получены для тех же образцов антарктической мерзлоты *in vitro* в посевах: сообщества льда и песка активно колонизировали питательные среды, выход бактерий из мерзлоты был весьма ограничен. Это указывает на «скрытую» жизнь в древней мерзлоте, явление, неоднократно наблюдаемое в наших исследованиях. Содержание грибов, напротив, было различным в почвах засушливых пустынь жаркого климата и в полярных образцах. Образцы арктической и антарктической мерзлоты были близки по содержанию грибной биомассы, что согласно с нашими более ранними многолетними исследованиями вечной мерзлоты, но на порядок уступали по показателям почвам пустынь (рис. 2).



**Рис. 2.** Содержание грибов (А – спор; Б – грибного мицелия) в почвах пустынь

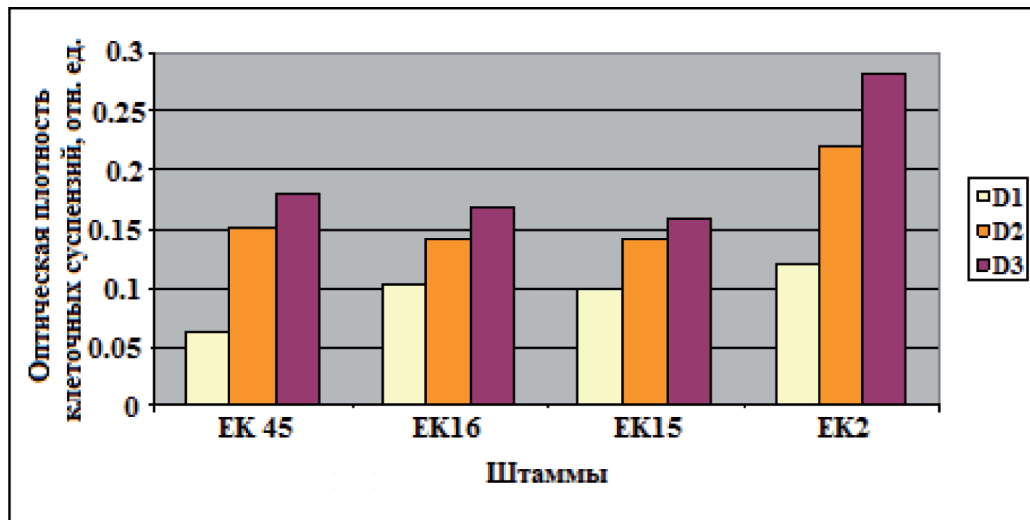
Мы исследовали выборку из 122 штаммов аэробных гетеротрофных бактерий, выделенных из различных экстремальных ксерофитных местообитаний с целью анализа их устойчивости к различным инактивирующим факторам. Для большинства изолятов из числа наиболее устойчивых бактерий была характерна короткая лаг-фаза при различной интенсивности скорости роста на питательной среде.

#### *Температурная характеристика штаммов-изолятов*

Исследован температурный диапазон роста штаммов. Устойчивость штаммов к температуре инкубации исследовали путем посева чистых культур на твердые и жидкие питательные среды и инкубации при температурах: +4 °С, +10°С, +20°С, +30°С, +35°С, +40°С, +50°С, – а также замораживании при температурах –10°С и –17°С в течение двух недель с последующей инкубацией при температуре +25°С в



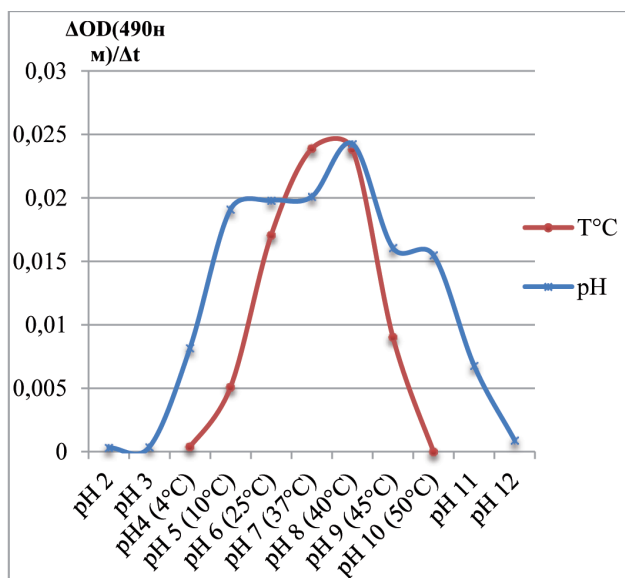
трехкратной повторности в случае отсутствия роста. Штаммы, растущие при 4°C, были исследованы на способность к размножению при –8°C в разбавленной 1:2 триптиказо–соевой среде (TSB), содержащей 10% диметилсульфоксида (DMSO). О росте культуры судили по изменениям значений оптической плотности суспензии после инкубирования в течение 35 и 75 дней. Из 17–ти исследованных антарктических штаммов 4 обнаружили способность к размножению при –8°C (рис. 3).



**Рис. 3.** Изменение оптической плотности клеточных суспензий в 1/2 TSB с 10% DMSO после инкубации при –8°C: D1 – начальная оптическая плотность суспензии, D2 – оптическая плотность суспензии после 35 дней инкубации, D3 – оптическая плотность суспензии после 75 дней инкубации

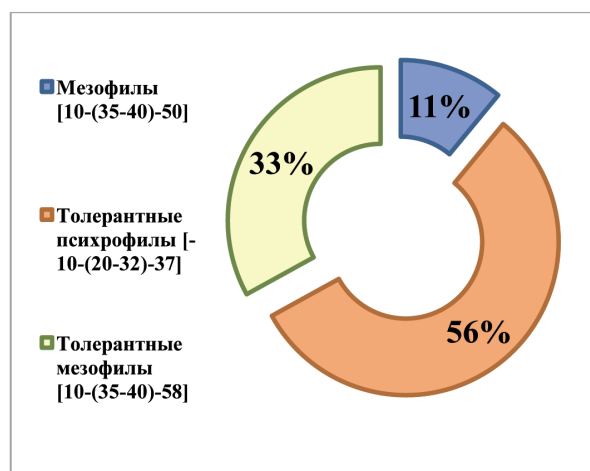
Штаммы росли в диапазоне от –8 – –4°C до +30°C и были отнесены к группе психротолерантных (психротрофы). О способности бактерий к размножению при отрицательных температурах известно немного [16, 20]. Микитчук с соавторами [20] сообщили о выделении из мерзлоты бактерии *Planococcus halocryophilus* Or1, растущей при –15°C на среде (TSB), содержащей 12–18% NaCl. На сегодняшний день это нижняя граница роста бактерий. Метаболическую активность разные авторы фиксировали при температурах –35°C, и даже –80°C. Однако, подтверждение этих результатов требует чрезвычайно корректных экспериментов. В наших экспериментах при –17°C рост не был зафиксирован. Но после последующей инкубации при +25°C проявили активный рост 54 штамма, изолированных из различных экотопов.

По температурной характеристике анализируемой выборки штаммов–экстремофилов выделено несколько групп бактерий. Во многих случаях принадлежность штаммов–экстремофилов к классификационной группе установить однозначно сложно из–за перекрытия диапазонов температур, вследствие достаточно типичного расширения температурного диапазона роста. Последнее может быть проиллюстрировано температурной кривой одного из штаммов (штамм NZ105), выделенного из ледогрунта с Новой Земли (рис.4).



**Рис. 4.** Температурная характеристика и pH–профиль штамма NZ105, выделенного из ледогрунта Новой Земли

Штамм устойчив и способен к росту в широком температурном и pH диапазонах роста. Для таких штаммов введен дополнительный термин «толерантные», а основную экологическую группу определяли в соответствии с оптимальным значением и учетом критических значений воздействующего фактора. Устойчивые в широком диапазоне штаммы отнесены к группе мезофилов (+10 – +50°C, опт. температура +28 – +40°C); штаммы активные от +4°C до +50°C с оптимумом +25°C отнесены к толерантным психрофилам; штаммы активные от +4°C до +50°C с оптимумом в диапазоне +37 – +45°C – к толерантным мезофилам. Соотношение этих групп в нашей выборке отражено на рис. 5. Эта схема отчетливо демонстрирует расширение пределов роста у большинства изолятов–экстремофилов.



**Рис. 5.** Температурные группы штаммов устойчивых в расширенном диапазоне температур (по классификации Гусева и Минеевой [2])



Штаммы, которые росли в диапазоне от +4°C до +50°C, относятся, в основном, к спорообразующим бактериям. Согласно данным предшествующих микробиологических исследований Антарктиды, такие широкие температурные границы роста с оптимумом +37 – +45°C характерны для спорообразующих антарктических бактерий и не свойственны многим современным мезофильным штаммам [11]. Не выявлено зависимости термо–характеристики штаммов от места отбора образцов. В частности, бактерии, выделенные из аридных почв Марокко и Израиля, отнесены к группе толерантных психрофилов, то есть проявили психро– и термоустойчивость со смещением оптимума температуры в «холодную» зону.

Анализ полученных и литературных данных приводит к заключению, что, в отличие от жидких (водных) сред обитания, где процессы адаптации приводят к сужению температурного диапазона активной жизнедеятельности микроорганизмов и формированию специфических экофизиологических ниш обитания (психрофилы, термофилы), в гетерофазных минеральных биосистемах специфика адаптации заключается в расширении пределов активности клетки, иммобилизованной в естественной среде обитания и функционирующей в составе сообществ.

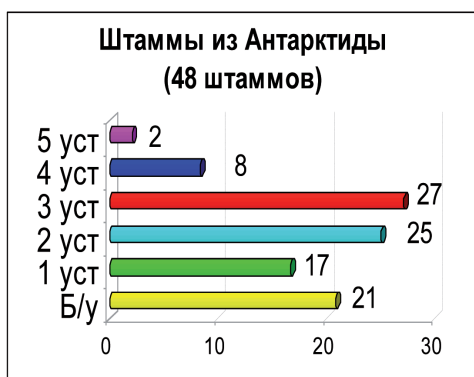
Очевидно, что воздействие температуры приводит к существенному изменению параметров среды обитания и лишь условно может рассматриваться как изолированный фактор. В нашей работе мы поставили ряд задач с целью оценки взаимосвязанного воздействия совокупности факторов, в том числе температуры, на устойчивость и жизнеспособность микробных сообществ и микроорганизмов в почвах и подобных им гетерофазных минеральных системах.

#### *Устойчивость штаммов к антибиотикам*

Исследование жизнеспособных бактерий, выделенных из экстремальных холодных местообитаний, какими являются антарктические почвы, позволяет использовать их как модели для изучения природных механизмов устойчивости к различным стрессам, возникшим в условиях постоянной смены температур, сильного УФ излучения, низкой влажности. Ранее были опубликованы данные по устойчивости «древних» бактерий, выделенных из вечномерзлых арктических осадков, к антибиотикам различных классов, для которых была характерна множественная лекарственная резистентность [9]. Таким образом, было получено свидетельство в пользу гипотезы о возникновении генов устойчивости к антибиотикам задолго до наступления эры массового применения антибиотиков в клинических условиях.

Исследования, проведенные на штаммах бактерий, выделенных из антарктических почв, которые характеризуются постоянной сменой температур в поверхностных горизонтах формирующихся почв, также выявили множественную устойчивость к антибиотикам различных классов. В работе использовали широкий спектр антибиотиков разных классов: 1) аминогликозиды: стрептомицин (Str – 50–100 мкг/мл), канамицин (Km – 25–50 мкг/мл), спектиномицин (Sp – 50–100 мкг/мл), 2) тетрациклины: тетрациклин (Tc – 10 мкг/мл), 3) производные нитробензола: хлорамфеникол (левомецитин) (Cm – 20 мкг/мл), 4) β–лактамы: ампициллин (Ap – 100–200 мкг/мл), 5) хинолоны: налидиксовую кислоту (Nal – 20 мкг/мл).

Во всех типах изученных почв около 70% штаммов обладали устойчивостью к двум и более антибиотикам (рис. 6).



**Рис. 6.** Спектры устойчивости к антибиотикам у выделенных штаммов бактерий. На диаграммах цифрами справа указан % штаммов с разной шириной спектра устойчивости из выделенных образцов почв, слева – число антибиотиков, к которым устойчивы выделенные штаммы. Б/у – штаммы, чувствительные ко всем использованным антибиотикам

Полученные результаты могут свидетельствовать в пользу того, что в условиях стресса замораживания – оттаивания в экологически чистых земных местообитаниях, какими являются антарктические почвы, жизнеспособные бактерии приобретают высокую степень устойчивости к экстремальным факторам, и множественная устойчивость может являться реакцией на экстремальные условия обитания. Возможно также, что подобные специфические местообитания позволяют сохранить природные механизмы устойчивости антарктических бактерий к антибиотикам.

#### *Устойчивость бактерий–экстремофилов к ионизирующему излучению*

Среди физических параметров, способных оказывать прямое подавление жизнедеятельности микроорганизмов, важнейший – ионизирующее излучение. Источником радиации является как сама минеральная среда, так и флуктуации космического излучения. Воздействие этого фактора значительно менялось вместе с климатом на протяжении истории планеты и жизни населяющих ее организмов. Как эти процессы влияли на эволюцию, прерывали ли жизнь или способствовали ее укреплению, неизвестно. Один из ключей к поиску ответов на эти вопросы – исследование реакции биосистем на множественный стресс. Изучение современных планетных моделей может прояснить ряд фундаментальных вопросов.

Мы исследовали влияние низкой температуры на реакцию микроорганизмов, сорбированных на минеральной матрице (глинистые минералы) при воздействии ионизирующей радиации. Параметры эксперимента были приближены к параметрам Марсианского грунта, учитывая то, что исследуемые нами объекты рассматриваются как экстремальные природные биосистемы, наиболее близкие к условиям Марса [17, 18, 23] и используются для отработки астробиологических задач.

Высказываются логичные предположения, что устойчивость к радиации связана с устойчивостью к высоким концентрациям солей и устойчивостью к сильным окислителям. Поэтому с помощью предварительной инкубации с внесением солей (NaCl и перхлората) не только приводили модель в соответствие с реголитом Марса, но проводили селекцию потенциально радиорезистентных штаммов. Объектами исследования в эксперименте явились чистые культуры бактерий *Kocuria rosea* SN\_T60

и *Arthrobacter polychromogenes* SN\_T61, выделенные из горизонта А серозема пустыни Негев (образец SN), *Micrococcus* sp. 13, выделенная из того же почвенного образца, предварительно инкубированного с внесением 5% хлорида натрия, *Cellulomonas* sp. 12, изолированная из того же образца, после инкубации с 5% перхлората натрия, *Arthrobacter* sp. 11, выделенная из образца вечномёрзлой осадочной породы Антарктики (6/99, 1.3–1.5 м), инкубированного с 5% перхлората натрия. Культуры иммобилизовали в стерильном монтмориллоните, активизировали увлажнением, инкубировали в течение суток и подсушивали до воздушно-сухого состояния. Образцы помещали в ранее описанную климатическую камеру [22], позволяющую поддерживать давление 1 торр и температуру  $-50^{\circ}\text{C}$  в течение всего времени облучения. Облучение проводили на гамма-установке К-120000 с источниками  $^{60}\text{Co}$  при интенсивности излучения 0.5–5 кГр/ч. После облучения культуры в замороженном состоянии доставляли в лабораторию для анализа. Перед посевом проводили десорбцию микроорганизмов на вортексе Heidolph Multi Reax в течение 30 минут при 2000 об./мин.

Штаммы *Kocuria rosea* SN\_T60, *Arthrobacter polychromogenes* SN\_T61, а также штаммы *Arthrobacter* sp. 11, *Micrococcus* sp. 13 и *Cellulomonas* sp. 12, иммобилизованные в монтмориллоните, были облучены высокими дозами гамма-излучения (1 кГр и 10 кГр) в условиях низкого давления (1 торр) и низкой температуры ( $-50^{\circ}\text{C}$ ). Мощность излучения при дозе 10 кГр составляла 5 кГр/час, при дозе 1 кГр использовали два режима облучения – 0.5 кГр/час и 3 кГр/час.

Наибольшую устойчивость к воздействию высоких доз радиации проявили штаммы *Kocuria rosea* SN\_T60 и *Arthrobacter polychromogenes* SN\_T61 (рис. 7). Штамм *Kocuria rosea* SN\_T60 после воздействия дозы 10 кГр снижал плотность популяции в 5 раз, при облучении дозой 1 кГр число КОЕ возрастало в 3–6 раз (в зависимости от интенсивности излучения). Штамм *Arthrobacter polychromogenes* SN\_T61 также повышал плотность популяции после воздействия дозы 1 кГр. Культуры, выделенные на средах с хлоридами и перхлоратами, проявили гораздо более низкую устойчивость к облучению. Однако снижение численности не было катастрофичным для популяции. Наименьшую устойчивость к облучению проявил солеустойчивый штамм *Micrococcus* sp., снизивший число КОЕ при дозе 1 кГр (3 кГр/час) в 5000 раз, при дозе 10 кГр популяция потеряла репродуктивную способность почти полностью. Таким образом, один из исследованных нами штаммов проявил пониженную устойчивость, но при этом все культуры сохранили способность к репродукции и восстановлению популяции.

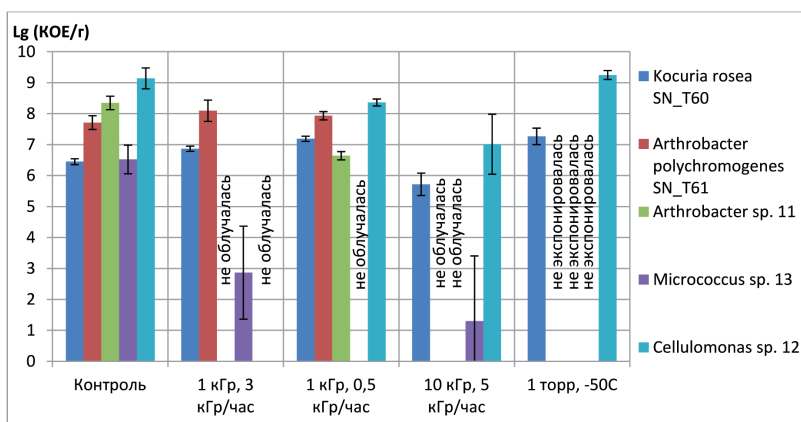


Рис. 7. Влияние гамма-излучения, температуры и низкого давления на численность культивируемых клеток бактерий

Согласно литературным данным, численность подавляющего большинства бактерий (за исключением некоторых видов родов *Deinococcus* и *Rubrobacter*) при облучении в чистой культуре гамма-излучением в дозе 10 кГр снижается на 3 и более порядков (в том числе при облучении при пониженных температурах  $-20^{\circ}\text{C}$  –  $-79^{\circ}\text{C}$ ) [14, 21]. В нашем случае 2 из 3 штаммов, облученных этой дозой, снизили численность всего в 5 и 140 раз. Для *Kocuria rosea* доза  $D_{10}$  (при которой гибнет 90% популяции) составляет 2 кГр [12]. В нашем эксперименте после облучения дозой 10 кГр произошло снижение численности всего в 5 раз. Столь высокая резистентность исследованных нами штаммов может объясняться условиями облучения (низкие температуры, высушивание из-за низкого давления), защитой минеральной матрицы или устойчивостью штамма-экстремофила.

В работе был исследован вопрос о влиянии интенсивности излучения на выживание микроорганизмов. Штаммы *Kocuria rosea* SN\_T60 и *Arthrobacter polychromogenes* SN\_T61 были облучены дозой 1 кГр в двух режимах: при интенсивности излучения 0.5 кГр/час и 3 кГр/час. Репродуктивная способность обоих штаммов стимулировалась данной дозой. Однако влияние интенсивности излучения проявилось неоднозначно: активизация штамма *Kocuria rosea* SN\_T60 возрастала при меньшей интенсивности, штамм *Arthrobacter polychromogenes* SN\_T61 был активнее при более высокой интенсивности излучения. Полученный результат подтвердил значимость параметра интенсивности излучения (при сохранении дозы) и необходимость дополнительного исследования. Эти результаты противоречат данным Дартнелла [14], где было показано, что выживаемость не зависит от интенсивности излучения в условиях облучения при  $-79^{\circ}\text{C}$ . Положительное воздействие на культуры оказало контрольное экспонирование при низком давлении (1 торр) и низкой температуре ( $-50^{\circ}\text{C}$ ) в течение 2 часов. Штамм *Kocuria rosea* SN\_T60 повысил численность популяции в 6,5 раз относительно контроля, штамм *Cellulomonas* sp. – в 1,3 раза.

Проведенный эксперимент подтвердил взаимозависимое воздействие физических факторов на культуры бактерий. Полученные данные свидетельствуют о высокой устойчивости бактерий к ионизирующему излучению при взаимодействии клеток с минеральной средой.

## Заключение

Исследования экстремальных местообитаний привлекают широким спектром фундаментальных вопросов и проблем. В их числе проблема поддержания жизнеспособности организмами, их адаптации, роли среды обитания и многие другие.

В настоящем исследовании установлено, что адаптация микроорганизмов в наиболее экстремальных ксерофитных местообитаниях: почвах пустынь и полярных арктических и антарктических биотопах (почвы, лед, мерзлота) происходит не по пути специфического ответа на действие лимитирующего фактора, а представляет собой ответ на множественное воздействие (высушивание, засоление, изменение ионного потенциала, воздействие температуры и т.д.). Это приводит к расширению диапазона устойчивости (толерантности) ко многим физическим и химическим факторам. Результаты исследования показали высокую устойчивость микроорганизмов из экстремально ксерофитных местообитаний Земли к воздействию температуры, солей, антибиотиков. Получены доказательства значительного возрастания устойчивости к ионизирующему излучению при отрицательной температуре и давлении. Механизмы расширения спектра устойчивости у бактерий, обитающих в экстремальных условиях, а также проявление множественной устойчивости к воздействию физико-

химических факторов требуют дальнейшего изучения. Раскрытие механизмов множественной устойчивости микроорганизмов откроет новые перспективы в решении фундаментальных и прикладных проблем биологии и астробиологии.

*Исследование поддержано Программой фундаментальных исследований по приоритетным направлениям РАН «Эволюция органического мира и планетарных процессов» (микробиологический и биохимический анализ образцов), а также грантами РФФИ № 14–50–00029 (в части культивирования и идентификации микроорганизмов) и №17–12–01184 (облучение образцов).*

*Авторы благодарят Бадюкова Д.Д. за предоставленные образцы с Новой Земли, О.Р. Коцюрбенко и Р. Энджела за образцы почвы из пустыни Негев. Авторы чтят память Д.А. Гиличинского и благодарны ему за многолетнее сотрудничество в исследовании полярной мерзлоты.*

### Библиографический список

1. Воробьева Е.А., Соина В.С., Звягинцев Д.Г., Гиличинский Д.А. Жизнеспособные экосистемы криолитосферы // Бактериальная палеонтология / Под ред. А. Ю. Розанова. М.: Изд-во ПИН РАН. 2002. С. 155–168.
2. Гусев М.В., Минеева Л.А. Микробиология. М.; Изд. Московского университета, 2003. 464 с.
3. Звягинцев Д.Г. и др. Длительность сохранения микроорганизмов в постоянно мерзлых осадочных породах и погребенных почвах // Микробиология. 1985. Т. 54. №. 1. С. 155–161.
4. Имшинецкий А.А., Цурзаков Б. Г., Евдокимова М.Д., Дорофеева И.К. Влияние перекиси водорода и гидратированных окислов железа на метаболизм почвенной микрофлоры // Микробиология. 1979. Т. 48. №. 5. С. 919–926.
5. Калакуцкий Л.В., Агре Н.С. Развитие актиномицетов. М.; Наука, 1977. 285 с.
6. Кочкина Г.А. и др. Микромикеты и актинобактерии в условиях многолетней естественной криоконсервации // Микробиология. 2001. Т. 70. №. 3. С. 412–420.
7. Лешн А.Ю. и др. Биомаркеры сульфидных руд современных и древних «черных курильщиков» // Докл. АН. 1998. Т. 359. №. 4. С. 525–528.
8. Островский Д.Н. Новые участники окислительного стресса у бактерий // Успехи биол. химии. 1997. Т. 37. С. 147–160.
9. Петрова М.А. и др. Изучение ассоциации генов *strA–strB* с плазмидами и транспозонами у современных и древних штаммов бактерий // Генетика. 2008. Т. 44. №. 9. С. 36–44.
10. Abyzov S.S. Microorganisms in the Antarctic ice // Antarctic Microbiology/ Ed. E.I. Friedmann. New York. 1993. Pp. 265–296.
11. Cameron R.E., Morelli F.A., Johnson R.M. Bacterial species in soil and air of Antarctic continent // Antarctic Journal of the United States. 1972. Т. 7. №. 5. Pp. 187–189.
12. Cox M.M., Battista J.R. Deinococcus radiodurans – the consummate survivor // Nature Reviews Microbiology. 2005. Т. 3. №. 11. Pp. 882–892.
13. Crits-Christoph A. et al. Colonization patterns of soil microbial communities in the Atacama Desert // Microbiome. 2013. Т. 1. P. 28.
14. Dartnell L.R. et al. Low-temperature ionizing radiation resistance of Deinococcus radiodurans and Antarctic Dry Valley bacteria // Astrobiology. 2010. Т. 10. №. 7. Pp. 717–732.
15. Gilichinsky D.A. et al. Microbial populations in Antarctic permafrost: biodiversity, state, age, and implication for astrobiology // Astrobiology. 2007. Т. 7. №. 2. Pp. 275–311.



16. Gilichinsky D.A., Wagener S., Vishnevetskaya T.A. Permafrost microbiology // Permafrost and Periglacial Processes. 1995. T. 6. №. 4. Pp. 281–291.
17. Goordial J. et al. Nearing the cold–arid limits of microbial life in permafrost of an upper dry valley, Antarctica //The ISME Journal. 2016. T. 10. Pp. 1613–1624.
18. Heldmann J.L. et al. The high elevation Dry Valleys in Antarctica as analog sites for subsurface ice on Mars // Planetary and Space Science. 2013. T. 85. Pp. 53–58.
19. Lane D.J. 16S/23S rRNA sequencing //Nucleic acid techniques in bacterial systematics/ Eds. E. Stackebrandt and M. Goodfellow. England, John Wiley & Sons Ltd. 1991. Pp. 115–175.
20. Mykytczuk N.C.S. et al. Bacterial growth at– 15 C; molecular insights from the permafrost bacterium Planococcus halocryophilus Or1 //The ISME journal. 2013. T. 7. №. 6. Pp. 1211–1226.
21. Musilova M. et al. Isolation of radiation–resistant bacteria from Mars analog antarctic dry valleys by preselection, and the correlation between radiation and desiccation resistance //Astrobiology. 2015. T. 15. №. 12. Pp. 1076–1090.
22. Pavlov A.K. et al. Growth of microorganisms in martian–like shallow subsurface conditions: laboratory modelling //International Journal of Astrobiology. 2010. T. 9. №. 01. Pp. 51–58.
23. Rasuk M.C. et al. Bacterial diversity in microbial mats and sediments from the Atacama Desert // Microbial ecology. 2016. T. 71. №. 1. Pp. 44–56.
24. Shekhovtsova N.V., Osipov G.A., Verkhovtseva N.V., Pevzner L.A. Analysis of lipid biomarkers in rocks of the Archean crystalline basement //Proceedings of SPIE. 2003. T. 4939. Pp. 160–168.
25. Soina V.S. et al. Preservation of cell structures in permafrost: a model for exobiology // Advances in Space Research. 1995. T. 15. №. 3. Pp. 237–242.
26. Soina V.S. et al. The structure of resting bacterial populations in soil and subsoil permafrost // Astrobiology. 2004. T. 4. №. 3. Pp. 345–358.
27. Soina V.S., Vorobyova E.A. Adaptation of bacteria to the terrestrial permafrost environment: a biomodel for Astrobiology // Origins: genesis, evolution and biodiversity of life / Ed. J. Seckbach. Netherlands, Kluwer Academic publishers. 2004. Pp. 427–444.
28. Soina V.S., Vorobyova E.A. Role of Cell Differentiation in High Resistance of Prokaryotes to Cryoconservation in Permafrost //Advances in Space Research. 1996. Vol. 18. №. 12. Pp. 51–58.
29. Sugden D. E. et al. Preservation of Miocene glacier ice in East Antarctica // Nature. 1995. №. 376. Pp. 412–414.
30. Van der Wielen P. W. J. J. et al. The enigma of prokaryotic life in deep hypersaline anoxic basins //Science. 2005. T. 307. №. 5706. Pp. 121–123.
31. Vorobyova E. et al. The deep cold biosphere: facts and hypothesis //FEMS Microbiology Reviews. 1997. Vol. 20. №. 3–4. Pp. 277–290.

#### RESISTANCE OF MICROORGANISMS FROM EXTREME XEROPHYTIC ENVIRONMENTS TO THE EFFECTS OF INACTIVATING FACTORS

Ye.A. Vorobyova<sup>1,2</sup>, V.S. Cheptsov<sup>1</sup>, V.S. Soina<sup>1</sup>, A.A. Belov<sup>1</sup>, M.O. Kryuchkova<sup>1</sup>, Ye.S. Karaevskaya<sup>3</sup>, A. Ye. Ivanova<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Lomonosov Moscow State University, Soil Science Faculty; <sup>2</sup> RAS Institute of Space Research; <sup>3</sup> RAS Institute of Physical–and–Chemical and Biological Problems in Soil Science)

*Resistance of microorganisms to the effects of physical and chemical factors exceeds the generally accepted ideas, and requires a comprehensive study. The natural environment provides protection and*

*promotes the unique mechanisms of survivability of soil microbial communities. A team of authors has been studying the resistance to inactivating factors of prokaryotic and eukaryotic microorganisms isolated from extreme xerophytic habitats in order to assess the possible existence of biological life beyond The Earth, and form a collection of the most resistant heterotrophic bacteria and fungi.*

*Microbial communities of polar and desert arid habitats of the Earth exhibit multiple resistance to the influence of physical and chemical factors. The increasing stability to inhibitory effects is a characteristic feature of extremophiles in heterophase environments. Extremophiles isolated in culture remain highly resistant to a wide range of physical–and–chemical and biotic environmental factors, in particular, they are stable to broad spectrum of antibiotics, temperature and pH fluctuations, presence of oxidants and salts in the medium. Interaction with the mineral medium, low temperatures and low pressure increase the resistance of bacteria to ionizing radiation.*

*Mechanisms for enhancing sustainability of microorganisms that inhabit extreme biotopes, as well as a manifestation of multiple resistance to physical and chemical factors require further study.*

**Key words:** *microorganisms, microbial communities, extreme habitats, stability, stress, temperature, ionizing radiation, antibiotics.*

## References

1. Vorob'yeva Ye.A., Soina B.C., Zvyagintsev D.G., Gilichinskiy D.A. Zhiznesposobnyye ekosistemy kriolitosfery [Viable ecosystems of the cryolithosphere] // Bakterial'naya paleontologiya / Ed. by A. Yu. Rozanova. M.: Izd-vo PIN RAN. 2002. Pp. 155–168.
2. Gusev M.V., Mineyeva L.A. Mikrobiologiya [Microbiology]. M.; Izd. Moskovskogo universiteta, 2003. 464 p.
3. Zvyagintsev D.G. et al. Dlitel'nost' sokhraneniya mikroorganizmov v postoyanno merzlykh osadochnykh porodakh i pogrebennykh pochvakh [Preservation duration of microorganisms in permanently frozen sedimentary rocks and buried soils] // Mikrobiologiya. 1985. Vol. 54. No. 1. Pp. 155–161.
4. Imshenetskiy A.A., Tsurzakov B. G., Yevdokimova M.D., Dorofeyeva I.K. Vliyaniye perekisi vodoroda i gidratirovannykh okislov zheleza na metabolizm pochvennoy mikroflory [Influence of hydrogen peroxide and hydrated iron oxides on the metabolism of soil microflora] // Mikrobiologiya – 1979. – Vol. 48. – No. 5. – Pp. 919–926.
5. Kalakutskiy L.V., Agre N.S. Razvitiye aktinomitsetov [Development of actinomycetes]. M.; Nauka, 1977. 285 p.
6. Kochkina G.A. et al. Mikromitsety i aktinobakterii v usloviyakh mnogoletney yestestvennoy kriokonservatsii [Micromycetes and actinobacteria in conditions of long-term natural cryopreservation] // Mikrobiologiya. 2001. Vol. 70. No. 3. Pp. 412–420.
7. Lein A.Yu. et al. Biomarkery sul'fidnykh rud sovremennykh i drevnykh "chernykh kuril'shchikov" [Biomarkers of sulphide ores of modern and ancient "black smokers"] // Dokl. AN. 1998. Vol. 359. No. 4. Pp. 525–528.
8. Ostrovskiy D.N. Novyye uchastniki okislitel'nogo stressa u bakteriy [New participants in oxidative stress in bacteria] // Uspekhi biol. khimii. 1997. Vol. 37. Pp. 147–160.
9. Petrova M.A. et al. Izucheniye assotsiatsii genov strA–strB s plazmidami i transpozonomami u sovremennykh i drevnykh shtammov bakteriy [Study of the association of strA–strB genes with plasmids and transposons in modern and ancient bacterial strains] // Genetika. 2008. Vol. 44. No. 9. Pp. 36–44.
10. Abyzov S.S. Microorganisms in the Antarctic ice // Antarctic Microbiology/ Ed. by E.I. Friedmann. New York. 1993. Pp. 265–296.
11. Cameron R.E., Morelli F.A., Johnson R.M. Bacterial species in soil and air of Antarctic continent // Antarctic Journal of the United States. 1972. Vol. 7. No. 5. Pp. 187–189.



12. Cox M.M., Battista J.R. Deinococcus radiodurans – the consummate survivor // Nature Reviews Microbiology. 2005. Vol. 3. No. 11. Pp. 882–892.
13. Crits-Christoph A. et al. Colonization patterns of soil microbial communities in the Atacama Desert // Microbiome. 2013. Vol. 1. P. 28.
14. Dartnell L.R. et al. Low-temperature ionizing radiation resistance of Deinococcus radiodurans and Antarctic Dry Valley bacteria // Astrobiology. 2010. Vol. 10. No. 7. Pp. 717–732.
15. Gilichinsky D.A. et al. Microbial populations in Antarctic permafrost: biodiversity, state, age, and implication for astrobiology // Astrobiology. 2007. Vol. 7. No. 2. Pp. 275–311.
16. Gilichinsky D.A., Wagener S., Vishnevetskaya T.A. Permafrost microbiology // Permafrost and Periglacial Processes. 1995. Vol. 6. No. 4. Pp. 281–291.
17. Goordial J. et al. Nearing the cold-arid limits of microbial life in permafrost of an upper dry valley, Antarctica // The ISME Journal. 2016. Vol. 10. Pp. 1613–1624.
18. Heldmann J.L. et al. The high elevation Dry Valleys in Antarctica as analog sites for subsurface ice on Mars // Planetary and Space Science. 2013. Vol. 85. Pp. 53–58.
19. Lane D.J. 16S/23S r RNA sequencing // Nucleic acid techniques in bacterial systematics/ Eds. E. Stackebrandt and M. Goodfellow. England, John Wiley & Sons Ltd. 1991. Pp. 115–175.
20. Mykytczuk N.C.S. et al. Bacterial growth at– 15 C; molecular insights from the permafrost bacterium Planococcus halocryophilus Or1 // The ISME journal. 2013. Vol. 7. No. 6. Pp. 1211–1226.
21. Musilova M. et al. Isolation of radiation-resistant bacteria from Mars analog antarctic dry valleys by preselection, and the correlation between radiation and desiccation resistance // Astrobiology. 2015. Vol. 15. No. 12. Pp. 1076–1090.
22. Pavlov A.K. et al. Growth of microorganisms in martian-like shallow subsurface conditions: laboratory modelling // International Journal of Astrobiology. 2010. Vol. 9. No. 01. Pp. 51–58.
23. Rasuk M.C. et al. Bacterial diversity in microbial mats and sediments from the Atacama Desert // Microbial ecology. 2016. Vol. 71. No. 1. Pp. 44–56.
24. Shekhovtsova N.V., Osipov G.A., Verkhovtseva N.V., Pevzner L.A. Analysis of lipid biomarkers in rocks of the Archean crystalline basement // Proceedings of SPIE. 2003. Vol. 4939. Pp. 160–168.
25. Soina V.S. et al. Preservation of cell structures in permafrost: a model for exobiology // Advances in Space Research. 1995. Vol. 15. No. 3. Pp. 237–242.
26. Soina V.S. et al. The structure of resting bacterial populations in soil and subsoil permafrost // Astrobiology. 2004. Vol. 4. No. 3. Pp. 345–358.
27. Soina V.S., Vorobyova E.A. Adaptation of bacteria to the terrestrial permafrost environment: a biomodel for Astrobiology // Origins: genesis, evolution and biodiversity of life / Ed. by J. Seckbach. Netherlands, Kluwer Academic publishers. 2004. Pp. 427–444.
28. Soina V.S., Vorobyova E.A. Role of Cell Differentiation in High Resistance of Prokaryotes to Cryoconservation in Permafrost // Advances in Space Research. 1996. Vol. 18. No. 12. Pp. 51–58.
29. Sugden D. E. et al. Preservation of Miocene glacier ice in East Antarctica // Nature. 1995. Vol. 376. Pp. 412–414.
30. van der Wielen P. W. J. J. et al. The enigma of prokaryotic life in deep hypersaline anoxic basins // Science. 2005. Vol. 307. No. 5706. Pp. 121–123.
31. Vorobyova E. et al. The deep cold biosphere: facts and hypothesis // FEMS Microbiology Reviews. 1997. Vol. 20. No. 3–4. Pp. 277–290.

**Воробьева Елена Алексеевна** – к. б. н., с. н. с. факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова (119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12; тел.: (495) 939-31-79 (раб.), (915) 495-53-36 (моб.); e-mail: esautin@yandex.ru).

**Чепцов Владимир Сергеевич** – асп. кафедры биологии почв факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова (119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12; тел.: (495) 939-31-79 (раб.); (920) 980-05-54 (моб.); e-mail: cheptcov.vladimir@gmail.com).

**Соина Вера Сергеевна** – к. б. н., с. н. с. факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова (119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12; тел.: (495) 939-31-79 (раб.), (916) 938-89-99; e-mail: soina@yandex.ru).

**Белов Андрей Антонович** – бакалавр-студент кафедры биологии почв факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова (119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12; тел.: (495) 939-31-79 (раб.), (917) 584-44-07; e-mail: a.a.belov@ecostudy.org).

**Крючкова Маргарита Олеговна** – бакалавр-студент кафедры биологии почв факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова (119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12; тел.: (985) 252-52-48; e-mail: margo\_kruchkova@mail.ru).

**Караевская Екатерина Сергеевна** – н. с. Института физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН (142290, Московская обл., г. Пушкино, ул. Институтская, д. 2; тел.: (916) 675-24-54; тел.: katya\_k\_s@mail.ru).

**Иванова Анна Евгеньевна** – к. б. н., н. с. факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова (119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12; тел.: (495) 939-35-86; e-mail: ivanovaane@gmail.com).

**Yelena A. Vorobyova** – PhD (Eng), Senior Research Associate, the Faculty of Soil Science, Lomonosov Moscow State University (119991, Moscow, Leninskiye Gory, 1, bld. 12, phone: (495) 939-31-79 (office), (915) 495-53-36 (mobile); e-mail: esautin@yandex.ru).

**Vladimir S. Cheptsov** – postgraduate student, the Department of Soil Biology, the Faculty of Soil Science, Lomonosov Moscow State University (119991, Moscow, Leninskiye Gory, 1, bld. 12, phone: (495) 939-31-79 (office); (920) 980-05-54 (mobile); e-mail: cheptcov.vladimir@gmail.com).

**Vera S. Soina** – PhD (Eng), Senior Research Associate, the Faculty of Soil Science, Lomonosov Moscow State University (119991, Moscow, Leninskiye Gory, 1, bld. 12, phone: (495) 939-31-79 (office), (916) 938-89-99; e-mail: soina@yandex.ru).

**Andrey A. Belov** – BSc student, the Department of Soil Biology, the Faculty of Soil Science, Lomonosov Moscow State University (119991, Moscow, Leninskiye Gory, 1, bld. 12, phone: (495) 939-31-79 (office), (917) 584-44-07; e-mail: aabelov@ecostudy.org).

**Margarita O. Kryuchkova** – BSc student, the Department of Soil Biology, the Faculty of Soil Science, Lomonosov Moscow State University (119991, Moscow, Leninskiye Gory, 1, bld. 12, phone: (985) 252-52-48; e-mail: margo\_kruchkova@mail.ru).

**Yekaterina S. Karayevskaya** – Research Associate, the Institute of Physical-and-Chemical and Biological Problems of Soil Science at the Russian Academy of Sciences (142290, Moscow Region, Pushchino, Institutskaya Str., 2; phone: (916) 675-24-54; e-mail: katya\_k\_s@mail.ru).

**Anna Ye. Ivanova** – PhD (Eng), Senior Research Associate, the Faculty of Soil Science, Lomonosov Moscow State University (119991, Moscow, Leninskiye Gory, 1, bld. 12, phone: (495) 939-35-86; e-mail: ivanovaane@gmail.com).