

ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ПОРОД ОАЗИСОВ АНТАРКТИДЫ МЕТОДАМИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

*Е.С. КАРАЕВСКАЯ¹, Н.Э. ДЕМИДОВ^{2,6}, Д.Г. ШМЕЛЕВ³, Е.М. РИВКИНА⁴,
С.А. БУЛАТ⁵*

¹ — ООО КориумСкан, e-mail: katty_k_s@mail.ru

² — ГИЦ РФ Арктический и антарктический научно-исследовательский институт, Санкт-Петербург, e-mail: nikdemidov@mail.ru

³ — АО «Гипотрубопровод», e-mail: shmelevdenis_msu@mail.ru

⁴ — ФАНО ФГБУНИ Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пушкино, e-mail: muss@mail.ru

⁵ — Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, e-mail: bulat@omrb.pnpi.spb.ru

⁶ — ФАНО ФГБУНИ Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, г. Москва

Проведено культивирование аэробных и анаэробных бактерий из многолетнемерзлых пород острова Кинг Джордж, оазисов Ширмахера, Холмы Ларсеманн, Бангера и Берега Хоббса. На основе качественного и количественного состава культивируемого сообщества образцов проведена сравнительная характеристика разнообразия морских, озерных и флювиогляциальных отложений различных геоэкологических условий и возраста.

Ключевые слова: аэробные бактерии, анаэробные накопительные культуры, вечная мерзлота, оазисы, Антарктида.

ВВЕДЕНИЕ

Исследования микроорганизмов, способных сохранять жизнеспособность в вечной мерзлоте, проводились с начала XX в. при обнаружении в мерзлоте остатков представителей плейстоценовой фауны (Омелянский, 1911; Исаченко, 1912; Каптерев, 1938; Крисс, 1940; Каляев, 1947). Из многолетнемерзлых пород Арктики были выделены жизнеспособные аэробные (Звягинцев и др., 1985; Хлебникова и др., 1990; Соина и др., 1991; Vorobyova et al., 1997; Карасев и др., 1998; Хмеленина и др., 2002; Rodrigues et al., 2006; Backermans et al., 2006; Steven et al., 2006, 2007; 2008) и анаэробные бактерии и археи (Rivkina et al., 1998; 2007; Suetin et al., 2009; Krivushin et al., 2010; Scherbakova et al., 2011), водоросли (Вишневская и др., 1997; Vishnivetskaya et al., 2002), дрожжи (Бабьева и др., 1969; Дмитриев и др., 1997; Faizutdinova et al., 2005), микромицеты (Кочкина и др., 2001; 2012; Озерская и др., 2008) и простейшие животные (Шатилов и др., 2005; 2010).

Вечная мерзлота Антарктиды изучена в значительно меньшей степени (Gilichinsky et al., 2007; Goordial et al., 2016). Вечномерзлые отложения по сравнению

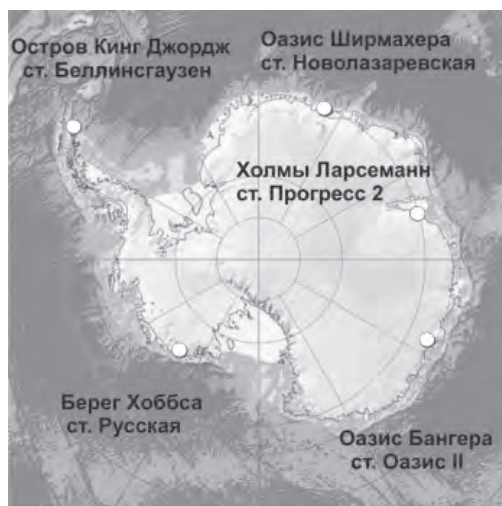


Рис. 1. Районы бурения (получения проб) исследуемых многолетнемерзлых пород.

с чистым льдом являются лучшей природной средой, способствующей длительному сохранению жизнеспособных микроорганизмов. Клетки в ней способны сохраняться в течение длительного геологического времени от нескольких тысяч до нескольких миллионов лет (Gilichinsky, Rivkina, 2011). С экзобиологической точки зрения микробное разнообразие многолетнемерзлых пород (ММП) Земли является моделью для дальнейшей разработки подходов и методов обнаружения жизни на планетах криогенного типа. Наиболее близким аналогом ММП Земли является мерзлота Марса (Gilichinsky et al., 2007; Демидов и др., 2012). В нашей работе представлены результаты культивирования аэробных бактерий, а также сульфатредуцирующей активности некоторых образцов в анаэробных условиях и предположения о свойствах сообществ исследуемых многолетнемерзлых пород, характеризующихся различными геокриологическими условиями, происхождением, возрастом и географическим положением. Районы работ представлены на рис. 1.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Образцы мерзлых осадочных пород были отобраны с помощью буровой установки УКБ 12/25 колонковым способом путем простого механического вращения пробоотборника без промывки и без добавления каких-либо химических реагентов. Для микробиологических исследований отбирали центральную часть ненарушенного мерзлого керна диаметром 50–100 мм с соблюдением мер стерильности. Образцы доставляли в лабораторию при отрицательных температурах. Отбор навески мерзлого керна проводили стерильно в микробиологическом боксе.

Для культивирования использовали метод прямого посева из образца на плотные питательные среды: 1/2 TSA, R₂A, ГА (голодный агар) и морской агар (Sigma). Расчет численности клеток проводили по формуле: $N = (mPb)/a$, где m — количество колоний на чашке; P — разведение; b — количество капель в одном мл; a — масса навески. Для обнаружения анаэробной активности образцов использовали стандартную среду для сульфатредукторов с использованием ацетата, пирувата и лактата натрия в качестве источников углерода. Культивирование проводили при температурах 4, 6

и 20 °C. Фиксирование процесса сульфатредукции проводили качественно методом изменения оптической плотности на спектрофотометре SPECOL 221 (Институт биофизики и физиологии микроорганизмов) при длине волны 660 нм. Приготовление раствора: 1 мл 2-процентного ацетата Zn; 0,2 мл пробы накопительной культуры; 0,5 мл 0,2-процентного раствора N,N-диметил-1,4-фенилендиамина в 20-процентной серной кислоте; 0,05 мл 10-процентного раствора железо-аммонийных квасцов в 2-процентной серной кислоте; дистиллированной воды до общего объема 10 мл (Абашина и др., 2015).

Учет численности анаэробных клеток проводили методом предельных разведений, для чего посев суспензии образцов/среда как 1:10 последовательно 7 раз разбавляли в 10 раз до получения разведения 10^8 , после чего учитывали наличие и численность клеток спустя 3 месяца инкубации в каждом разведении.

Для определения таксономической принадлежности культур из их биомассы с помощью набора реактивов «MOBIO Power Soil DNA isolation KIT» выделяли геномную ДНК и затем проводили полимеразную цепную реакцию (ПЦР) с использованием праймеров 27f-5'-AGAGTTTGGATCMTGGCTCAG-3', 1492r-5'-TACCTTGTTACGACTT-3' и 63f-5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC; 1387r-5'-CGGCGGWTGTACAAGGC-3' (Marchesi et al., 1998) для получения ампликонов генов 16S рибРНК. Полученный продукт очищали с помощью набора QIAGEN DNA purification KIT. С использованием автоматического 4-капиллярного секвенатора определяли нуклеотидные последовательности ампликонов (без клонирования), которые затем обрабатывали с помощью программ Chromas и Blast (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Выделение геномной ДНК из образцов проводили в помещениях, сертифицированных по классу чистоты (класс 10000 и ламинар класса 100) лаборатории гляциологии и геофизики окружающей среды (ЛГГОС) (Гренобль, Франция) (Bulat et al., 2004). Механическое разрушение клеток проводили с помощью инструмента FastPrep ("MP Biomedicals", США). Для выделения геномной ДНК использовали коммерческий набор PowerSoil DNA isolation kit ("MoBio Labs", США). Для амплификации генов 16S рибРНК бактерий использовали пару вырожденных универсальных праймеров на область v3-v5 (590 нуклеотидных пар) (Karlova et al., 2011; Chuvochina et al., 2011). Ампликоны клонировали в вектор набора TOPO TA Cloning® Kit for Sequencing ("Invitrogen", США). Предварительно степень покрытия клоновых библиотек и ее коррекцию (в сторону большего покрытия) определяли по результатам риботипирования с использованием трех ферментов рестрикции Alu I, Hpa II и Hae III ("Fermentas", Литва), тогда как окончательную степень покрытия определяли по результатам анализа нуклеотидных последовательностей, сгруппированных в флотипы. Секвенирование проводили в компании «Евроген» (Москва, Россия). Выравнивание, сравнение и идентификацию выявленных флотипов осуществляли с помощью программы CLUSTALW2 (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2>) и алгоритма BLAST базы данных GenBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) (Altschul et al., 1990). По результатам этого анализа судили о таксономическом положении ДНК клонов/флотипов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Остров Кинг Джордж (станция Беллинсгаузен)

Скважины А11-08 и В1-09 глубиной 12 и 9 м соответственно вскрыли отложения морской террасы на острове Кинг Джордж в районе станции Беллинсгаузен (62,192° ю.ш., 58,939° з.д., 15 м). Среднегодовая температура отложений –0,6 °C

(Абрамов и др., 2011). Отложения представлены (сверху вниз): до 5 см крупным галечником, до 7,5 м мерзлым песком, далее до 9 м — суглинком и до 11 м — голубой глиной, далее — подстилающие талые глинистые отложения, в которых расположен подмерзлотный водоносный горизонт.

Характерной особенностью многолетнемерзлых пород был черный цвет и сильный запах сероводорода. Льдистость отложений варьировала от 10 до 36 %. В скважине отмечено присутствие метана от 0,5 до 7,4 мл/кг, изотопный состав которого $\delta^{13}\text{C}(\text{CH}_4)$ от -81 до -94 ‰, что однозначно указывает на его биогенный генезис (Абрамов и др., 2011). Общая минерализация водной вытяжки составляет 1–4 г/л. В ее составе доминируют ионы Na^+ и SO_4^{2-} , что говорит о промывании осадков пресными водами. Значения окислительно-восстановительного потенциала (Eh) варьировали от 413 на 8,5 м до +18 на 3,0 м и были +242 на 4 м. Значения pH варьировали от 7,23 до 9,82 с максимумом на глубине 6,5 м. Всего было исследовано 18 микробиологических образцов.

Численность культивируемых аэробных бактерий на питательных средах изменялась от 0 до 10^4 КОЕ/г, причем закономерности распределения культивируемых аэробов по разным слоям выявлено не было. Наибольшая численность (10^4 КОЕ/г) была зафиксирована в образцах, наиболее близких к поверхности на глубине от 3 до 4 м в обеих скважинах. В более глубоких слоях она падала до $0\text{--}10^2$ КОЕ/г. При этом максимальная численность приходилась на слои песка и глины, минимальная — на слой супеси, максимальные значения льдистости приходились на 5,5, 6,5 и 9 м, а содержание органического углерода равномерно возрастало с глубиной (рис. 2).

Из использованных питательных сред наиболее благоприятными для культивирования из этих отложений оказались разбавленные среды со средним содержанием органических субстратов (R_2A и 1/2TSA) и морской агар, содержащий раствор микроэлементов и небольшое количество минеральных солей. При температуре 4°C рост был преимущественно на среде R_2A , при 20°C — на среде 1/2TSA.

В результате посевов образцов на питательные среды практически не было выявлено доминирования колоний одного морфотипа, за исключением образцов с глубин 3,2–3,3 и 4,1–4,2 м, доминирующими в которых оказались молочно-белые круглые плоские колонии, содержащие кокки и определенные как *Acinetobacter sp.* (Bel-320-1*, 2, Bel-410-1, 2). Данный флотип показал 99,7 % сходства (по последовательности) с культурой *Acinetobacter lwoffii* DSM 2403 (Audureau et al., 1940). Представители этого вида являются патогенами человека, но могут встречаться и в почвах.

Среди других культур из единичных колоний идентифицированы были следующие.

Bel-440-1 — *Kocuria sp.* — кокки, образующие маленькие круглые ярко-красные колонии — 97 % сходства с *Kocuria rosea* (GenBank № X87756) (Stackebrandt et al., 1995). Представители этого рода были выделены из почв, пыли и циано-бактериальных матов Антарктиды.

Bel-440-2 — *Micrococcus sp.* — кокки, на 96 % сходные со штаммом *Micrococcus endophyticus* YIM 56238 (Chen et al., 2009), изолированным из корней *Aquilaria sinensis*.

Bel-660-1, 2, 3 — *Microbacterium sp.* — кокки, образующие ярко-желтые колонии, сходные на 98 % со штаммом *Microbacterium paraoxydans* CF36 (Laffineur et al., 2003), изолированным из крови больного лейкемией, и на 99 % со штаммом

* Название культур состоит из названия станции (Bel), глубины в см (380) и порядкового номера культуры с данной глубины.

Microbacterium phyllosphaerae DSM 13468, выделенным из отходов мульчирования дерна (Behrendt et al., 2001).

Bel-940-1, 2 — *Frigobacterium* sp. — грамположительная палочкообразная бактерия, образующая желто-бежевые круглые колонии — 97 % сходства со штаммом *Frigoribacterium faeni* 801 (Kampfner et al., 2000), выделенным из сенной пыли и имеющим оптимальный рост при 4–8 °C, а также 96 % сходства со штаммом *Frigoribacterium mesophilum* MSL-08 (Dastager et al., 2008) с острова Бигеум, Южная Корея.

Культура Bel-380 — грамположительная палочковидная бактерия, образующая круглые пигментированные (красный цвет) колонии, лишь 84 % сходства со штаммом *Pedobacter composti* TR6-06, выделенным из компоста (Lee et al., 2009), осталась неидентифицированной (менее 90 % сходства — уровень выше семейства).

Оазис Ширмахера (станция Новолазаревская)

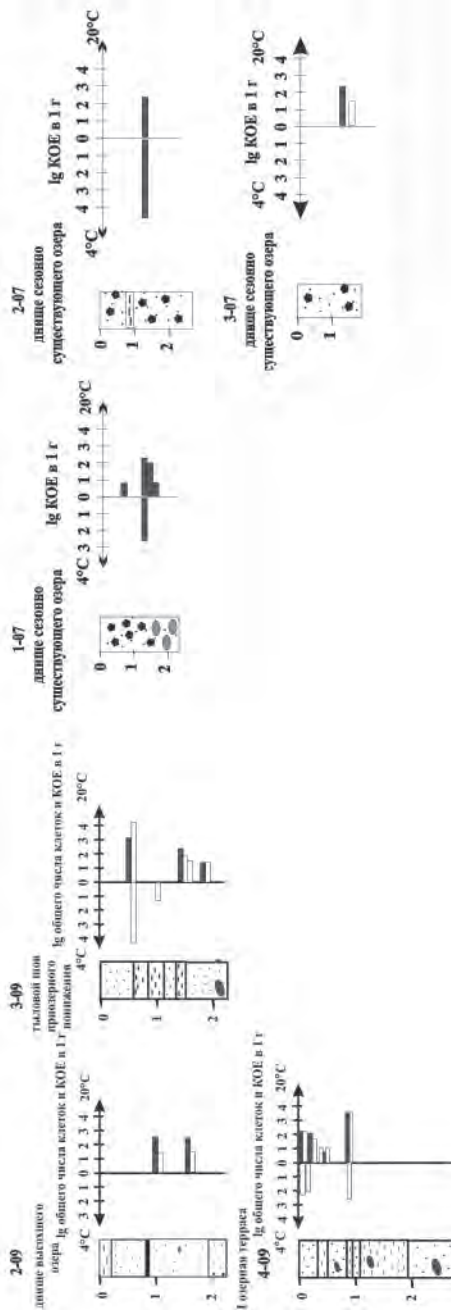
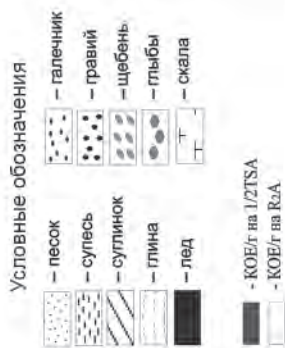
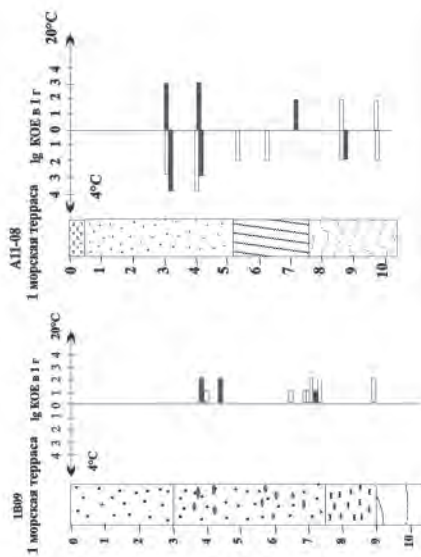
Скважины 2, 3, 4-09 пробурены в восточной части оазиса Ширмахера вблизи станции Новолазаревская и вскрыли отложения 1-й и 2-й озерных террас западного и восточного берега оз. Красное (70,763° ю.ш., 11,795° в.д., 80 м). Максимальная мощность рыхлых отложений оазиса, представленных песками с прослоями супеси и обломками коренных пород, составляла 3 м. Было показано, что верхняя часть разреза (10–80 см) была сложена сухими малольдистыми грунтами, подстилаемыми льдистыми мерзлыми породами (аналогичная двухслойная структура грунта характерна для мерзлотных районов Марса). Общая минерализация водной вытяжки составила от 0,23 до 1,65 г/л.

В ее составе доминировали ионы Cl^- , SO_4^{2-} и Na^+ . pH отложений варьировал от 6,8 до 7,28 в скважине 2-09, от 6,33 до 6,84 в скважине 3-09 и от 6,51 до 7,6 в скважине 4-09. Среднегодовая температура отложений составила –8,3 °C (Абрамов и др., 2011). Всего было исследовано 14 микробиологических образцов.

Численность культивируемых аэробных бактерий в разных образцах варьировала от 0 до 10^6 КОЕ/г. Рост наблюдался как при 4, так и при 20 °C, но максимальное число КОЕ/г было отмечено при 4 °C, при этом не все образцы, проявившие активность на среде R_2A , дали рост на среде 1/2TSA (рис. 2). На примере отложений скважин 3 и 4-09 была замечена некоторая зависимость численности КОЕ/г от льдистости образцов. Однако явной закономерности выявлено не было.

Из культивируемых аэробов в поверхностном мелкоземе шурфа скважины 4-09 доминировал актиномицет *Streptomyces* sp. (Nov-5-10), в образце 0,5 м скважины 3-09 — грамотрицательная бактерия *Polaromonas* sp. (Nov-50-2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10). Из минорных компонентов культивируемой части сообщества образца 0,5 м (3-09) были идентифицированы представители родов *Devosia* (Nov-50-1), *Deltia* (Nov-50-11), *Cryobacterium* (Nov-50-12, 13, 14) и *Bacillus* (Nov-50-16). Культура Nov-50-15 осталась неидентифицированной.

Так, Nov-5-10 — *Streptomyces* sp. — актиномицет, доминирующий в отложениях слоев 0–5, 5–10 см в верхней части скважины 4-09, образовывал врастающие в среду колонии, разделенные от центра перетяжками-сегментами, приобретающими через несколько суток при 20 °C белый воздушный мицелий на среде 1/2TSA и сиреневый на R_2A . Толщина мицелия — около 1 мкм. Наиболее близким из типовых штаммов (96 % сходства) оказался *Streptomyces subutilus* DSM 40445 (Arai et al., 1964) — продуцент гидроксистрептомицина. Как известно, род *Streptomyces* представляет типичных обитателей верхних горизонтов почв разных районов.



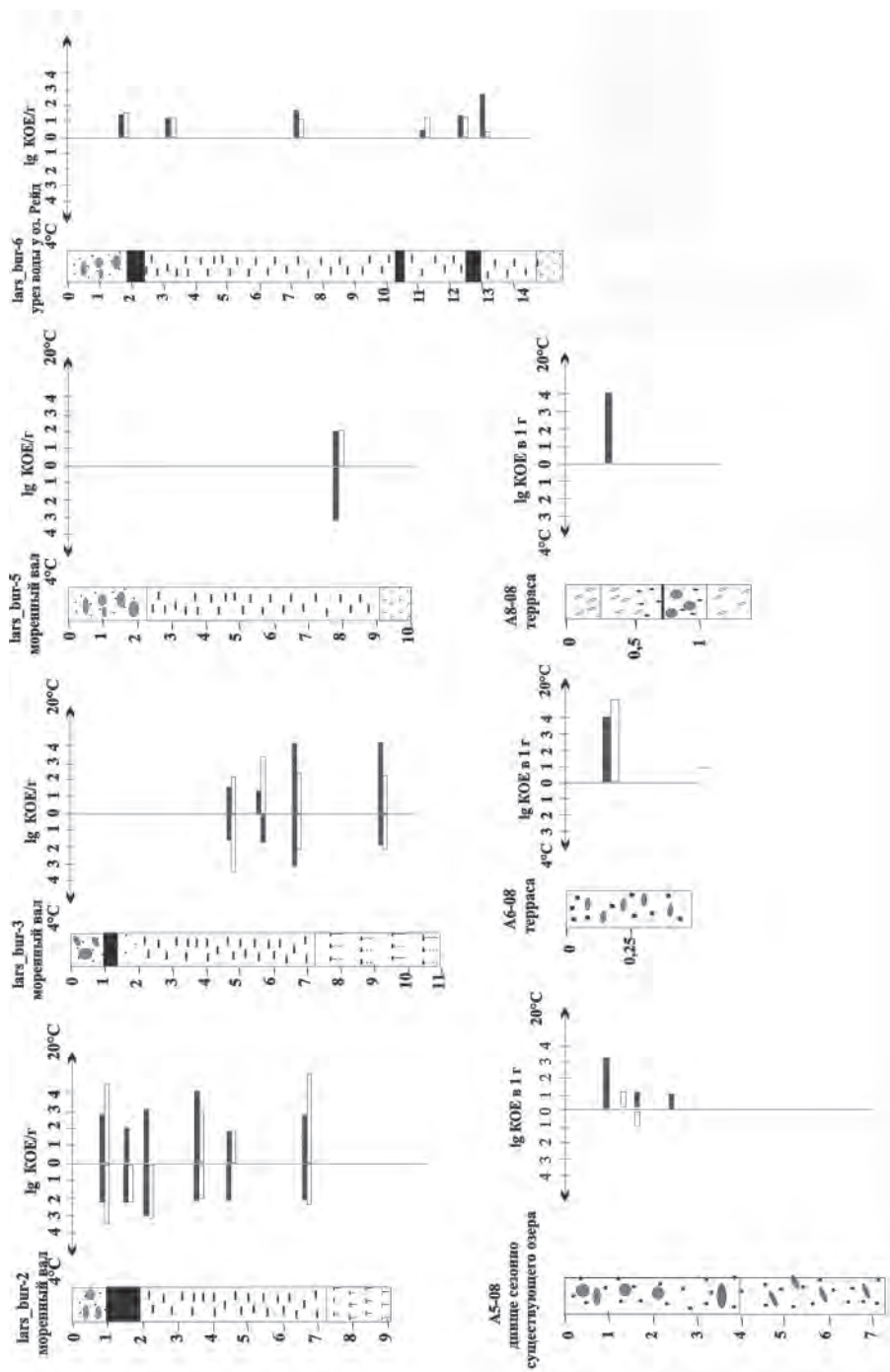


Рис. 2. Распределение числа колониеобразующих единиц в 1 г грунта (КОЕ/г) в скважинах, пробуренных во многолетнемерзлых породах оазисов Антарктиды.

Nov-50-2, 3 — *Polaromonas* sp. — граммотрицательные кокки, доминирующие на глубине 50 см скважины 3-09, образовывали бежевые плоские круглые колонии, показавшие 95% сходства со штаммом *Polaromonas naphthalenivorans* CJ2 (Jeon et al., 2004), выделенным из нефте-деготно загрязненных пресноводных отложений и способным использовать нафталин в качестве единственного источника углерода и энергии.

Отметим, что многие представители рода *Polaromonas* являются психрофилами (Miteva et al., 2004).

Nov-50-1 — *Devosia* sp. — граммотрицательная палочкообразная бактерия, образующая маленькие круглые плоские темно-бежевые колонии, выделенная с глубины 50 см скважины 3-09 и показавшая 95 % сходства со штаммом *Devosia limi* R-21940 = LMG 22951 (Vanparys et al., 2005), выделенным из накопительной нитрифицирующей культуры из азотификсирующего клубенька водяной мимозы *Neptunia natans* в Индии.

Nov-50-4, 6, 9 — *Cryobacterium* sp. — грамположительные неравного размера палочки, образующие желто-бежевые плоские колонии, выделенные с глубины 50 см скважины 3-09 и показавшие 94 % сходства со штаммом *Cryobacterium psychrotolerans* 0549 (Zhang et al., 2007), выделенным из ледника, и 95 % сходства со штаммом *Cryobacterium mesophilum* MSL-15 (Dastager et al., 2008), выделенным из почвы острова Бигеум в Южной Корее.

Delftia sp. Nov-50-5 — граммотрицательная палочковидная бактерия, образующая светло-бежевые плоские круглые колонии, показавшая 98 % сходства со штаммом *Delftia lacustris* 332 (Jørgensen et al., 2009), выделенным из воды мезотрофного озера в Дании и способным разлагать пептидогликан.

Nov-50-7 — *Bacillus* sp. — грамположительная спорообразующая бактерия, образующая белые плотные колонии неправильной формы, выделенная с глубины 50 см скважины 3-09 и показавшая 99 % сходства со штаммом *Bacillus marisflavi* TF-11, выделенным из морской воды высыхающей отмели Желтого моря (Yoon et al., 2003).

Культура Nov-50-8 — грамположительная пигментированная красным цветом бактерия, делящаяся на палочки и показавшая лишь 85 % сходства со штаммом *Rhodococcus kroppenstedtii* K07-23, изолированным из холодной пустыни Индийских Гималай (Mayilraj et al., 2006), осталась неидентифицированной (менее 90 % сходства).

Холмы Ларсеманн (станция Прогресс)

Бурение скважин 1–3-07 производили в днище сезонно существующего озера (Кристальное) (69,395° ю.ш., 76,359° в.д., 39 м). Значения Eh отложений варьировали от –335 до +484 мВ. Значения pH в скважине 1-07 составляли от 4,01 до 6,86, в скважине 3-07 — 6,86 и в скважине 2-07 до 9,18. В скважине 1-07 обнаружен метан в количествах от 0,03 до 16,13 мл/кг. Всего было исследовано 7 микробиологических образцов.

Численность культивируемых аэробных бактерий составляла от 0 до 10⁴ КОЕ/г. Максимальный рост был отмечен на более богатой органическими субстратами среде 1/2TSA, чем R₂A и голодный агар. Большую численность наблюдали при 20 °С, а не при 4 °С (рис. 2).

Скважины lars_bur-2, 3, 5 и 6 были пробурены на моренных отложениях долины озер Рейд и Скандретт (Нелла) (69,387° ю.ш., 76,376° в.д., 15 м) (Демидов и др., 2013).

Максимальная мощность морены наблюдалась в скважине lars_bur-3 и составила 5,5 м. Первые 1–2 м отложений содержали валуны диаметром до 1 м, включенные в мерзлый песок серого и желтовато-бурого цвета с массивной криотекстурой. Возраст отложений по данным радиоуглеродного датирования нижележащих озерно-морских

отложений составляет менее 30 тыс. лет. Далее вниз по скважине были вскрыты озерно-морские отложения, мощностью до 6 м, подстилаемые скальным основанием, представленные серыми и черными песками с косой слоистостью и специфическим запахом органических веществ. Для песков была характерна массивная криотекстура, редкие включения камней и пластового льда, содержание биогенного метана 0,011–0,986 мл/кг (Демидов и др., 2013). Среднегодовая температура отложений составила –9,5 °C (Демидов и др., 2013).

Всего было исследовано 20 микробиологических образцов.

Численность культивируемых аэробных бактерий составляла от 0 до 10^5 КОЕ/г. Хороший рост наблюдали на всех средах, хотя наибольшая численность была получена при 20 °C. В целом наибольшие показатели КОЕ были отмечены в озерно-морских отложениях, при этом максимальное КОЕ было отмечено в озерно-лагунных отложениях (рис. 2). Выделенные из исходных образцов культуры не были идентифицированы.

Из накопительных культур двух образцов скважины lars_bur-6 в среде 1/10 R₂A были выделены культуры Lars-130, Lars-144-1, 2, 3.

Lars-130, Lars-144-3 — *Stenotrophomonas* sp. — грамотрицательные подвижные палочки, образующие бежевые полупрозрачные круглые плоские колонии, показавшие для Lars-130 всего 96 % родства с разлагающей ЭДТА *Stenotrophomonas chelatiphaga*, выделенной из сточных вод (Kaparullina et al., 2009), для Lars-144-3 — 98 % с *Stenotrophomonas rhizophila*, изолированной из ризосферы рапса *Brassica napus* L. (Wolf et al., 2002).

Lars-144-1 — *Tardiphaga robiniae* — грамотрицательные палочки, образующие небольшие круглые колонии ярко-красного цвета, показавшие 99 % сходства с *T. robiniae*, выделенной из клубеньков акации *Robinia pseudoacacia* (Meyer et al., 2012).

Lars-144-2 — *Microbacterium paraoxidans* — грамположительные коринеформные палочки, образующие желтые колонии, показавшие 99 % сходства с *M. Paraoxidans*, выделенной из человеческой крови (Laffineur et al., 2003), а также из рыб *Nile tilapia*, для которых является патогеном (Soto-Rodriguez et al., 2013).

Оазис Бангера (станция Оазис-2)

Скважина А5-08 глубиной 7 м выявила озерные осадочные породы с дна временного водотока оазиса Бангера, протекающего по пересохшему озеру к озеру Фигурное под горой Черная (66,275 °ю.ш., 100,760 °в.д., 7 м). Мерзлые осадки начинаются с глубины 1 м. Они представлены песчаными, супесчаными и суглинистыми разностями с обильными включениями гальки, щебня и остатков фауны при полном отсутствии створок диатомей. Как и в породах острова Кинг Джордж, в осадках оазиса Бангера спор и пыльцы не обнаружено. Доминирующими ионами в водной вытяжке являются Na⁺, HCO₃⁻ и SO₄⁻², ее минерализация составляла 1–3 г/л. Значение Eh отложений варьирует от –489 на глубине –5,8 м до +267 на глубине 1,65 м. Значение pH варьируют от 7,23 до 9,82 на глубине 6,5 м. Среднегодовая температура отложений составила –7,9 °C (Абрамов и др., 2011). Всего было исследовано 5 микробиологических образцов.

Общая численность клеток на глубине составила от 10^6 клеток/г на глубине 1 м до 10^8 клеток/г на глубине 2,65 м, культивируемых аэробов было 0– 10^1 КОЕ/г на средах R₂A и 1/2TSA с максимумом 10^4 КОЕ/г на среде 1/2TSA на глубине 1 м (рис. 2).

Культивируемые аэробы отложений скважины А5-08 представляли собой единичные колонии без доминирования определенной группы. Из них было идентифицировано два фило типа *Cryobacterium* sp. (Bng-110-1, 2, 3) и *Bacillus* sp. (Bng-580).

Bng-110-1, 2, 3 — *Cryobacterium* sp. — грамположительные бактерии, делящиеся на неравные палочки и образующие желто-бежевые плоские колонии. Выделены из слоя 110–120 см и показали наибольшее сходство (95%) со штаммом *Cryobacterium psychrotolerans* 0549 (Zhang et al., 2007), выделенным из ледника.

Bng-580 — *Bacillus* sp. — грамположительная спорообразующая бактерия, выделенная из слоя 580 см и показавшая 98 % сходства со штаммом *Bacillus mojavensis* IFO15718 (Vardhan et al., 2011). Этот вид впервые был выделен из пустынной почвы Мойявы, штамм KJS-3 (Kim et al., 2011), эндофит, защищающий растения от болезней и противодействующий микромицетам рода *Fusarium*.

Берег Хоббса (станция Русская)

Оазис Берег Хоббса представляет собой скалистый мелкосопочник, полого поднимающийся от берега моря до высот 140–150 м. Скважины A6-08 и A8-08 вскрыли гравийные и мелкозернистые осадочные породы (74,763° ю.ш., 136,798° з.д., 64 и 76 м).

Значения Eh варьировали от –328 в скважине 8-08 на глубине 1,2–1,25 м до +348 в скважине 6-06 на глубине 0,26–0,33 м. Значение pH колебалось от 6,4 до 6,7 в скважине 6-08 и от 6,0 до 7,1 в скважине 8-08. Среднегодовая температура отложений составила –10,4 °C (Абрамов и др., 2011). Всего было исследовано 2 микробиологических образца.

В отложениях было обнаружено 10^6 – 10^7 клеток/г и 10^3 – 10^5 КОЕ/г при 20 °C (рис. 2).

Идентификация выделенных культур не была проведена.

Культивирование анаэробных микроорганизмов

Образцы скважины 1B-09 с глубин 6,6 и 9,4 м, показавшие наибольшее количество метана, были помещены в среду для сульфатредукторов, содержащую лактат и пируват, которую инкубировали на +6, +20 и +30 °C. Спустя 10 месяцев культивирования в полученных накопительных культурах с помощью световой микроскопии была определена численность микроорганизмов в образцах: для всех вариантов она составила 10^8 клеток/г, соответствуя общей численности клеток в образце по данным прямого счета. Видимые клетки представляли собой как кокки, так и палочки разной толщины и длины. Явного процесса сульфатредукции методом цветовой реакции определения содержания сульфида ни в одной из повторностей обнаружено не было. Накопительные культуры тех же образцов в той же среде, поставленные двумя годами ранее при двух разных температурах (6,6: +6 °C, 9,4: +20 °C) и показавшие положительный результат по этому методу, были пересеяны на среды, содержащие лактат и пируват или ацетат и водород. В течение двух месяцев при измерении их оптической плотности тем же методом наблюдали ее небольшое увеличение, что однозначно говорит о сульфатредуцирующей активности в этих образцах, причем в большей степени в образце 6,12 м при 6 °C, более близкой к температуре океанической воды и многолетнемерзлых осадков температуре (рис. 3).

Еще одна накопительная культура образца с глубины 1,9 м скважины 1-07, содержащего 16,13 мл/кг метана, на среде для сульфатредуцирующих бактерий с лактатом и пируватом, спустя 2 года культивирования при +6 °C показавшая положительный результат в цветовой реакции определения содержания сульфида, была пересеяна на среды, содержащие в качестве источников углерода как только лактат и пируват, так и с добавкой ацетата и водорода. В течение двух месяцев наблюдали небольшое увеличение оптической плотности при измерении содержания сульфида (рис. 3).

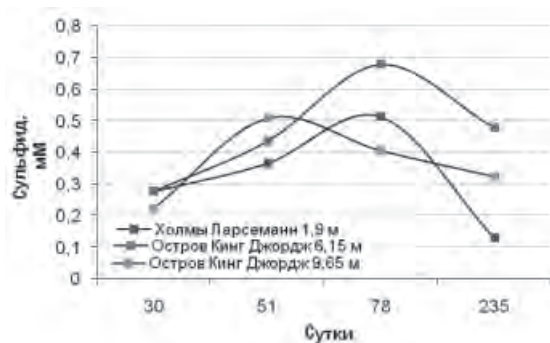


Рис. 3. Увеличение количества сульфида в накопительных культурах озерных ММП холмов Ларсеманн и морских ММП острова Кинг Джордж.

Предварительный анализ микробных сообществ методом прямого ДНК-анализа

Пилотное исследование библиотек клонов, созданных на основе амплифицированной с помощью специфических на область $v3-v5$ (590 п.н.) бактериальных генов 16S рРНК ДНК, выявило в скважине 1В09 (остров Кинг Джордж) с глубины 6,6 м фило типы, относящиеся в основном к альфа-протеобактериям, тогда как с глубины 9,4 м — преимущественно к бета-протеобактериям. Среди других фило типов были «родственные» умеренным термофильным, аце дофильным, метилотрофным, аммоний-окисляющим бактериям, метаногенным археоам, а также бактериям-продуцентам антибиотиков и бактериохлорофилла А. Принадлежность одного фило типа (97 % сходства) к роду *Desulfosporosinus*, еще одного (96 % сходства) к роду *Algidimarina*, а также очень далекое сходство других двух фило типов (86 % сходства — уровень класса и выше) с родом *Desulfobacterium* может говорить о присутствии в этих отложениях не только в прошлом, но и в настоящем процесса сульфатредукции.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ВЫВОДЫ

Условия ММП в районе скважин А11-08 и 1В09 на острове Кинг Джордж характеризуются высокой среднегодовой температурой пород ($-0,6^{\circ}\text{C}$), что может объяснять низкую активность этих отложений при аэробном культивировании. Температуры пород ММП оазисов Ширмахера ($-8,3^{\circ}\text{C}$), Холмы Ларсеманн ($-9,5^{\circ}\text{C}$) и Бангера ($-7,9^{\circ}\text{C}$) более благоприятны для сохранения жизнеспособности клеток микроорганизмов, сохранившихся в них, хотя ММП оазиса Бангера показали низкие значения КОЕ/г, что может быть связано с флювиогляциальным происхождением отложений. Особую роль в сохранении микробных сообществ мерзлоты играет величина льдистости рыхлых пород. Так, в образцах поверхностного мелкозема оазиса Ширмахера (0–10 см, 2 % льда), подверженного ежегодным перепадам температур от $-44,4$ до $+35,9^{\circ}\text{C}$ (Кручинин, Симонов, 1967; Bormann, Fritzsche, 1995), выявлено на порядок меньше КОЕ/г (10^2), чем в цементированном льдом грунте (85–100 см, 20 % льда) с ежегодным колебанием температур от $-17,9$ до $+0,6^{\circ}\text{C}$ (10^3 КОЕ/г). Этот пример иллюстрирует возможные условия сохранения микроорганизмов (в частности, аэробных бактерий) в аналогичных горизонтах Марса. Показано, что в морских ММП острова Кинг Джордж (возраст 7,5 тыс. лет) и лагунных ММП в холмах Ларсеманн (30 тыс. лет) численность КОЕ/г не превышала 10^4 , при этом в ММП острова Кинг

Джордж в целом она была ниже, что может быть связано с высокой температурой ММП последних — $-0,6^{\circ}\text{C}$. В то же время при сравнении в озерных ММП холмов Ларсеманн (возраст 20 тыс. лет) и оазиса Ширмахера (более 50 тыс. лет) максимальная численность (10^6 КОЕ/г) была обнаружена в последних, хотя среднегодовые температуры ММП в них практически не различались (оазис Ширмахера — $-8,3^{\circ}\text{C}$, Холмы Ларсеманна — $-9,5^{\circ}\text{C}$). Озерно-лагунные отложения холмов Ларсеманн характеризовались большим числом КОЕ/г и большим разнообразием грамотрицательных и пигментированных бактерий по сравнению с мореной, обнаружившей в основном только спорообразующие бактерии. Культуральное аэробное разнообразие морских ММП острова Кинг Джордж оказалось менее богатым и было представлено в основном спорообразующими формами, тогда как разнообразие озерных ММП (особенно, в ММП оазиса Ширмахера) включало большое количество грамотрицательных бактерий, встречающихся в морских водах и ледниках.

Большинство выделенных нами из ММП оазисов штаммов относятся к бактериям, ранее изолированным из почв, пресноводных и морских отложений и холодных местообитаний. Так, 30 % выделенных культур оказались принадлежащими родам *Cryobacterium*, *Frigobacterium*, *Polaromonas*, которые являются обитателями холодных экосистем. Вместе с тем 70 % культур показали менее 98 % сходства по последовательности гена 16S rRNA с коллекционными штаммами и могут представлять новые виды.

Молекулярно-биологическое исследование бактериального сообщества морских отложений острова Кинг Джордж показало, что большинство из выявленных фило-типов имело высокое сходство с фило-типами в GenBank, являющимися гетеротрофами и хемохетеротрофами. Обнаружение в ДНК морских ММП острова Кинг Джордж фило-типов, родственных бактериям сульфатредуцирующих родов, подкрепляется наличием сульфатредуцирующей активности в накопительных культурах тех же образцов. Это позволяет предположить наличие в них жизнеспособных сульфатредуцирующих бактерий. Также как и в случае культур, 73 % выявленных фило-типов показали менее 98 % сходства с ближайшими коллекционными штаммами, подтверждая вывод о малой изученности биоразнообразия ММП Антарктиды.

Работа выполнена на базе лаборатории криологии почв ИФХиБПП РАН, лаборатории анаэробных микроорганизмов ИБФМ РАН (Пушино) и лаборатории криоастробиологии НИЦ Курчатовский институт ПИЯФ (Гатчина). Авторы выражают благодарность всем сотрудникам лабораторий, оказавшим поддержку при выполнении работы, в том числе Д.Г. Федорову-Давыдову, Е.В. Спириной, Г.А. Солдатенковой, В.А. Щербаковой и Д.С. Карлову.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абашина Т.Н., Вайнштейн М.Б., Хаустов С.А. Бактериальная коррозия бетона и биовыщелачивание отходов горнорудной промышленности: Методическое руководство для микробиологических исследований. Пушино: ТулГУ, 2015. С. 55–56.
- Абрамов А.А., Слеттен Р.С., Ривкина Е.М., Миронов В.А., Гиличинский Д.А. Геокриологические условия Антарктиды // Криосфера Земли. 2011. Т. 15. № 3. С. 3–19.
- Бабьева И.П., Голубев В.И. Психрофильные дрожжи в оазисах Антарктиды // Микробиология. 1969. Т. 38. № 3. С. 518–524.
- Демидов Н.Э., Гиличинский Д.А., Миронов В.А., Шмакова Л.А. Криобиосфера Земли и поиск жизни на Марсе // Криосфера Земли. 2012. Т. XVI. № 4. С. 67–82.

- Звягинцев Д.Г., Гиличинский Д.А., Благодатский С.А., Воробьева Е.А., Хлебникова Г.М., Архангелов А.А., Кудрявцева Н.Н. Длительность сохранения микроорганизмов в постоянно мерзлых осадочных породах и погребенных почвах // Микробиология. 1985. Т. 54. С. 155–161.
- Дмитриев В.В., Сузина Н.Е., Русакова Т.Г., Гиличинский Д.А., Дуда В.И. Ультраструктурные особенности природных форм микроорганизмов, изолированных из грунтов вечной мерзлоты Восточной Сибири методом низкотемпературного фракционирования // Доклады Академии наук. 2001. Т. 378. № 6. С. 846–849.
- Исаченко Б.Л. Некоторые данные о бактериях из вечной мерзлоты // Известия Санкт-Петербургского Ботанического сада. 1912. Т. 2. Вып. 5–6. С. 140–168.
- Каляев А.В. Об анабиозе в условиях вечной мерзлоты // Микробиология. 1947. Т. 16. Вып. 2. С. 121–125.
- Кантерев П.Н. Новые материалы по оживлению организмов из вечной мерзлоты // Доклады Академии наук СССР. 1938. Т. 20. № 4. С. 315.
- Карасев С.Г., Гурина Л.В., Гавриш Е.Ю., Аданин В.М., Гиличинский Д.А., Евтушенко Л.И. Жизнеспособные актинобактерии из древних вечномерзлых отложений Сибири // Криосфера Земли. 1998. Т. 2. № 2. С. 69–75.
- Карлов Д.С., Мари Д., Чувочина М.С., Алехина И.А., Булат С.А. Микробное сообщество водной толщи озера Радок (восточная Антарктида) с доминированием актинобактерии “*Candidatus Planktophila limnetica*” // Микробиология. 2011. Т. 80. № 4. С. 571–574.
- Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е., Карасев С.Г., Гавриш Е.Ю., Гурина Л.В., Евтушенко Л.И., Спирина Е.В., Воробьева Е.А., Гиличинский Д.А., Озерская С.М. Микромикеты и актинобактерии в условиях многолетней естественной криоконсервации // Микробиология. 2001. Т. 70. № 3. С. 412–420.
- Красс А.Е. О микроорганизмах в вечной мерзлоте // Микробиология. 1944. Т. 13. Вып. 5. С. 789.
- Кручинин Ю.А., Симонов И.М. «Солярий» в антарктическом оазисе // Информационная бюллетень Советской антарктической экспедиции. 1967. № 65. С. 162–164.
- Озерская С.М., Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е., Князева Е.В., Гиличинский Д.А. Структура комплексов микромикетов в многолетнемерзлых грунтах и криопегах Арктики // Микробиология. 2008. Т. 77. № 4. С. 542–550.
- Омельянский В.Л. Бактериологическое изучение Санг-Юрхского мамонта и окружающей почвы // Архив биологических наук. 1911. Т. 16. № 4. С. 335.
- Соина В.С., Лебедева Е.В., Голышина О.В., Федоров-Давыдов Д.Г., Гиличинский Д.А. Нитрифицирующие бактерии из многолетнемерзлых отложений Колымской низменности // Микробиология. 1991. Т. 60. Вып. 1. С. 187–190.
- Хмеленина В.Н., Макутина В.А., Калюжная М.Г., Ривкина Е.М., Гиличинский Д.А., Троценко Ю.А. Обнаружение жизнеспособных метанотрофных бактерий в многолетнемерзлых осадочных породах северо-восточной Сибири // Доклады Академии наук. 2002. Т. 384. № 2. С. 283–285.
- Хлебникова Г.М., Гиличинский Д.А., Федоров-Давыдов Д.Г., Воробьева Е.А. Количественная оценка микроорганизмов в многолетнемерзлых отложениях и погребенных почвах // Микробиология. 1990. Т. 59. № 1. С. 148–155.
- Шатилов А.В., Шмакова Л.А., Губин С.В., Гудков А.В., Гиличинский Д.А. Жизнеспособные простейшие в позднелейстоценовых и голоценовых многолетнемерзлых отложениях // Доклады Академии наук. 2005. Т. 401. № 5. С. 715–717.
- Шатилов А.В., Шмакова Л.А., Губин С.В., Гиличинский Д.А. Жизнеспособные простейшие в вечной мерзлоте Арктики // Криосфера Земли. 2010. Т. XIV. № 2. С. 69–78.
- Alavi P., Starcher M.R., Thallinger G.G., Zachow Ch., Müller H. Stenotrophomonas comparative genomics reveals genes and functions that differentiate beneficial and pathogenic bacteria // BMC genomics. 2014. Vol. 15. № 1. P. 482.

- Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool // Journal of Molecular Biology. 1990. Vol. 215. № 3. P. 403–410.
- Arai T., Kuroda S., Yamagishi S., Katoh Y. A new hydroxystreptomycin source, *Streptomyces subtritus* // Journal of Antibiotics. 1964. № 17. P. 23–38.
- Backermans C., Ayala-del-Río H.L., Ponder M.A., Vishnivetskaya T., Gilichinsky D., Thomashow M.F., Tiedje J.M. *Psychrobacter cryohalolentis* sp. nov. and *Psychrobacter arcticus* sp. nov., isolated from Siberian permafrost // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2006. № 56. P. 1285–1291.
- Behrendt U., Ulrich A., Schumann P. Description of *Microbacterium foliorum* sp. nov. and *Microbacterium phyllosphaerae* sp. nov., isolated from the phyllosphere of grasses and the surface litter after mulching the sward, and reclassification of *Aureobacterium resistens* (Funke et al. 1998) as *Microbacterium resistens* comb. nov. // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2001. Vol. 51. № 4. P. 1267–1276.
- Bormann P., Fritzsche D. The Schirmacher Oasis, Queen Maud Land, East Antarctica, and its surroundings. Petermann Geogr Mitt Erg -h 289. Perthes, Gotha. 1995. 448 p.
- Bulat S.A., Alekhina I.A., Blot M., Petit J.R., de Angelis M., Wagenbach D., Lipenkov V.Ya., Vasilyeva L.P., Wloch D., Raynaud D., Lukin V.V. DNA Signature of Thermophilic Bacteria from the Aged Accretion Ice of Lake Vostok, Antarctica: Implications for Searching for Life in Extreme Icy Environments // International Journal of Astrobiology. 2004. Vol. 3. P. 1–7.
- Chen H.H., Zhao G.-Z., Park D.-J., Zhang Y.-Q., Xu L.-H., Lee J.-Ch., Kim J.-Ch., Lee W.-J. *Micrococcus endophyticus* sp. nov., isolated from surface-sterilized *Aquilaria sinensis* roots // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2009. Vol. 59. № 5. P. 1070–1075.
- Dastager S. G., Lee J.-Ch., Ju Y.-J., Park D.-J., Kim Ch.-J. *Frigoribacterium mesophilum* sp. nov., a mesophilic actinobacterium isolated from Bigeum Island, Korea // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2008. Vol. 58. № 8. P. 1869–1872.
- De Meyer S.E., Coorevits A., Willems A. *Tardiphaga robiniae* gen. nov., sp. nov., a new genus in the family Bradyrhizobiaceae isolated from *Robinia pseudoacacia* in Flanders (Belgium) // Systematic and applied microbiology. 2012. Vol. 35. № 4. P. 205–214.
- 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 I.P., Ostroumov V.E., Tiedje J.M. Microbial Populations in Antarctic Permafrost: Biodiversity, State, Age and Implication for Astrobiology // Astrobiology. 2007. Vol. 7. № 2. P. 275–311.
- Gilichinsky D.A., Rivkina E.M. Permafrost microbiology // Encyclopedia of Geobiology. Springer-Verlag, 2011. P. 726–732.
- Jeon C.O., Park W., Ghiorse W.C., Madsen E.L. *Polaromonas naphthalenivorans* sp. nov., a naphthalene-degrading bacterium from naphthalene-contaminated sediment // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2004. Vol. 54. № 1. P. 93–97.
- Goordial J., Davila A., Lacelle D., Pollard W., Marinova M.M., Greer Ch.W., DiRuggiero J., McKay Ch. P., Whyte L.G. Nearing the cold-arid limits of microbial life in permafrost of an upper dry valley, Antarctica // The ISME journal. 2016. Vol. 10. № 7. P. 1613–1624.
- Jørgensen N.O.G., Brandt K.K., Nybroe O., Hansen M. *Delftia lacustris* sp. nov., a peptidoglycan-degrading bacterium from fresh water, and emended description of *Delftia tsuruhatensis* as a peptidoglycan-degrading bacterium // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2009. Vol. 59. № 9. P. 2195–2199.
- Kaparullina E., Doronina N., Chistyakova T., Trotsenko Y. *Stenotrophomonas chelatiphaga* sp. nov., a new aerobic EDTA-degrading bacterium // Systematic and applied microbiology. 2009. Vol. 32. № 3. P. 157–162.

- Kim K. M., Jung T.S., Ok S., Ko C.Y. In vitro characterization study of *Bacillus mojavensis* KJS-3 for a potential probiotic // Food Science and Biotechnology. 2011. Vol. 20. № 4. P. 1155–1159.
- Krivushin K.V., Shcherbakova V.A., Petrovskaya L.E., Rivkina E.M. *Methanobacterium veterum* sp. nov., from ancient Siberian permafrost // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2010. № 60. P. 455–459.
- Laffineur K., Avesani V., Cornu G., Charlier J., Janssens M., Wauters G., Delmee M. Bacteremia Due to a Novel Microbacterium Species in a Patient with Leukemia and Description of *Microbacterium paraoxydans* sp. nov. // Journal of clinical microbiology. 2003. Vol. 41. № 5. P. 2242–2246.
- Lee H.G., Kim S.-G., Im W.-T., Oh H.-M., Lee S.-T. *Pedobacter composti* sp. nov., isolated from compost // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2009. Vol. 59. № 2. P. 345–349.
- Mayilraj S., Mayilraj S., Krishnamurthi S., Saha P. and Saini H.S. *Rhodococcus kroppenstedtii* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from a cold desert of the Himalayas, India // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2006. Vol. 56. № 5. P. 979–982.
- Miteva V.I., Sheridan P.P., Brenchley J.E. Phylogenetic and physiological diversity of microorganisms isolated from a deep greenland glacier ice core // Applied and Environmental Microbiology. 2004. Vol. 70. № 1. P. 202–213.
- Rivkina E.M., Gilichinsky D.A., Wagener S., Tidjie J.M., McGrath J. Biogeochemical activity of anaerobic microorganisms from buried permafrost sediments // Geomicrobiology Journal. 1998. № 15. P. 187–193.
- Rivkina E., Shcherbakova V., Laurinavichius K., Petrovskaya L., Krivushin K., Kraev G., Pecheritsina S., Gilichinsky D. Biogeochemistry of methane and methanogenic archaea in permafrost // FEMS Microbiology Ecology. 2007. Vol. 61. № 1. P. 1–15.
- Rodrigues D.F., Goris J., Vishnivetskaya T., Gilichinsky D., Thomashow M.F., Tiedje J.M. Characterization of *Exiguobacterium* isolates from the Siberian permafrost. Description of *Exiguobacterium sibiricum* sp. nov. // Extremophiles. 2006. Vol. 10. № 4. P. 285–294.
- Shcherbakova V., Rivkina E., Pecheritsyna S., Laurinavichius K., Suzina N., Gilichinsky D. *Methanobacterium arcticum* sp. nov., a methanogenic archaeon from Holocene Arctic permafrost // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2011. Vol. 61. № 1. P. 144–147.
- Soto-Rodriguez S.A., Cabanillas-Ramos J., Alcaraz U., Gomez-Gil B., Romadlde J.L. Identification and virulence of *Aeromonas dhakensis*, *Pseudomonas mosselii* and *Microbacterium paraoxydans* isolated from Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, cultivated in Mexico // Journal of applied microbiology. 2013. Vol. 115. № 3. P. 654–662.
- Stackebrandt E., Koch K., Gvozdiak O., Schumann P. Taxonomic Dissection of the Genus *Micrococcus*: *Kocuria* gen. nov., *Nesterenkonia* gen. nov., *Kytococcus* gen. nov., *Dermacoccus* gen. nov., and *Micrococcus* Cohn 1872 gen. emend // International journal of systematic bacteriology. 1995. Vol. 45. № 4. P. 682–692.
- Steven B., L  veill   R., Pollard W.H., Whyte L.G. Microbial ecology and biodiversity in permafrost // Extremophiles. 2006. № 10. P. 259–267.
- Steven B., Briggs G., McKay Ch.P., Pollard W.H., Greer C.W., Whyte L.G. Characterization of the microbial diversity in permafrost sample from the Canadian high Arctic using culture-dependent and culture-independent methods // FEMS Microbiology Ecology. 2007. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2006.00247.x
- Steven B., Chen M.Q., Greer Ch.W., Whyte L.G., Niederberger T.D. *Tumebacillus permanentifrigoris* gen. nov., sp. nov., an aerobic, spore-forming bacterium isolated from Canadian high Arctic permafrost // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2008. № 58. P. 1497–1501.
- Suetin S.V., Shcherbakova V.A., Chuvilskaya N.A., Rivkina E.M., Suzina N.E., Lysenko A.M., Gilichinsky D.A. *Clostridium tagluense* sp. nov., a psychrotolerant, anaerobic, spore-forming bacterium from permafrost // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2009. Vol. 59. № 6. P. 1421–1426.

- Vanparys B., Heylen K., Lebbe L., De Vos P. *Devosia limi* sp. nov., isolated from a nitrifying inoculum // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2005. Vol. 55. № 5. P. 1997–2000.
- Vishnivetskaya T. A., Vorobyova E. A., Gilichinsky D. A. Viable green algae and cyanobacteria within terrestrial permafrost // *Exo-Astrobiology*. 2002. Vol. 518. P. 295–298.
- Vorobyova E. A., Soina V.S., Gorlenko M., Minkovskaya N., Zalinova N., Mamukelashvili A., Gilichinsky D.A., Rivkina E.M., Vishnivetskaya T.A. The deep cold biosphere: facts and hypothesis // *FEMS Microbiol Reviews*. 1997. № 20. P. 277–290.
- Wolf A., Fritze A., Hagemann M., Berg G. *Stenotrophomonas rhizophila* sp. nov., a novel plant-associated bacterium with antifungal properties // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2002. Vol. 52. № 6. P. 1937–1944.
- Yoon J. H. Kim I.-G., Kang K.H., Oh T.-K. Park Y.-H. *Bacillus marisflavi* sp. nov. and *Bacillus aquimaris* sp. nov., isolated from sea water of a tidal flat of the Yellow Sea in Korea // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2003. Vol. 53. № 5. P. 1297–1303.
- Zhang D.C., Wang H.-X., Cui H.-L., Yang Y., Liu H.-C., Dong X.-Z., Zhou P.-J. *Cryobacterium psychrotolerans* sp. nov., a novel psychrotolerant bacterium isolated from the China No. 1 glacier // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2007. Vol. 57. № 4. P. 866–869.

E.S. KARAEVSKAYA, N.E. DEMIDOV, D.G. SHMELEV, E.M. RIVKINA, S.A. BULAT

THE STUDY OF THE BACTERIAL COMMUNITIES IN THE ANTARCTIC OASES' PERMAFROST BY MEANS OF CULTURING

Aerobic and anaerobic bacteria from the permafrost of King George Island, Schirmacher, Larsemann, Banger oases and Hobbs Coast have been cultured. Based on the qualitative and quantitative composition of the cultivated community of samples, a comparative analysis of the biodiversity of marine, lake and fluvio-glacial deposits of different geocryological conditions and age was made.

Keywords: aerobic bacteria, anaerobic rich culture, permafrost, oases, Antarctica.