МИКРОБИОЛОГИЯ, 2020, том 89, № 5, с. 581–592

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ БАКТЕРИЙ И ИХ ФИЛЬТРУЮЩИХСЯ ФОРМ В ПОЧВАХ ВОСТОЧНОЙ АНТАРКТИДЫ (ОАЗИСЫ ХОЛМЫ ЛАРСЕМАНН И ХОЛМЫ БАНГЕРА)

© 2020 г.
А. Г. Кудинова[a], *, М. А. Петрова[a], А. В. Долгих[b], В. С. Соина[c], Л. В. Лысак[c], О. А. Маслова[a]

[a]*Институт молекулярной генетики РАН, Москва, 123182 Россия*
[b]*Институт географии РАН, Москва, 119017 Россия*
[c]*Факультет почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия*
**e-mail: alina-kudinova91@mail.ru*

Поступила в редакцию 19.03.2020 г.
После доработки 25.04.2020 г.
Принята к публикации 27.04.2020 г.

В настоящее время существенно возрос интерес к изучению микробных сообществ таких экстремальных местообитаний как Арктика и Антарктика, а также к выяснению таксономического разнообразия сообществ, форм и механизмов адаптации обитателей антарктических биотопов к экстремальным условиям, что определило цель исследования. С помощью высокопроизводительного секвенирования участка гена 16S рРНК определена таксономическая структура микробных сообществ в образцах почв из оазисов Холмы Ларсеманн и Холмы Бангера. Выявлены различия в составе доминирующих филумов и родов бактерий, что дает возможность предположить, что на формирование почвенных микробных сообществ Антарктиды главным образом влияет тип биотопа, складывающегося на поверхности почвы и сочетание различных физико-химических факторов. Обнаружено высокое содержание в сообществах фильтрующихся форм прокариот (ФФП). На основе анализа библиотек клонов генов 16S рРНК было показано, что бактерии из фракции ФФП в трех исследованных образцах из оазиса Холмы Ларсеманн относятся к филуму *Proteobacteria*. Доминирующая группа ФФП во всех трех образцах имела наибольшее сходство (99%) с некультивируемым бактериальным клоном, относящимся к классу *Deltaproteobacteria*, обнаруженным при оценке бактериального разнообразия горных пород и подземных вод в уезде Дунхай (Китай). Культивационными свойствами на стандартных питательных средах обладали ФФП, относящиеся к филумам: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Deinococcus-Thermus*, *Firmicutes* и *Proteobacteria*. Исходя из данных о высокой численности, содержании и таксономическом составе ФФП в исследуемых образцах, можно говорить об их значительном вкладе в стабильность бактериального сообщества антарктических почв. Фракция ФФП представлена в основном покоящимися клетками бактерий, способными ревертировать к активному росту при благоприятных условиях. По-видимому, быстрый переход при неблагоприятных условиях вегетирующей части популяции бактерий в мелкие покоящиеся формы является одной из стратегий их выживания в экстремальных условиях. Также во фракции ФФП обнаружены клетки, относящиеся к новым видам бактерий, возможно ультрамикробактериям.

Ключевые слова: бактерии экстремальных биотопов, высокопроизводительное секвенирование, анализ библиотек генов 16S рРНК

DOI: 10.31857/S0026365620050134

Антарктические почвы и мерзлые осадки традиционно привлекают внимание ученых всего мира не только с точки зрения изучения сохранения и эволюции жизни в таких экстремальных местообитаниях, но и как модели для астробиологических экстраполяций. В настоящее время интенсивно изучаются почвы и почвоподобные тела на территориях оазисов Восточной Антарктиды, при этом оазис Холмы Бангера остается наименее изученным. Из-за особенностей орографии оазисов климат в них намного мягче по сравнению с суровыми условиями большинства районов континентальной Антарктики. Это области максимального развития антарктической биоты. В оазисах полностью отсутствуют сосудистые растения с корневыми системами. Здесь доминируют мхи, лишайники и цианобактерии, которые создают уникальные эконишу для развития прокариот (Мергелов, 2014).

В настоящее время проводятся интенсивные исследования почвенных микробных сообществ в биотопах Антарктики с помощью современных методов молекулярной биологии (Cowan et al., 2014; Wang et al., 2015; Le et al., 2016; Van Goethem et al., 2016). Одновременно рос интерес к изучению культивируемых форм микроорганизмов, обитающих в экстремальных экологических нишах, изучению особенностей их физиологического состояния, биологической активности и механизмов устойчивости к внешним воздействиям, а также степени участия в почвообразовательных процессах. Поэтому для повышения результативности экологического мониторинга необходимо сочетание обоих приемов выявления жизнеспособных бактерий из этих экстремальных местообитаний.

В экстремальных для большинства живых организмов условиях, свойственных Антарктиде, характеризующихся низкими температурами, дефицитом влаги и питательных веществ, бактерии могут осуществлять разнообразные типы стратегий переживания неблагоприятных условий. Одной из таких стратегий является переход вегетативных клеток в состояние покоя, в жизнеспособные некультивируемые клетки, либо появление мелких форм прокариот или фильтрующихся форм прокариот (ФФП) (Soina et al., 1995; Вайнштейн, Кудряшова, 2000). В антарктических почвах отмечено повышенное содержание ФФП по сравнению с почвами умеренных широт (Кудинова и соавт., 2015). Следует учитывать, что среди фракции клеток, получаемой с помощью фильтрации через мембранные фильтры с размерами пор 220 нм, обнаруживаются как “истинные” ультрамикробактерии, так и покоящиеся анабиотические клетки прокариот, которые уменьшились в размерах при переходе в покой и способны при наступлении благоприятных для роста условий выходить из покоящегося состояния и восстанавливать обычный, свойственный бактериям морфотип (Дуда и соавт., 2012).

В связи с изложенным возникает ряд вопросов: (1) какие бактерии, обитающие в почвах Антарктиды, образуют ФФП; (2) какова роль образования ФФП в адаптации бактерий к суровым условиям обитания; (3) связано ли повышенное содержание ФФП в антарктических почвах с поддержанием стабильности микробиоценозов. Также можно предположить, что в антарктических почвах обитает много “истинных” ультрамикробактерий. В пользу такого предположения свидетельствует тот факт, что из различных экстремальных природных биотопов (грунта вечной мерзлоты, нефтешлама, антропогенно загрязненных почв, озерного ила, мхов термальных болот) выделены свободноживущие ультрамелкие бактерии с объемом клеток от 0.02 до 1.3 мкм^3. Эти бактерии принадлежат к различным филогенетическим группам (*Alphaproteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*) и родам домена *Bacteria* (*Kaistia*, *Chryseobacterium*, *Microbacterium*, *Leucobacter*, *Leifsonia* и *Agrococcus*) и являются свободноживущими мезофильными гетеротрофными аэробными бактериями (Suzina et al., 2015; Соина и соавт., 2012). Также можно полагать, что мелкие покоящиеся формы в антарктических почвах играют важную роль в функционировании и поддержании структуры микробных сообществ, являясь хранилищем потенциально жизнеспособных клеток, способных ревертировать к активному росту при благоприятных условиях. В этом случае обратимый переход части клеток бактериальной популяции в мелкие покоящиеся формы является одной из стратегий выживания в суровых условиях.

Ранее мы определили показатели общей численности и содержание ФФП в образцах почв оазисов Холмы Ларсеманн и Холмы Тала (Кудинова и соавт., 2015) и в данной работе продолжили исследование микробиоценозов почв оазисов Восточной Антарктиды. Целью исследования было определить численность и таксономическое разнообразие бактерий, фильтрующихся форм прокариот, а также их культивируемую компоненту в ранее малоисследованных почвах оазиса Холмы Бангера и новых образцах почв из оазиса Холмы Ларсеманн.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования служили образцы почв, отобранные и описанные участниками Российских антарктических экспедиций в береговой части Восточной Антарктиды на территории оазисов Холмы Ларсеманн (берег залива Прюдс, станция “Прогресс”, 69°23′ ю.ш., 76°23′ в.д.) и Холмы Бангера (восточная часть Земли Королевы Мэри, полевая база “Оазис Бангера”, 66°17′ ю.ш., 100°47′ в.д.). Ландшафты этих оазисов относятся к среднеантарктическим снежниковым криптогамным пустошам. Детальное описание районов исследования и условий почвообразования приведены в статьях Абрамова А.А. и Мергелова Н.С. (Абрамов и соавт., 2011; Мергелов, 2014).

Из образцов почв оазиса Холмы Ларсеманн для исследования были выбраны три образца, отличающихся содержанием органического вещества. Первый образец был отобран из горизонта B_1 профиля почвы NSM-10-15P1 и представлен минеральным материалом. Второй образец был отобран из верхнего горизонта, так называемой каменной мостовой – GP/B_{algae}, разреза NSM-10-06. Третий образец отобран из-под мохового покрова *Ceratodon purpureus*, профиль NSM-10-04, и представляет собой горизонт B_{algae} с включениями органогенного материала – биопленками одноклеточных водорослей (табл. 1).

Из оазиса Холмы Бангера было проанализированы 12 образцов, отобранных из 6 профилей антарктических почв (табл. 1).

Для исследования таксономического разнообразия с помощью высокопроизводительного секвенирования были отобраны 2 образца из горизонтов AT и AB почвенного профиля BB-63-58, на поверхности которого было обнаружено развитие мохового покрова.

С момента отбора и до начала исследований образцы хранили в морозильной камере при температуре –18°C.

Выделение фильтрующихся форм прокариот (ФФП). Водную почвенную суспензию (1 : 100) обрабатывали ультразвуком на диспергаторе УЗДН-1 (ИНЛАБ, Россия) в течение 2 мин в режиме 0.44 А, 15 Гц для отделения клеток бактерий от почвенных частиц (Методы почвенной биохимии и микробиологии, 1991) и фильтровали через ядерные мембранные фильтры (GP Millipore Express PLUS Membrane) с размерами пор 0.22 мкм. Для концентрации клеток фильтрат центрифугировали (10 мин, 10000 *g*). Осажденные клетки использовали для выделения тотальной ДНК, а также высевали на плотные питательные среды для выделения культивируемых ФФП.

Определение общей численности бактерий и численности ФФП проводили с помощью прямого люминесцентно-микроскопического метода с применением красителя акридина оранжевого (Методы почвенной биохимии и микробиологии, 1991). Учет численности прокариотных клеток проводили с использованием люминесцентного микроскопа ZEISS Axioscope 2+ (“Carl Zeiss”, Германия).

Выделение и идентификация культивируемых ФФП. Сконцентрированный после центрифугирования осадок, содержащий клетки ФФП, высевали на различные по составу питательные среды: глюкозо-пептон-дрожжевую и крахмало-аммиачную среды (Лысак и соавт., 2003), Luria-Bertani agar (LA), Brain heart infusion (BHI), Nutrient agar (“Difco”, США), Eugonic agar, Marine agar, R-2A, Tryptone soya agar (TSA) (“HIMEDIA”, Индия), Yeast extract agar (“Merk”, Германия). Среды BHI и TSA также использовали в десяти- и стократном разведении. Клетки растили при температурах 20 и 28°C в течение 1–2 мес. Идентификацию выделенных изолятов ФФП проводили на основе анализа последовательностей генов 16S рРНК.

Выделение и анализ ДНК. Тотальную ДНК выделяли из образцов почв и осадка фракции ФФП с помощью набора реактивов PowerSoil DNA Isolation Kit (“MO BIO”), следуя инструкции производителя. Геномную ДНК из бактериальных клеток выделяли с помощью набора GeneJET Genomic DNA Purification Kit (“Thermo Scientific”), следуя рекомендациям производителя. ДНК клонов при анализе библиотек генов 16S рРНК ФФП выделяли с помощью Экспресс-метода (Barlow et al., 2004). Все пробы ДНК анализировали в агарозном геле (Agarose low EEO, “AppliChem”) с добавлением бромистого этидия (Sambrook et al., 1989), используя 0.9% гель при анализе препаратов ДНК и ПЦР-продуктов и 2% гель при рестрикционном анализе клональных библиотек.

Амплификация и анализ генов 16S рРНК. Для проведения амплификации фрагментов генов 16S рРНК использовали праймеры 63F и 1387R (Lane, 1991). ПЦР проводили в режиме: 95°C – 4 мин; затем: 95°C – 1 мин; 55°C – 1 мин; 72°C – 1 мин 30 с; 30 циклов; 72°C – 5 мин. ПЦР-продукты очищали на колонках с помощью готового набора GeneJET PCR Purification Kit (“Thermo Scientific”). Секвенирование очищенных фрагментов ДНК проводили на автоматическом секвенаторе в ЦКП “Геном” (Институт молекулярной биологии РАН). Нуклеотидные последовательности генов 16S рРНК анализировали с использованием онлайн программ BLAST (Altschul et al., 1990). Филогенетическое положение определяли, используя данные генбанка NCBI (ncbi.nlm.nih.gov).

Получение и анализ клональных библиотек генов 16S рРНК. С помощью этого метода проводили изучение филогенетического разнообразия фракции ФФП. ПЦР-фрагменты генов 16S рРНК, полученные при амплификации тотальной ДНК, выделенной из фракций ФФП, клонировали с помощью набора CloneJET PCR (“Thermo Scientific”). Полученными конструкциями трансформировали компетентные клетки *Escherichia coli* (штамм DH5α). Из каждого образца отбирали 150–200 клонов. Образцы ДНК каждого клона, полученные с помощью Экспресс-метода, использовали для получения ПЦР-продукта со стандартными праймерами 537F и 1100R (Lane, 1991). ПЦР-продукты переосаждали 0.125 М ацетатом аммония в 70% спирте (Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование, 1984) и обрабатывали рестриктазами AspLE I (500 U), BspFN I (500 U) и Rsa I (1000 U) в условиях, указанных производителем (“СибЭнзим”, Россия). Продукты рестрикции визуализировали с помощью электрофореза. На основе анализа профилей рестрикции полученные клоны разбивали на OTE. Один–два репрезентативных клона из каждой группы были выбраны для дальнейшего секвенирования участка гена 16S рРНК.

Высокопроизводительное секвенирование участка гена 16S рРНК. С помощью этого метода проводили изучение структуры микробных сообществ в исследуемых образцах. Подготовку ДНК-библиотек для секвенирования осуществляли с использованием технологии двустадийной ПЦР. На первом этапе производили амплификацию гипервариабельного V3–V4 участка гена 16S рРНК с

Таблица 1. Описание исследуемых почв, общая численность бактерий и ФФП, удельное содержание ФПП

Место отбора	Профиль (почвенный разрез)	Горизонт, глубина в см	C	N	Общая численность клеток бактерий, млн. кл./г почвы	Численность ФФП, млн. кл./г почвы	Удельное содержание ФФП, %
			%				
Почвы из оазиса Холмы Ларсеманн							
Почвы с гиполитными органогенными горизонтами GP/B_{algae}							
Днище влажной долины с криогенными полигонами	NSM-10-15P1	B_1, 2–10	0.14	0.03	180 ± 20	150 ± 15	83
Днище влажной долины, микрозападина	NSM-10-06	GP/B_{algae}, 0–2	0.12	0.02	290 ± 20	260 ± 20	90
Почвы с поверхностными органогенными горизонтами $O_{algae\text{-}bact}$ (альго-бактериальные маты)							
Днище влажной долины, выполненное элюво-делювием гранитоидов, полигональный микрорельеф	NSM 10-04	B_{algae}, 1–2	0.41	0.05	419 ± 83	86 ± 13	20
Почвы из оазиса Холмы Бангера							
о. Геологов, хлорид-сульфатное “морское” засоление, “амфибиальная” почва с поверхностным альго-бактериальным органогенным горизонтом	BB-63-27	0–1	0.39	0.02	914 ± 387	62 ± 9	6
Морены выводного ледника Эдисто, фрагментарно хлорид-сульфатное “морское” засоление, небольшие понижения с моховыми покровами и альго-бактериальными матами	BB-63-29	0–2	1.12	0.12-	556 ± 255	43 ± 8	8
		0–1 (дно водоема)	–	–	445 ± 221	68 ± 12	15
Центральная часть оазиса, влажная долина, карбонатное “континентальное” засоление, обилие содовых корок почва без органогенного горизонта	BB-63-42	S, 0–1	0.18	0.01	301 ± 184	35 ± 16	12
		B_1, 2–4	0.09	0.01	511 ± 211	120 ± 13	23
Центральная часть оазиса, высокое моренное плато, карбонатное “континентальное” засоление, фрагментарно поверхностные содовые корки, “криометаморфическая” почва без органогенного горизонта	BB-63-48	0–5	0.21	0	561 ± 248	53 ± 9	9
		10–15	0.13	0.03	437 ± 204	100 ± 15	23
		40–45	0.04	0	224 ± 54	43 ± 9	19
Южная часть оазиса, утес Заповедный, карбонатное “континентальное” засоление, ветровое убежище, литозем перегнойный	BB-63-52	AT, 5–7 (10)	4.04	0.4	567 ± 240	92 ± 11	16
		B(f), 7 (10) –17	–	–	281 ± 72	63 ± 11	22
Южная часть оазиса, утес Заповедный, карбонатное “континентальное” засоление, ветровое убежище, литозем перегнойный	BB-63-58	AT, 0–2	3.23	0.32	1175 ± 648	44 ± 9	4
		AB, 10–15	6.6	0.62	677 ± 266	122 ± 17	18

Примечание. “–” – не определяли.

использованием праймеров Pro341F и Pro806R (Takahashi et al., 2014). На втором этапе производили амплификацию ПЦР полученного продукта с целью баркодирования библиотеки. Анализ ДНК-библиотек проводили методом парно-концевого чтения (2 × 300 п.о.) генерацией не менее 10000 парных прочтений на образец на приборе Illumina MiSeq (лаборатория BioSpark). Обработку данных секвенирования проведили с использованием автоматизированного алгоритма QIIME (Caporaso et al., 2010). Для разбиения последовательностей на операционные таксономические единицы (OTE) использовали алгоритм с открытым референсным порогом классификации 97%. Выравнивание прочтений на последовательность 16S рРНК и распределение последовательностей по таксономическим единицам проводили с использованием базы данных Silva версии 132 (Pruesse et al., 2007).

Для оценки разнообразия бактериальных антарктических сообществ использовали индексы, рассчитанные на основе числа сиквенсов. Для оценки альфа-разнообразия использовали индексы Шеннона ($H = \sum_{i=1}^{s} P_i \log P_i$, где P_i – доля i-го вида в сообществе, S – число обнаруженных таксонов, в качестве основания логарифма брали число 2) и CHAO1 ($Chao1 = S_{obs} + a^2/2b$, где S_{obs} – число обнаруженных OTE, a – число OTE, содержащих 1 сиквенс, b – число OTE, содержащих 2 сиквенса) (Чернов и соавт., 2015).

Последовательности генов 16S рРНК, полученные с помощью высокопроизводительного секвенирования, были импортированы в NCBI Sequence Read Archive и доступны под регистрационным номером PRJNA609617.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общая численность бактерий, определенная с помощью прямого люминесцентного метода в образцах из оазиса Холмы Ларсеманн, составила в образце B_1 – 180 млн. клеток на 1 г почвы, в образце каменной мостовой (GP) – 290 млн. клеток на 1 г почвы и в образце с пленками водорослей (B_{algae}) – 419 млн. клеток на 1 г почвы (табл. 1).

Общая численность бактерий в образцах из оазиса Холмы Бангера колебалась от 224 до 1175 млн. клеток в 1 г почвы (табл. 1). В поверхностных горизонтах наблюдалась большая численность бактерий, чем в нижележащих горизонтах. Максимальная численность отмечалась в горизонтах из-под мохового покрова, минимальная – в образцах из-под содовых корок и в минеральном горизонте криометаморфической почвы.

Следует отметить, что, в целом, показатели общей численности бактерий в исследованных образцах антарктических почв были схожи между собой и при этом на 1–2 порядка ниже значений, которые обычно регистрируются в почвах умеренных широт (Фомичева и соавт., 2006; Головченко и соавт., 2007).

Из исследуемых образцов была выделена фракция ФФП, и проведена оценка численности и относительного содержания фильтрующихся клеток в микробном сообществе. В образцах из оазиса Холмы Ларсеманн численность ФФП варьировала от 86 до 260 млн. клеток в 1 г почвы, относительное содержание ФФП от общей численности клеток бактерий составило 20–90% (табл. 1). Численность ФФП в образцах из оазиса Холмы Бангера была такой же – от 35 до 122 млн. клеток в 1 г почвы, а относительное содержание ФФП варьировало от 4 до 23% и в среднем было немного ниже, чем в образцах из оазиса Холмы Ларсеманн (табл. 1). Наибольшие показатели численности и содержания ФФП наблюдались в образцах из минеральных и из нижележащих горизонтов. Таким образом, значительная часть микробного сообщества почв оазисов Антарктиды представлена мелкими фильтрующимися формами прокариот.

Таксономическая структура бактериальных сообществ была определена с помощью метода высокопроизводительного секвенирования. Во всех трех образцах почв из оазиса Холмы Ларсеманн были выявлены представители следующих филумов: *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Patescibacteria*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia* (рис. 1а). В образце B_1 доминировали филумы: *Actinobacteria* (37%), *Proteobacteria* (22%), *Chloroflexi* (10%); в образце GP – *Proteobacteria* (36%), *Actinobacteria* (24%), *Bacteroidetes* (15%); в образце B_{algae} – *Bacteroidetes* (44%), *Acidobacteria* (26%), *Proteobacteria* (12%).

В двух образцах из оазиса Холмы Бангера AT и AB, взятых из одного профиля BB-63-58, были обнаружены филумы: *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Armatimonadetes*, *Bacteroidetes*, *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*. В горизонте AT доминировали *Chloroflexi* (31%), *Proteobacteria* (18%), *Acidobacteria* (16%); в горизонте AB – *Proteobacteria* (23%), *Acidobacteria* (18%), *Chloroflexi* (16%) (рис. 1б). Таксономическое разнообразие бактериальных сообществ в исследованных образцах почв из одного профиля было сходным, однако соотношение доминирующих филумов немного отличалось. Одним из самых распространенных и обильных филумов был филум *Proteobacteria*, его представители входили в доминантную группу и были обнаружены во всех образцах.

Таким образом, в ходе проведенного исследования в составе микробных сообществ почв оазисов Антарктиды были выявлены филогенетиче-

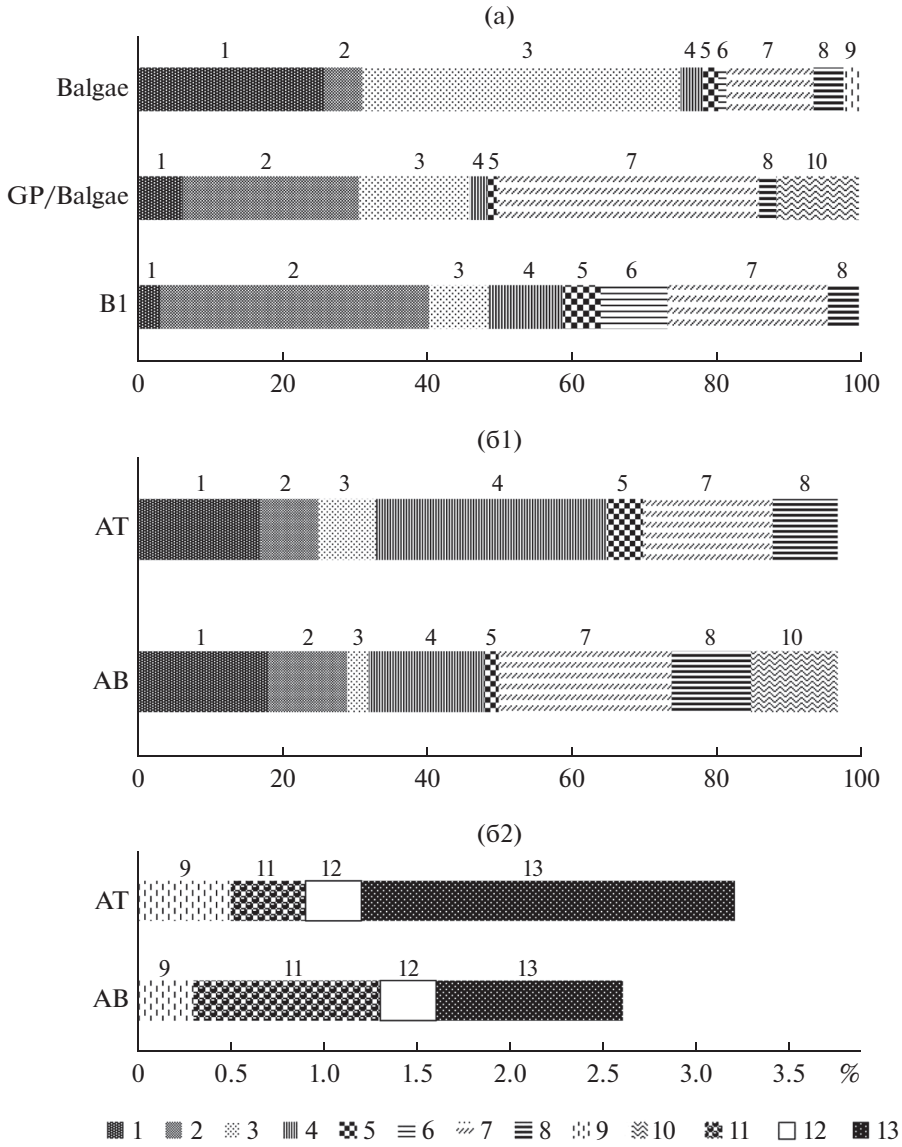

Рис. 1. Таксономическая структура бактериальных комплексов в образцах почв (а) из оазиса Холмы Ларсеманн (B_{algae} – органоминеральный водорослевой горизонт в песчаной подушке; GP/B_{algae} – песчаная подушка под каменной мостовой со скоплениями одноклеточных зеленых водорослей и цианобактерий; B_1 – минеральный горизонт) и (б) из оазиса Холмы Бангера (АТ – верхний органогенный горизонт под моховым покровом; АВ – переходный горизонт от органогенному к минеральному): (б.1) мажорные группы и (б.2) минорные группы (доля филумов содержание которых <2%). Доля представителей филогенетических групп указана в % от общего число ОТЕ, обнаруженных в каждом образце: 1 – *Acidobacteria*; 2 – *Actinobacteria*; 3 – *Armatimonadetes; 4 – Bacteroidetes*; 5 – *Chlorobi*; 6 – *Chloroflexi*; 7 – *Cyanobacteria*; 8 – *Firmicutes*; 9 – *Gemmatimonadetes*; 10 – *Patescibacteria*; 11 – *Planctomycetes*; 12 – *Proteobacteria*; 13 – *Verrucomicrobia*.

ские группы, которые и ранее обнаруживались в антарктических почвах, но соотношение доминирующих в них филумов оказалось иным. В образцах из Сухих долин Мак-Мердо преобладал филум *Actinobacteria* (Van Goethem et al., 2016), тогда как в исследованных образцах кроме филума *Actinobacteria* в группу доминантов входили филумы *Proteobacteria*, *Chloroflexi*, *Bacteroidetes*. Сходный состав бактериального сообщества наблюдался в других оазисах Восточной Антарктиды, Холмах Вестфолд, где также доминировали филумы *Actinobacteria*, *Proteobacteria* и *Bacteroidetes* (Zhang et al., 2020).

При оценке таксономического разнообразия на уровне родов в почвах из оазиса Холмы Ларсеманн оказалось, что доминирующие рода, доля каждого из которых в образце превышает 10%, были представлены следующими родами: *Aquamicrobium*, *Blastocatella*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Sediminibacterium*, *Spirosoma*, *Tumebacillus*. Самыми

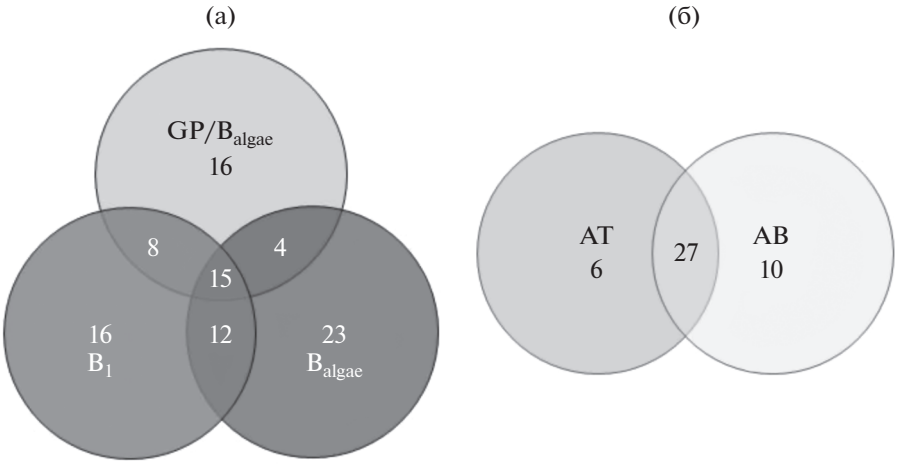

Рис. 2. Диаграмма Венна, представляющая различия в бактериальном разнообразии на уровне классифицированных родов между разными почвами (а) оазиса Холмы Ларсеманн и (б) двумя горизонтами почвы из оазиса Холмы Бангера. Обозначение образцов как на рис. 1. Цифрами в каждом круге указано число уникальных родов, в пересечениях – число общих родов.

разнообразными были группы среднего обилия (0.1–1%) и минорные компоненты (<0.1%). Сравнение всех трех образцов по таксономическому разнообразию на родовом уровне показало, что во всех трех образцах почв оазиса Холмы Ларсеманн встречаются представители 15 родов бактерий: *Acidiphilium*, *Arthrobacter*, *Blastocatella*, *Bradyrhizobium*, *Ferruginibacter*, *Gemmatirosa*, *Lamia*, *Mucilaginibacter*, *Nitrospira*, *Parafilimonas*, *Phenylobacterium*, *Segetibacter*, *Singulisphaera*, *Sphingomonas*, *Tepidisphaera*. Наибольшим сходством обладали образцы B_1 и B_{algae}, в этих горизонтах выявлено 12 общих родов (рис. 2а). В горизонте B_1 процент некультивируемых бактерий составил 53.4, в горизонте GP/B_{algae} 22.4, в горизонте B_{algae} 23.6.

В почвах оазиса Холмы Бангера не обнаружилось рода, доля которого в образце превысила бы 10%, что свидетельствует о большей выравненности (относительное обилие таксонов) сообщества в этих почвах по сравнению с почвами из оазиса Холмы Ларсеманн. Наиболее широко были представлены группа среднего обилия и минорные компоненты. В горизонте AT были определены представители 33 классифицированных родов, в горизонте AB – 37. Образцы из этих горизонтов очень схожи; так между этими горизонтами выявлено 27 общих родов (рис. 2б). В горизонте AT процент некультивированных бактерий из различных филумов составил 62.2%, а в горизонте AB – 65.4%, что несколько больше, чем в образцах из оазиса Холмы Ларсеманн.

Во всех образцах, взятых из обоих оазисов, встречались представители четырех родов: *Acidiphilium*, *Bradyrhizobium*, *Ferruginibacter*, *Sphingomonas*.

На основе данных, полученных с помощью высокопроизводительного секвенирования, были подсчитаны индексы разнообразия Шеннона и Chao 1. Наибольший индекс Chao 1, оценивающий реальное количество таксонов в образце, наблюдался для образцов из оазиса Холмы Бангера (табл. 2). Индекс Шеннона не сильно отличался от образца к образцу, его значение колебалось от 4.6 до 6.5. Согласно этому индексу, большим разнообразием также отличались образцы из оазиса Холмы Бангера. Самые низкие показатели разнообразия оказались у образца каменной мостовой – GP/B_{algae}, из оазиса Холмы Ларсеманн (табл. 2).

Полученные данные свидетельствуют о том, что бактериальные сообщества антарктических почв достаточно разнообразны, несмотря на относительно низкую численность бактерий, определенную прямым люминесцентным методом. Поскольку доминирующие группы во всех пяти образцах различаются, это дает возможность предположить, что доминирование тех или иных филумов зависит от физико-химических факторов (влажности и содержания органического вещества), а также от типа биотопа, складывающегося на поверхности почвы (наличие разрастаний водорослей, мхов, формирование цианобактериальных матов).

Для выявления таксономического разнообразия ФФП в почвах Антарктиды были получены и проанализированы библиотеки генов 16S рРНК из трех образцов почв оазиса Холмы Ларсеманн. На основании сходства рестрикционных паттернов генов 16S рРНК во фракции ФФП было обнаружено 9 OTE, причем все они относились к филуму *Proteobacteria*. С помощью использованного метода нам не удалось обнаружить во фракции

Таблица 2. Индексы микробного разнообразия

Оазис	Профиль, №	Горизонты	Число ОТЕ	Индексы α-разнообразия	
				Шеннона	Chao1
Холмы Ларсеманн	NSM-10-15P1	B_1	104	5.15	128.5
	NSM-10-06	GP/B_{algae}	89	4.65	91.0
	NSM 10-04	B_{algae}	100	5.13	101.4
Холмы Бангера	BB-63-58	AT	103	6.54	172.5
		AB	81	6.46	135.3

Таблица 3. Анализ библиотек генов 16S рРНК из образцов почв оазиса Холмы Ларсеманн (содержание каждого ОТЕ в % от всех обнаруженных клонов в образце)

Ближайший штамм или клон	Образцы		
	B_1 (10-15P1), %	GP/B_{algae} (10-06), %	B_{algae} (NSM 10-04), %
Deltaproteobacteria			
Uncult. clone CCSD RK730 B2	78.9	61.5	33.3
Alphaproteobacteria			
Sphingomonas echinoides	10.5	19.2	33.3
Reyranella (*soli/massiliensis*)	–	3.8	8.3
Uncult. Bact. Clone MVT-B2T 371-387	–	3.8	–
Betaproteobacteria			
Variovorax (*paradoxus/boronicumulans*)	5.3	–	16.6
Comamonas (*jiangduensis/aquatica*)	5.3	3.8	–
Cupriavidus metallidurans	–	3.8	–
Gammaproteobacteria			
Pseudomonas japonica	–	3.8	–
Xhantomonas sp.	–	–	8.3
Количество клонов в библиотеке	**19 (100%)**	**26 (100%)**	**12 (100%)**

Примечание. “–” – не обнаружено.

ФФП представителей других филумов, что, возможно, связано с трудностью выделения из них ДНК.

Последовательность гена 16S рРНК самой распространенной во всех трех библиотеках ОТЕ (61.4% всех клонов) имела наибольшее сходство (99%) с бактериальным клоном, близким к бактериям из класса *Deltaproteobacteria* (табл. 3). Такой клон был обнаружен при оценке бактериального разнообразия горных пород и подземных вод в уезде Дунхай (Китай). Также во фракции ФФП были обнаружены 3 доминирующих ОТЕ, относящихся к филуму *Alphaproteobacteria*, причем одна из них, близкая к виду *Sphingomonas echinoides*, была обнаружена во всех трех исследуемых образцах. В образцах GP/B_{algae} и B_{algae} одна из ОТЕ имела наибольшее сходство с бактериями родов *Reyranella*. Образец GP/B_{algae} содержал ОТЕ, сходную с бактериальным клоном MVT-B2T 371-387, обнаруженным в минеральной почве с останками мумифицированного тюленя в Восточной Антарктике. Класс *Betaproteobacteria* (3 ОТЕ) был представлен родами *Variovorax*, *Comamonas* и *Cupriavidus*, в том числе видом *C. metallidurans*. Штаммы, относящиеся к этому виду, отличаются способностью адаптироваться к высоким концентрациям тяжелых металлов (Monchy et al., 2007), что может быть необходимым для обитания в почвах, сформированных на горных породах. В образце B_1 среди ФФП не были обнаружены представители

Gammaproteobacteria, а в двух других образцах обнаружено по одной ОТЕ этого класса, относящихся к родам *Pseudomonas* и *Xhantomonas* (табл. 3).

Исследование пула ФФП из почв оазиса Холмы Ларсеманн молекулярно-генетическим методом выявило присутствие в образцах бактерий, относящихся только к филуму *Proteobacteria*, хотя ранее подобные мелкие покоящиеся формы были обнаружены только в культурах мерзлотного штамма *Arthrobacter oxydans* (Кряжевских и соавт., 2013). Ультрамелкие клетки (<0.22 мкм) данного штамма были сходны по строению с фильтрующимися формами, выделяющимися из различных почв (Соина и соавт., 2012).

Доминирующая группа клонов из фракции ФФП не имела высокого генетического сходства с каким-либо известным видом бактерий. Это дает возможность предположить, что во фракции ФФП обнаруживаются клетки, относящиеся к новым видам бактерий, возможно, являющимися ультрамикробактериями.

При поверхностном культивировании почвенного фильтрата на различных бактериальных средах колонии развивались только на средах TSA и BHI, разведенных в 10 раз, а также на средах LA и R-2A. Всего изолировано в чистую культуру 15 штаммов бактерий, которые были идентифицированы с помощью секвенирования участка гена 16S рРНК (табл. 4). Размер полученных последовательностей составлял 1000–1500 пар нуклеотидов. Большинство из них были отнесены к филуму *Actinobacteria*. Последовательности генов 16S рРНК нескольких штаммов, например, *Rufibacter* sp. и *Deinococcus* sp., имели низкое сходство с ближайшими видами: 96 и 92% соответственно, это позволяет предположить, что изоляты могут быть новыми видами бактерий. Следует отметить, что, несмотря на то, что все ОТЕ, обнаруженные во фракции ФФП, относились к филуму *Proteobacteria*, при культивировании почвенного фильтрата представителей протеобактерий было выделено мало. Это может быть связано с целым рядом причин. Во-первых, самая распространенная во всех трех библиотеках ОТЕ относилась к некультивируемым клонам, которые просто невозможно вырастить при использованных условиях культивирования. Неподходящие условия роста были и для ряда потенциально культивируемых протеобактерий. Во-вторых, возможно, что для клеток протеобактерий, находящихся в покоящейся форме, необходимо проведение специальных процедур для их реактивации.

Таким образом, в исследованных образцах почв из оазисов Восточной Антарктиды обнаружены разнообразные по таксономическому составу микробные сообщества, различающиеся доминирующими филумами и родами бактерий. Это дает возможность предположить, что на формирование почвенных микробных сообществ Антарктиды, главным образом влияет тип биотопа, складывающегося на поверхности почвы, а также сочетание различных физико-химических факторов. Исследованные образцы существенно отличались по структуре микробных сообществ от почв Сухих долин Мак-Мердо, что подтверждает ранее сделанное предположение (Van Goethem et al., 2016) о существенном влиянии показателей влажности на формирование почвенных микробиоценозов в Антарктиде. Самые высокие показатели разнообразия были рассчитаны для почв из оазиса Холмы Бангера. Менее разнообразным оказался образец каменой мостовой из оазиса Холмы Ларсеманн.

Во всех исследованных образцах были обнаружены фильтрующиеся клетки бактерий. Исходя из данных о высокой численности, содержании и таксономическом составе ФФП в исследуемых образцах, можно говорить об их значительном вкладе в стабильность бактериального сообщества антарктических почв. Фракция ФФП представлена в основном покоящимися клетками бактерий, способными ревертировать к активному росту при благоприятных условиях. По-видимому, быстрый переход при неблагоприятных условиях вегетирующей части популяции бактерий в мелкие покоящиеся формы является одной из стратегий их выживания в экстремальных условиях. Также во фракции ФФП обнаружены клетки, относящиеся к новым видам бактерий, возможно ультрамикробактериям.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы статьи выражают глубокую признательность д. б. н. Г.И. Эль-Регистан и д. б. н. В.А. Щербаковой за интерес к данному исследованию и сделанные ими ценные замечания и поправки.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ по научному проекту № 18-34-00658. Отбор образцов выполнен в рамках темы Государственного задания № 0148-2019-0006 (Институт географии РАН) при логистической поддержке Российской антарктической экспедиции.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов исследований с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Таблица 4. Культивируемые штаммы ФФП, выделенные из почв оазиса Холмы Ларсеманн

Образец	Филум	Род/вид бактерий, имеющих наибольшее сходство с изолированными штаммами (номер в генбанке NCBI)		Сходство, %	Среда	Температура, °C
B_{algae}	*Actinobacteria*	*Blastococcus saxobsidens* (NR_025482.1)		99	TSA*:10	20
		Microbacterium pumilum (NR_041331.1)		99	TSA:10	20
		Williamsia	*marianensis* (NR_043263.1)	99	TSA:10	20
			muralis (NR_037083.1)	99		
		Yonghaparkia alkaliphila (NR_043675.1)		99	TSA:10	20
	Proteobacteria	*Acinetobacter johnsonii* (NR_117624.1)		99	LA**	20
		Psychrobacter glanicola (NR_042076.1)		99	BHI***	20
GP/B_{algae}	*Bacteroidetes*	*Rufibacter*	*tibetensis* (NR_116350.1)	96	BHI:10	20
			quisquiliarum (NR_153696.1)	95		
B_1	*Actinobacteria*	*Brachybacterium nesterenkovii* (NR_026270.1)		98	BHI:10	28
		Micrococcus endophyticus (NR_044365.1)		98	BHI:10	20
		Micrococcus flavus (NR_043881.1)		99	BHI:10	28
		Rhodococcus	*cercidiphylli* (NR_116275.1)	99	BHI:10	20
			fascians (NR_119126.1)	99		
	Deinococcus-Thermus	*Deinococcus*	*xinjiangensis* (NR_044542.1)	92	BHI:10	28
			ficus (NR_043282.1)	91		
		Deinococcus taklimakanensis (NR_159153.1)		99	BHI:10	20
	Firmicutes	*Bacillus simplex* (NR_042136.1)		99	R-2A	20
	Proteobacteria	*Devosia*	*yakushimensis* (NR_114252.1)	97	BHI:10	28
			chinhatensis (NR_044214.1)	97		
			insulae (NR_044036.1)	97		

Примечание. *TSA – Tryptone Soya Agar; **LA – Luria-Bertani Agar; ***BHI – Brain heart infusion.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Абрамов А.А., Миронов В.А., Лупачев А.В., Федоров-Давыдов Д.Г., Горячкин С.В., Мергелов Н.С., Иващенко А.И., Лукин В.В., Гиличинский Д.А. Геокриологические условия антарктических оазисов // Полярная криосфера и воды суши. Вклад России в Международный полярный год 2007/2008 / Под ред.Котлякова В.М. СПб.: Paulsen Editions, 2011. С. 233–244.

Вайнштейн М.Б., Кудряшова Е.Б. О нанобактериях // Микробиология. 2000. Т. 69. С. 163–179.

Vainshtein M.B., Kudryashova E.B. About nannobacteria // Microbiology (Moscow). 2000. V. 69. P. 129–138.

Головченко А.В., Тихонова Е.Ю., Звягинцев Д.Г. Численность, биомасса, структура и активность микробных комплексов низинных и верховых торфяников // Микробиология. 2007. Т. 76. С. 711–719.

Golovchenko A.V., Tikhonova E.Yu., Zvyagintsev D.G. Abundance, biomass, structure, and activity of the microbial complexes of minerotrophic and ombrotrophic peatlands // Microbiology (Moscow). 2007. V. 76. P. 630–637.

Дуда В.И., Сузина Н.Е., Поливцева В.Н., Боронин А.М. Ультрамикробактерии: становление концепции и вклад ультрамикробактерий в биологию // Микробиология. 2012. Т. 81. С. 415–427.

Duda V.I., Suzina N.E., Polivtseva V.N., Boronin A.M. Ultramicrobacteria: Formation of the concept and contribution of ultramicrobacteria to biology // Microbiology (Moscow). 2012. V. 81. P. 379–390.

Кряжевских Н.А., Демкина Е.В., Лойко Н.Г., Баслеров Р.В., Колганова Т.В., Соина В.С., Манучарова Н.А., Гальченко В.Ф., Эль-Регистан Г.И. Сравнение адаптационного потенциала изолятов из вечномерзлых осадочных пород *Arthrobacter oxydans* и *Acinetobacter lwoffii* и их коллекционных аналогов // Микробиология. 2013. Т. 82. С. 27–41.

Kryazhevskikh N.A., Demkina E.V., Loiko N.G., Gal'chenko V.F., El'-Registan G.I., Baslerov R.V., Kolganova T.V., Soina V.S., Manucharova N.A. Comparison of the adaptive potential of the *Arthrobacter oxydans* and *Acinetobacter lwoffii* isolates from permafrost sedimentary rock and the analogous collection strains // Microbiology (Moscow). 2013. V. 82. P. 29–42.

Кудинова А.Г., Лысак Л.В., Соина В.С., Мергелов Н.С., Долгих А.В., Шоркунов И.Г. Бактериальные сообщества в почвах криптогамных пустошей Восточной Антарктиды (оазисы Ларсеманн и Холмы Тала) // Почвоведение. 2015. № 3. С. 317–329.

Kudinova A.G., Lysak L.V., Soina V.S., Mergelov N.S., Dolgikh A.V., Shorkunov I.G. Bacterial communities in the soils of cryptogamic barrens of East Antarctica (the Larsemann Hills and Thala Hills oases) // Euras. Soil Sci. (Moscow). 2015. V. 48. P. 276–287.

Лысак Л.В., Скворцова И.Н., Добровольская Т.Г. Методы оценки бактериального разнообразия почв и идентификации почвенных бактерий. М.: МАКС Пресс, 2003. 120 с.

Мергелов Н.С. Почвы влажных долин в оазисах Ларсеманн и Вестфолль (Земля принцессы Елизаветы, Восточная Антарктида) // Почвоведение. 2014. № 9. С. 1027–1045.

Mergelov N.S. Soils of wet valleys in the Larsemann Hills and Vestfold Hills oases (Princess Elizabeth Land, East Antarctica) // Euras. Soil Sci. (Moscow). 2014. V. 47. P. 845–862.

Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. Пер. с англ. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. М.: Мир, 1984. 480 с.

Методы почвенной биохимии и микробиологии. Ред. Звягинцев Д.Г. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1991. 304 с.

Соина В.С., Лысак Л.В., Конова И.А., Лапыгина Е.В., Звягинцев Д.Г. Электронно-микроскопическое исследование ультрамикробактерий в почвах и подпочвенных отложениях // Почвоведение. 2012. № 11. С. 1188–1199.

Soina V.S., Lysak L.V., Konova I.A., Lapygina E.V., Zvyagintsev D.G. Study of ultramicrobacteria (Nanoforms) in soils and subsoil deposits by electron microscopy // Euras. Soil Sci. (Moscow). 2012. V. 45. P. 1048–1056.

Сузина Н.Е., Есикова Т.З., Олейников Р.Р., Гафаров А.Б., Шорохова А.П., Поливцева В.Н., Росс Д.В., Абашина Т.Н., Дуда В.И., Боронин А.М. Сравнительная характеристика свободноживущих ультрамелких бактерий, выделенных из природных биотопов // Прикл. биохимия и микробиология. 2015. Т. 51. С. 151–160.

Suzina N.E., Esikova T.Z., Oleinikov R.R., Gafarov B., Shorokhov A.P., Polivtseva V.N., Ross D.V., Abashina T.N., Duda V.I., Boronin A.M. Comparative characteristics of free-living ultramicroscopical bacteria obtained from natural biotopes // Appl. Biochem. Microbiol. 2015. V. 51. № 2. P. 159–168.

Фомичева О.А., Полянская Л.М., Никонов В.В., Лукина Н.В., Орлова М.А., Исаева Л.Г., Звягинцев Д.Г. Численность и биомасса почвенных микроорганизмов в коренных старовозрастных северо-таежных еловых лесах // Почвоведение. 2006. № 12. С. 1469–1478.

Fomicheva O.A., Polyanskaya L.M., Zvyagintsev D.G., Nikonov V.V., Lukina N.V., Orlova M.A., Isaeva L.G. Population and biomass of soil microorganisms in old-growth primary spruce forests in the Northern Taiga // Euras. Soil Sci. (Moscow). 2006. V. 39. P. 1323–1331.

Чернов Т.И., Тхакахова А.К., Кутовая О.В. Оценка различных индексов разнообразия для характеристики почвенного прокариотного сообщества по данным метагеномного анализа // Почвоведение. 2015. № 4. С. 462–468.

Chernov T.I., Tkhakakhova A.K., Kutovaya O.V. Assessment of diversity indices for the characterization of the soil prokaryotic community by metagenomic analysis // Euras. Soil Sci. (Moscow). 2015. V. 48. P. 410–415.

Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E. W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool // J. Mol. Biol. 1990. V. 215. P. 403–410.

Barlow R.S., Pemberton J.M., Desmarchelier P.M., Gobius K.S. Isolation and characterization of integron-containing bacteria without antibiotic selection // Antimicrob. Agents Chemother. 2004. V. 48. P. 838–842.

Caporaso J.G., Kuczynski J., Stombaugh J., Bittinger K., Bushman F.D., Costello E.K., Fierer N., Peña A.G., Goodrich J.K., Gordon J.I., Huttley G.A., Kelley S.T., Knights D., Koenig J.E., Ley R.E., Lozupone C.A., McDonald D., Muegge B.D., Pirrung M., Reeder J., Sevinsky J.R., Turnbaugh P.J., Walters W.A., Widmann J., Yatsunenko T., Zaneveld J., Knight R. QIIME allows analysis of high throughput com-

munity sequencing data // Nature Methods. 2010. V. 7. P. 335–336.

Cowan D.A. Makhalanyane T.P., Dennis P.G., Hopkins D.W. Microbial ecology and biogeochemistry of continental Antarctic soils // Front. Microbiol. 2014. V. 5. Art. 154.

Lane D.J. 16S/23S rRNA sequencing // Nucleic acid techniques in bacterial systematics / Eds. Stackebrandt E. and Goodfellow M. N.Y.: John Wiley & Sons, 1991. P. 125–175.

Le P.T., Makhalanyane T.P., Guerrero L.D., Vikram S., Van de Peer Y., Cowan D.A. Comparative metagenomic analysis reveals mechanisms for stress responsein hypoliths from extreme hyperarid deserts // Genome Biol. Evol. 2016. V. 8. P. 2737–2747.

Monchy S., Benotmane M.A., Janssen P., Vallaeys T., Taghavi S., van der Lelie D., Mergeay M. Plasmids pMOL28 and pMOL30 of *Cupriavidus metallidurans* are specialized in the maximal viable response to heavy metals // J. Bacteriol. 2007. V. 189. P. 7417–7425.

Pruesse E., Quast C., Knittel K., Fuchs B. M., Ludwig W., Peplies J., Glöckner F. O. SILVA: a comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB // Nucleic Acids Res. 2007. V. 35. P. 7188–7196.

Sambrook J., Edward E.F., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. N.Y.: Cold Spring Habour Laboratory, Ithaca, 1989. 2nd edn. 479 p.

Soina V.S., Vorobiova E.A., Zvyagintsev D.G., Gilichinsky D.A. Preservation of cell structure in permafrost: a model for exobiology // Adv. Space Res. 1995. V. 15. P. 237–242.

Takahashi S., Tomita J., Nishioka K., Hisada T., Nishijima M. Development of a prokaryotic universal primer for simultaneous analysis of bacteria and archaea using next-generation sequencing // PloS One. 2014. V. 9. Art. e105592.

Van Goethem M.W., Makhalanyane T.P., Valverde A., Cary S.C., Cowan D.A. Characterization of bacterial communities in lithobionts and soil niches from Victoria Valley, Antarctica // FEMS Microbiol. Ecol. 2016. V. 92. Art. fiw051.

Wang N.F., Zhang T., Zhang F., Wang E.T., He J.F., Ding H., Zhang B.T., Liu J., Ran X.B., Zang J.Y. Diversity and structure of soil bacterial communities in the Fildes Region (maritime Antarctica) as revealed by 454 pyrosequencing // Front. Microbiol. 2015. V. 6. Art. 01188.

Zhang E., Thibaut L.M., Terauds A., Raven M., Tanaka M.M., van Dorst J., Wong S.Y., Crane S., Ferrari B.C. Lifting the veil on arid-to-hyperarid Antarctic soil microbiomes: a tale of two oases // Microbiome. 2020. V. 8. P. 1–12.

Taxonomic Diversity of Bacteria and Bacterial Filterable Forms in the Soils of Eastern Antarctica (Larsemann Hills and Bunger Hills Oases)

A. G. Kudinova[1, *], M. A. Petrova[1], A. V. Dolgikh[2], V. S. Soina[3], L. V. Lysak[3], and O. A. Maslova[1]

[1]*Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 123182 Russia*

[2]*Institute of Geography, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119017 Russia*

[3]*Faculty of Soil Science, Moscow State University, Moscow, 119991 Russia*

**e-mail: alina-kudinova91@mail.ru*

Received March 19, 2020; revised April 25, 2020; accepted April 27, 2020

Increasing interest in microbial communities of Arctic and Antarctic extreme environments, their taxonomic diversity, and forms and mechanisms of adaptation of inhabitants of Antarctic biotopes to extreme conditions determined the goal of the present work. High-throughput sequencing of the 16S rRNA gene fragments was used to determine the taxonomic structure of microbial communities in soil samples from the Larsemann Hills and Bunger Hills oases. Revealed differences in the composition of predominant bacterial phyla and genera indicate that the type of the biotope developing on the soil surface and a combination of various physicochemical factors play a major role in formation of Antarctic microbial communities. High abundance of filterable forms of prokaryotes (FFP) was found in the communities. Analysis of the libraries of the 16S rRNA gene clones revealed that the FFP from three Larsemann Hills samples belonged to the phylum *Proteobacteria*. In all three samples, the dominant FFP group exhibited the highest similarity (99%) to an uncultured bacterial clone of the class *Deltaproteobacteria* revealed by assessment of bacterial diversity if rocks and groundwater of the Donghai County, China. The FFP capable of growth of standard nutrient media belonged to the phyla *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Deinococcus-Thermus*, *Firmicutes*, and *Proteobacteria*. Taking into account the data of high FFP abundance in the samples and their taxonomic composition, their significant contribution to stability of the bacterial composition of Antarctic soils may be suggested. The FFP fraction was mainly represented by bacterial dormant forms able to revert to active growth under favorable conditions. Rapid transition of a vegetative part of the population to small dormant forms under unfavorable conditions is probably one of the strategies enabling their survival in extreme environments. The FFP fraction also contained the cells belonging to novel bacterial species, probably ultramicrobacteria.

Keywords: bacteria of extreme biotopes, high-throughput sequencing, analysis of the 16S rRNA gene libraries