УДК 631.46

Температурные адаптации мицелиальных бактерий почв тундры и тайги

© 2010. Г. М. Зенова, д.б.н., профессор, Н. А. Манучарова, к.б.н., доцент, М. С. Дуброва, студентка,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
e-mail: zenova38@mail.ru

Показано, что в почвах Полярного и Бореального географических поясов развиваются почвенные психротолерантные актиномицеты. Численность психротолерантных мицелиальных прокариот составляет в почвах северных регионов тысячи и сотни тысяч КОЕ/г субстрата, мицелий достигает длины 380 м/г почвы. Методом гибридизации *in situ* (метод FISH – fluorescent *in situ* hybridization) показано, что физиологически активные психротолерантные представители филогенетической группы *Actinobacteria* составляют до 30% от общего числа бактерий в прокариотных микробных сообществах почв и подстилок, доля метаболически активных мицелиальных актинобактерий превышает долю одноклеточных актинобактерий. Установлена ксерофильность психротолерантной культуры *Streptomyces aburaviensis*, выделенной из глее-слабоподзолистой почвы. Психротолерантные актиномицеты проявляют пектинолитическую, амилолитическую, а также антагонистическую активности при низкой температуре (5°С).

The article shows that soil psycho-tolerant actinomycetes develop in the soils of Polar and Boreal geographical zone. In the soil of northern regions the number of psycho-tolerant filamentous prokaryotes is thousands and hundreds of thousands CFU/g of substrate, mycelium length reaches 380 m/g of soil. By the method of hybridization *in situ* (method FISH – fluorescent in situ hybridization) it was shown that physiologically active psycho-tolerant representatives of the phylogenetic group *Actinobacteria* account for up to 30% of the total number of bacteria in prokaryote microbe communities of soils and mats, the amount of metabolically active mycelium actinobacteria is larger than the amount of unicellular actinobacteria. Xerophilous quality of the psycho-tolerant culture *Streptomyces aburaviensis* was stated, this culture was isolated from weakly-podzolic grey soil. Psycho-tolerant actinomycetes demonstrate pektinolitic, amylolytic, and antagonistic activity at low temperatures.

Ключевые слова: адаптация, психротолерантность, актиномицеты, длина мицелия, прокариотные микробные сообщества

Key words: adaptation, psycho-tolerance, actinomycetes, mycelium length, prokaryote microbe communities

Введение

Мицелиальные бактерии имеют множественные приспособления для жизни в почве. Эти приспособления связаны с особенностью развития актиномицетов – апикальным ростом, множественными типами спорообразования, наличием воздушных гиф, позволяющим гифам проникать через границу раздела фаз в воздушную среду. Преимущества, которые создают актиномицетам перечисленные особенности развития, позволяют мицелиальным бактериям успешно колонизировать новые пространства в условиях, делающих излишней активную подвижность клеток. Исследования актиномицетов, адаптированных к существованию в холодных почвах, позволяют не только расширить пределы наших представлений об экологических нишах, занимаемых мицелиальными бактериями, но и выявить среди холодостойких видов продуценты новых биологически активных веществ.

Минимальная, максимальная и оптимальная температуры (основные температурные точки) значительно варьируют среди прокариот. По отношению к температуре их условно делят на три группы – мезофилы, термофилы и психрофилы. У мезофилов, к которым относится большая часть бактерий, оптимальная для роста температура лежит в интервале между 20 и 42°С. Среди этих организмов имеются термотолерантные виды, способные выживать при температуре до 50°С. Оптимальная температура для роста психрофильных бактерий не превышает 20°С. Они обитают в морской воде и в полярных областях земного шара. Строгие психрофилы растут при 0°С и отрицательных температурах, не растут при 28°С. Психротолерантные бактерии растут при 0°С, плохо растут при 37°С, имеют оптимум роста от 10 до 28°С [1].

Температурные границы роста психрофильных бактерий в почве шире по сравнению с температурными границами роста

этих бактерий в субстратах с постоянно низкими температурами, например, на дне моря. Долгое время считалось, что мицелиальные бактерии с трудом адаптируются к низким температурам и среди них нет представителей, способных жить при 0°С [2, 3]. В последнее десятилетие появились сообщения о выделении психрофильных и психротолерантных актиномицетов из наземных и водных экосистем [1, 4 – 12].

Многочисленные психрофильные представители филогенетической группы *Actinobacteria* являются продуцентами холодоактивных галактозидаз и других ферментов, а также антибиотиков криомицина, азаломицина и др. [4, 13, 14].

Целью настоящей работы было установление закономерностей распространения и оценка таксономической и функциональной структуры комплексов психротолерантных актиномицетов почв тундры и тайги.

Материалы и методы

Объектами исследования служили почвы Полярного и Бореального географических поясов (табл.). Тундровые почвы – торфяно-криозём типичный (п-ов Ямал) и криозём грубогумусный глееватый (близь города Воркуты), а также почва северной тайги глее-слабоподзолистая (в районе г. Надыма) являются холодными, промерзающими, на глубине 10 см в них отмечены отрицательные среднегодовые температуры. Следующие почвы северной тайги – подзолы, гипсовые петроземы, серогумусовые турбированные (Чугский заказник, Архангельская обл.), пелозёмы гумусовые глеевые (Пинежский заповедник, Архангельская обл.), подзолы железистые (Соловецкие о-ва, Архангельская обл.) характеризуются положительными среднегодовыми температурами (4–8°С). Для сравнения использовали торфяную олиготрофную почву (южная тайга, Тверская обл.).

Для выделения и учёта актиномицетов в исследуемых почвах использовали традиционный метод посева на питательную среду Гаузе 1. Учитывая температурные границы и оптимум роста исследуемых мезофильных и психротолерантных актиномицетов, чашки с посевами инкубировали при температурах 5, 20 и 28°С.

Таблица

Характеристика исследуемых образцов

Название почвы, профиль или глубина взятия образца (см)	Район взятия образца	Среднегодовая температура почвы на глубине 20 см	Сумма активных температур почвы выше 10°С на глубине 20 см
Торфяно-криозем типичный ТО-Т1-BCg	типичная тундра Центральный Ямал	от -12 до -8	400°
Криозём грубогумусный глееватый ТО-Т1-А-BG	мохово-лишайниково-кустарничковая тундра в районе г. Воркуты	от -8 до -4	400–1200°
Глее-слабоподзолистая Ad-AE-Eg-Bg,t,f,h,al (0-10)	Северная тайга Надымский район Ямало-Ненецкого автономного округа окресности г. Надыма	от -8 до -4	400–1200°
Подзолы, гипсовые петроземы, серогумусовые турбированные (0-5)	Северная тайга Чугский заповедник Архангельская обл.	от 4 до 8	1200–2000°
Пелозёмы гумусовые глеевые (0-5)	Северная тайга Пинежский заповедник Архангельская обл	от 0 до 8	нет данных
Подзол иллювиально-железистый (лесные подстилки)	Северная тайга Большой Соловецкий остров	от 4 до 8	1200–2000°
Торфяная олиготрофная ТО-ТТ (0-10)	Южная тайга Западнодвинский р-н Тверской обл.	от 4 до 8	1200–2000°

В лабораторных микрокосмах изучали динамику развития мицелия актиномицетов в ходе инициированной микробной сукцессии [16]. Использовали органогенные горизонты олиготрофной торфяной и глее-слабоподзолистой почвы, а также лесные подстилки подзолов железистых. Подготовку почвы и растительных субстратов и инициацию микробной сукцессии увлажнением проводили согласно традиционно используемой методике [16]. Инкубирование почвы и растительных субстратов, а также посевов из почвенных и растительных суспензий проводили в термостатах при температурах 5, 20°С. Посевы из исследуемых образцов производили на 1, 3, 7, 14, 21, 28-е сутки после инициации сукцессии. Длину мицелия актиномицетов в почве определяли с помощью люминесцентного микроскопа. Для окрашивания мицелия использовали водный раствор акридина оранжевого (разведение 1:10000; 2–4 мин). Длину мицелия вычисляли по формуле:

$$M = 4\ an \times 10^{10}/p,$$

где M – длина мицелия в 1 г почвы (м); a – средняя длина мицелия в поле зрения; p – площадь поля зрения (мкм^2); n – показатель разведения. При расчете биомассы принимали, что 1 м сухого актиномицетного мицелия диаметром 0,5 мкм имеет биомассу $3{,}9 \times 10^{-8}$ г [15].

Молекулярный метод гибридизации in situ (метод FISH – fluorescent in situ hybridization) использовали для оценки биомассы метаболически активных клеток бактерий. Гибридизацию препаратов с флуоресцентно-мечеными зондами проводили в соответствии с методикой [16]. Для гибридизации использовали набор рРНК- специфичных олигонуклеотидных меченных флуоресцентным красителем Cy3 зондов, разработанных для детекции представителей различных филогенетических групп домена Bacteria. Условия гибридизации различаются в зависимости от используемого зонда [17, 18].

Предварительную идентификацию изолированных из исследуемых почв актиномицетов проводили согласно определителям [19, 20] по следующим морфологическим и хемотаксономическим признакам: наличие/отсутствие фрагментации мицелия, образование одиночных или цепочек спор на воздушном и/или субстратном мицелии; присутствие в гидролизатах целых клеток LL- или мезо-изомера диаминопимелиновой кислоты (ДАПк) и дифференцирующих сахаров ксилозы, арабинозы, галактозы.

Филогенетическое положение выделенных психрофильных актиномицетов (шт. 5-4-1 и мох 18) определяли на основании секвенирования гена 16S рРНК. Выделение ДНК из бактериальной биомассы проводили с использованием набора реактивов Wizard Genomic DNA Purification Kit, технологии Promega, США, согласно рекомендациям производителя, с незначительными модификациями [21]. Для проведения полимеразной цепной реакции и дальнейшего секвенирования ПЦР-фрагментов гена 16S рРНК использовали универсальную праймерную систему [22, 23]. Получение полноразмерной копии гена проводили на приборе Mastercycler personal («Eppendorf»11F, Германия) с использованием праймеров: 11F 5`-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3` 1492R 5`-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3`, где M = C или A, Y = C или T.

Объём амплификационной смеси составлял 50 мкл и имел следующий состав: 1х буфер ДНК полимеразы BioTaq (17 мМ (NH4)2SO4, 67 мМ трис-HCl, pH 8.8, 2 мМ MgCl2); 12.5 нмоль каждого из dNTP, 50 нг ДНК-матрицы; 5 пмоль соответствующих праймеров (11F и 1492R).3 ед. ДНК полимеразы BioTaq (Диалат ЛТД, Россия).

Температурно-временной профиль ПЦР был следующим: первый цикл – 94°Сх9 мин, 55°Сх1 мин, 72°Сх2 мин; последующие 30 циклов – 94°Сх1 мин, 55°Сх1 мин, 72°Сх 2 мин; завершающий цикл – 72°Сх7 мин.

Первичный анализ сходства нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК изучаемого штамма был проведен с помощью программы BLAST. Построение бескорневых филогенетических деревьев исследуемых актиномицетов производили с помощью методов, реализованных в пакете программ MEGA.

Оптимальные и ограничительные для роста культур стрептомицетов температуры определяли по величине радиальной скорости роста колоний на плотной питательной среде Гаузе 1 при температурах 5, 8, 10, 15, 20, 28 и 37°С. Расчет радиальной скорости роста колоний проводили по формуле: $Kr = (d2 - d1)/(t2 - t1)$, где d1 и d2 – диаметр колонии (мм) в начальный и конечный моменты измерения соответственно; t1 и t2 – время (сут) начального и конечного измерения. Измерения проводили в 20-кратной повторности.

Зависимость радиальной скорости роста колоний стрептомицета от влажности и температуры культивирования определяли в следующем опыте. Готовили агаризованную глицерин-нитратную среду с различным осмотическим давлением влаги, которое создавали в среде определённой концентрацией глицерина. Предварительно строили кривую зависимости осмотического давления от концентрации глицерина в среде [24]. Использовали следующие значения осмотического давления влаги: (ОВ 67%, aw 0,67) – 60% водный раствор глицерина; (ОВ 86%, aw 0,86) – 40% водный раствор глицерина; (ОВ 98%, aw 0,98) – 3% водный раствор глицерина.

Для определения пектинолитической активности психротолерантных актиномицетов использовали 2%-ый водный раствор гексадецилтриметиламмония бромида (цетавлон) [15]. Амилолитическую активность психротолерантных актиномицетов определяли с раствором йода [15]. Для выявления антибактериальной активности психротолерантных актиномицетов использовали метод блоков [15].

Результаты и обсуждение

При инкубировании посевов при 5°С психротолерантные актиномицеты выявляются не во всех горизонтах тундровых почв, чаще – из нижних. Численность психротолерантных актиномицетов, выделяемых на плотной питательной среде при инкубировании посевов при 20°С, сопоставима с количеством мезофильных форм, выделяемых при 28°С, – тысячи и десятки тысяч КОЕ/г субстрата (рис. 1). Психротолерантные актиномицеты составляют приблизительно половину актиномицетного комплекса тундровых почв.

В подзолах и гипсовых петрозёмах на территории Чугского заказника Архангельской области количество психротолерантных мицелиальных бактерий также сопоставимо

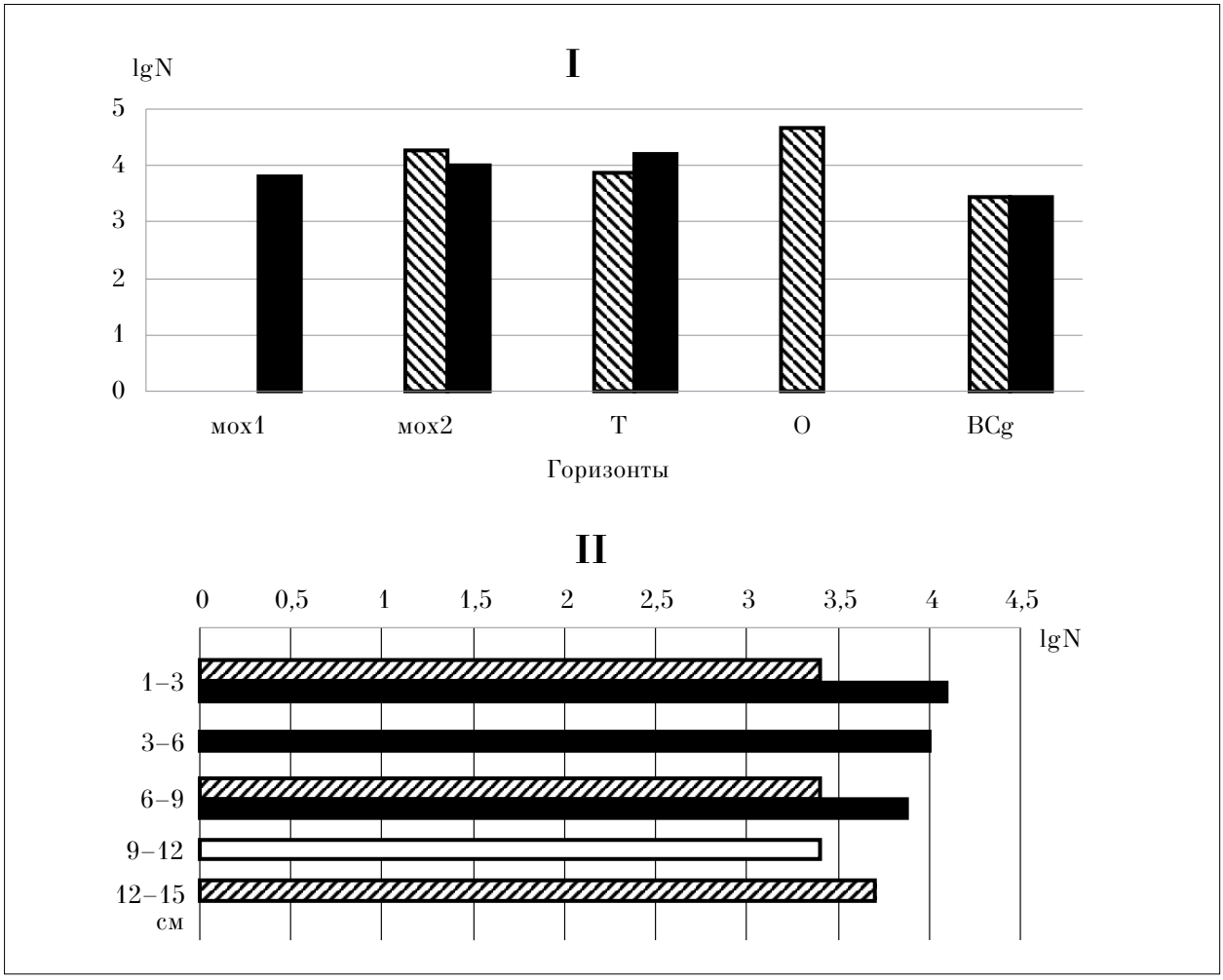

Рис.1. Численность психротолерантных актиномицетов, выделенных из торфяно-криозёма типичного (I) и криозёма грубогумусного глееватого (II) при 5°С (белые столбики) и 20°С (заштрихованные столбики), и мезофильных актиномицетов, выделенных из этих почв при 28°С (чёрные столбики)

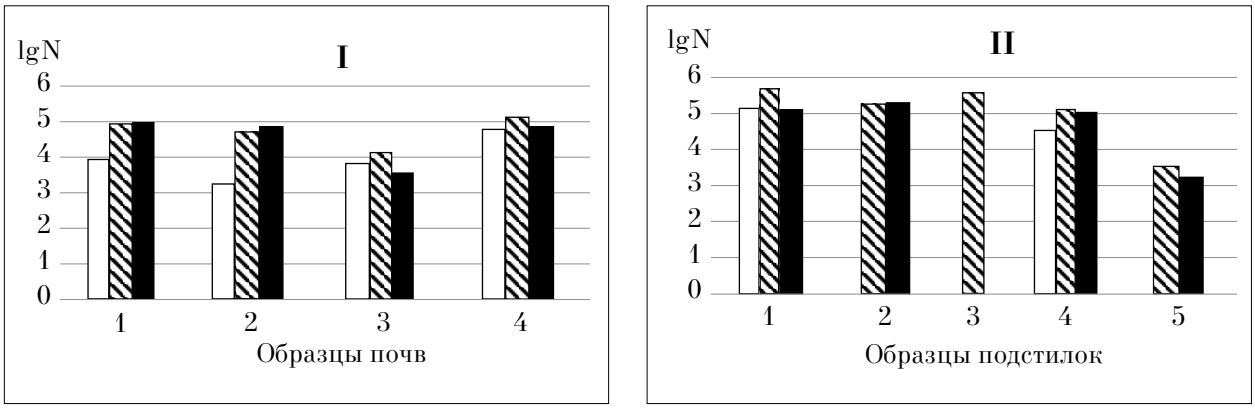

Рис. 2. Численность психротолерантных и мезофильных актиномицетов, выделенных при разных температурах из пелозёмов гумусовых глееватых (I) и лесных подстилок подзолов иллювиально-железистых (II). Обозначения см. рис. 1

с количеством мезофильных форм (тысячи и десятки тысяч КОЕ/г субстрата).

Особое место среди актиномицетных комплексов исследуемых территорий занимают комплексы мицелиальных бактерий пелозёмов гумусовых глееватых на территории Пинежского заповедника Архангельской области. Эти почвы расположены в карстовом ландшафте, где за счёт перепадов рельефа образуются крупные замкнутые понижения, в которых после зимы застаивается холодный воздух и не тает снег под затенёнными склонами. Важным фактором формирования здесь низких температур является поток холодного воздуха из трещин, связанных с карстовыми пещерами. В результате температура почвы на дне карстовой воронки на глубине 10 см не превышает 4°С в летний период. Почвенный профиль пелозёма имеет мощность 3–5 см и состоит из верхнего горизонта подстилки, гумусового горизонта и нижнего оглеенного горизонта.

Низкие температуры этих почв способствуют развитию в них психротолерантных актиномицетов в количествах тысяч и сотен тысяч КОЕ/г субстрата (рис. 2, I). Доля этих актиномицетов в комплексе превышает долю мезофильных форм.

Значительное количество (сотни тысяч КОЕ/г субстрата) психротолерантных форм, часто превышающее количество мезофильных, выявлено в лесных подстилках подзолов железистых Большого Соловецкого острова (рис. 2, II). Психротолерантные актиномицеты

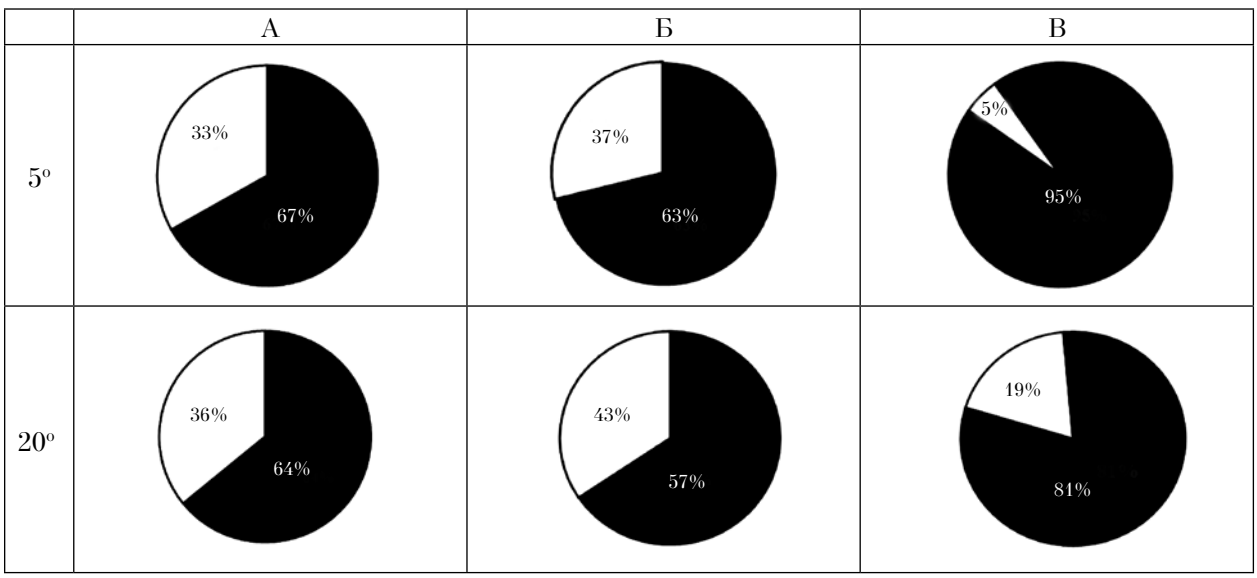

Рис. 3. Соотношение биомасс метаболически активных мицелиальных (чёрные сегменты) и одноклеточных (белые сегменты) представителей филогенетической группы *Actinobacteria* в прокариотном микробном сообществе органогенных горизонтов исследуемых почв;
А – глее-слабоподзолистой почвы, Б – торфяной олиготрофной,
В – лесных подстилок подзолов иллювиально-железистых

составляют значительную часть актиномицетного комплекса (а иногда и целиком комплекс) в лесных подстилках этих почв.

Для наблюдения за динамикой длины актиномицетного мицелия нами были выбраны две контрастные по температурным условиям почвы: глее-слабоподзолистая с отрицательными среднегодовыми температурами и олиготрофная торфяная с положительными температурами, не превышающими 10°С. При инкубировании посевов при 5°С психротолерантные актиномицеты в торфяной олиготрофной почве обнаружены не были, тогда как в глее-слабоподзолистой почве их численность достигала сотен тысяч КОЕ/г. Численность психротолерантных форм, выделяемых при 20 °С, оказалась на порядок выше в подзолистой почве по сравнению с торфяной олиготрофной почвой.

Люминесцентно-микроскопические исследования показали, что в ходе микробной сукцессии, инициированной увлажнением почвы и инкубированием её при 5 или 20°С, мицелий актиномицетов растёт и развивается. В торфяной почве при 5°С прирост мицелия психротолерантных актиномицетов в ходе сукцессии оказался менее значительным (до 140 м/г) по сравнению с приростом мицелия в подзолистой почве (до 380 м/г).

Исследование прокариотного микробного сообщества органогенных горизонтов олиготрофной торфяной и глее-слабоподзолистой почв, а также кедровой подстилки подзола методом гибридизации *in situ* с помощью 16S рРНК специфичных олигонуклеотидных зондов, определяющих представителей филогенетической группы *Actinobacteria*, показало, что метаболически активные представители этой группы составляют приблизительно третью часть от всех бактерий прокариотных микробных сообществ органогенных горизонтов исследуемых почв. В филогенетической группе *Actinobacteria* микробного прокариотного сообщества исследуемых почв метаболически активные мицелиальные актинобактерии составляют большую долю по сравнению с одноклеточными, что особенно заметно в подстилке кедрового леса на подзоле железистом (рис. 3).

В результате проведённых исследований выделены культуры актиномицетов. По фенотипическим признакам установлено таксономическое положение выделенных штаммов. Все они отнесены к разным видам рода *Streptomyces*. Для штаммов 5-4-1 и мох 18 проведено определение фенотипических признаков и секвенирование генов 16S рРНК и показано сходство штамма 5-4-1 с *Streptomyces beijiangensis*, новым видом психротолерантного стрептомицета, выделенного из почв Китая [6], а штамма мох 18 – со *Streptomyces parvus* (рис. 4).

С использованием расчёта радиальной скорости роста колоний стрептомицетов установлены температурные границы их роста. Выявлено, что температурный диапазон роста стрептомицетов, выделенных из почв при 5, 20 и 28°С, различен. Мезофильный стрептомицет *Streptomyces tenebrarius* шт. 3 А, выделенный при 28°С, растёт в диапазоне температур от 12 до 45°С, оптимум роста отмечен при 28°С. Психротолерантные стрептомицеты *S. wedmorensis* шт. Н-5-2, *S. xanthochromogenes* шт. Н-5-1; *S. helvaticus* шт. 8-5-3, шт. 8-5-2, *S. aburaviensis* шт. Н-5-6, *S. caeruleus* шт. Н-5-4, выделенные при 5 или 20°С, растут в диапазоне температур от 5 до 37°С. Максимальная величина радиальной скорости роста колоний отмечена при 20°С. *Streptomyces beijiangensis* шт. 5-4-1 и *S. aburaviensis* шт. Н-5-6, выделенные при 50°С из почвы, имеют диапазон роста от 2 до 28°С. Оптимум роста отмечен у этих культур при 50°С. По классификации психрофильных актиномицетов [1] их можно отнести к умеренным психрофильным стрептомицетам.

Выявлена зависимость роста психротолерантного стрептомицета *S. aburaviensis* шт. Н-5-6 от двух экологических факторов – температуры и влажности. Показано, что каждому уровню влажности и температуры соответствует определённая специфика развития стрептомицета. Психротолерантный стрептомицет растёт на среде при ОВ 98% (aw 0,98) при температурах 20 и 28°С и проходит полный цикл развития от споры до образования колоний с субстратным воздушным мицелием и цепочками спор. При 5°С в условиях ОВ 98% отмечено образование субстратного мицелия, воздушный мицелий и споры не образуются. При ОВ 86% (aw 0,86) культура растёт при 28, 20 и 5°С, однако не проходит полного цикла развития. Споры прорастают, образуя лишь субстратный мицелий без воздушного мицелия и спор. При экстремально низком уровне влаги (aw 0,67) видимого роста колоний актиномицета не наблюдается. Можно заключить, что исследуемый стрептомицет *S. aburaviensis* является психротолерантным и ксеротолерантным.

При низких температурах выделенные из холодных почв актиномицеты проявляют антагонизм к грамотрицательным бактериям

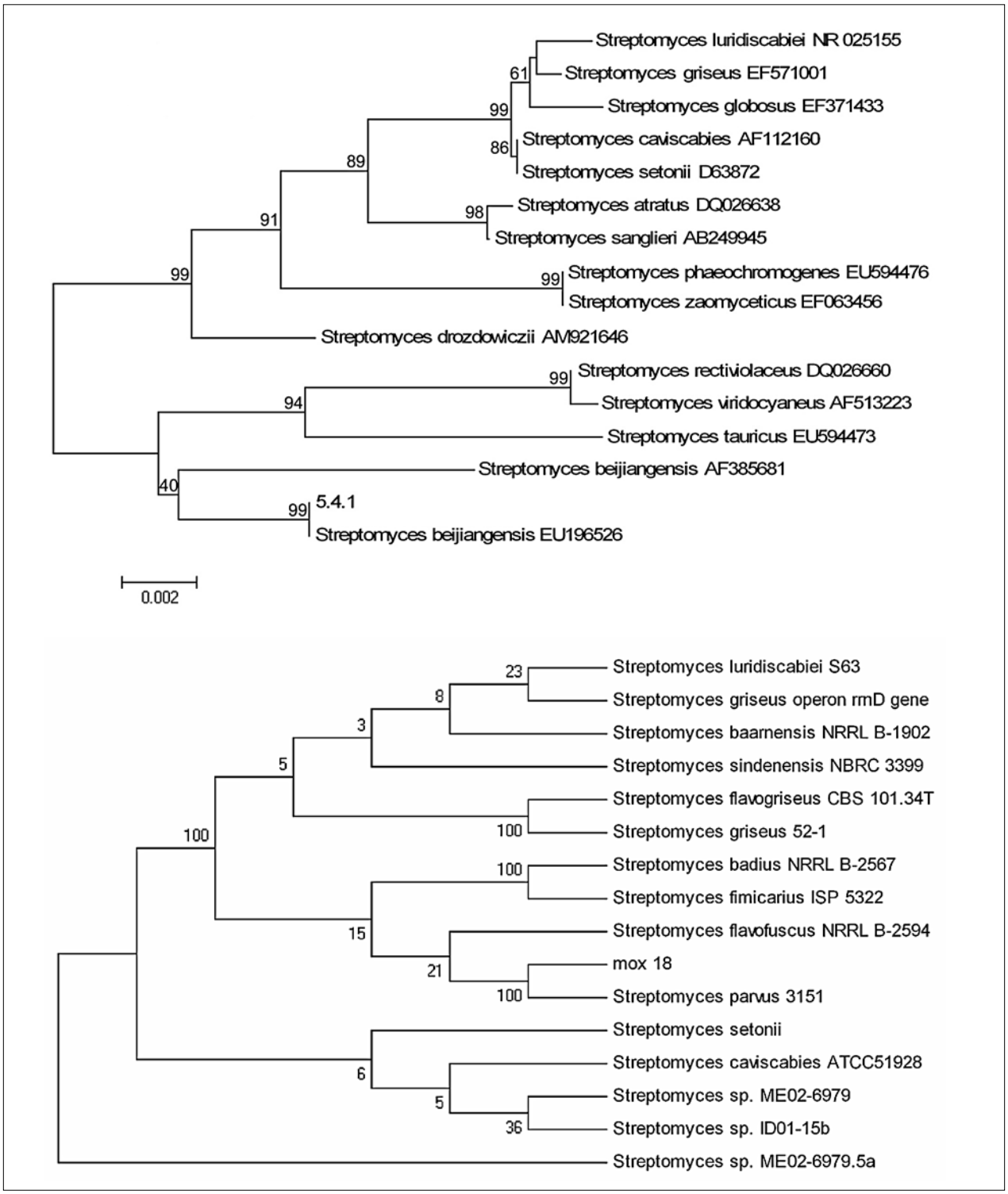

Рис. 4. Филогенетическое положение актиномицетов шт. 5-4-1; шт. мох 18, выделенных из почв тундры и северной тайги

родов *Aquaspirillum, Bacteroides,* грибам родов *Fusarium, Penicillium* и грибам *Mucor riemalis, Cladosporium herbarum*; у психротолерантных актиномицетов отмечена пектинолитическая и амилолитическая активность.

Таким образом, наши исследования показали, что в северных почвах с низкими температурами, не превышающими 10°С даже в поверхностных слоях в летнее время года, активно растут и развиваются физиологически активные почвенные психротолерантные актиномицеты, образуют мицелий и составляют неотъемлемую часть гидролитического микробного блока, принимающего участие в

деградации растительных остатков. Очевидно, температурная адаптация мицелиальных бактерий (актиномицетов) к почвенной среде способствует сохранению биологического разнообразия в почвах северных регионов.

Литература

1. Jiang C., Xu L. Actinomycete diversity in unusual habitats // Actinomycetes. 1993.V. 4. № 2. P. 47–57.

2. Williams S.T., Vickers T.C. Actinomycetes in environment // Biology of Actinomycetes / Eds.Y. Okami et al. Tokio. 1988. P. 265–270.

3. Калакуцкий Л.В., Агре Н.С. Развитие актиномицетов. М.: Наука, 1977. 287 с.

4. Gesheva V. Distribution of psychrophilic microorganisms in soil of Terra Nova Bay and Edmonson Point, Victoria Land and their biosynthetic capabilities // Polar Biol. 2009. V. 32. P. 1287–1291.

5. Hakvag S., Fjervik E., Josefsen K.D., Ian E.,Ellingsen T.E., Zotchev S.B. Characterization of Streptomyces spp. isolated from the Sea Surface Microlayer in the Trondheim Fjord, Norway // Mar Drugs 2008. V. 6 (4). P. 620–635.

6. Li W-J., Zhang L-P., Xu P., Cui X-L., Lu Z-T., Xu L-H., Jiang C-L. Streptomyces beijiangensis sp.nov., a psychrotolerant actinomycete isolated from soil in China // Inter. J. System. Evolution. Microbiol. 2002. V. 52. P. 1695–1699.

7. Sheridan P.P., Loveland-Curtze J., Miteva V.I., Brenchley J.E. Rhodoglobus vestalii gen. nov., sp. nov., a novel psychrophilic organism isolated from an Antarctic Dry Valley lake // Inter. J. System. Evol.Microbiol. 2003. V. 53. P. 985–994.

8. Clocksin K.M., Jung D.O., Madigan M.T.Cold-active chemoorganotrophic bacteria from permanently ice-covered lake Hoare, Mc Murdo dry Valleys, Antarctica // Appl. Environment. Microbuiol. 2007. P. 3077–3083.

9. Wang Q.L., Cao G.M., Jiang W.B., Zhang Y.S. Study on actinomycetes population of alpine meadow soil in Qinghai // Wei Sheng Wu Xue Bao 2004. V. 44. № 6. P. 733–736.

10. He J.Q., Wu Y.F., Zhang G.J. Activity and ecological distribution of actinomycetes from soil in the southeastern of Tibet // Wei Sheng Wu Xue Bao. 2006. V. 46. № 5. P. 773–777.

11. Xu L., Li Q., Jjang C. Diversity of soil actinomycetes in Yunnan, China // Appl. Nviron. Microbiol. 1996. V. 62. № 1. P. 244–248.

12. Nichols D.S.,Sanderson K., Buia A., Van de Kamp J., Hollway P., Bowman J.P., Smith M., Nichols M.C., Nichols P.D., McMeekin A. Dioprospecting and biotechnology in Antarctica // The Antarctic: Past, Present and Future. Antarctic CRC research Report. № 28. Hobart. 2002. P. 85–103.

13. Sheridan P.P., Brenchley J.E. Characterization of salt-tolerant family – galactosidase from a psychrophilic Antarctic Planococcus isolate // Appl. Environ. Microbiol. V. 66. P. 2438–2444.

14. Sheridan P.P., Lanasik N., Coombs J.M., Brenchley J.E. Approaches for deciphering the structural basis of low temperature enzyme activity // Biochim. Biophys. Acta Prot. Struct. Molec. Ensymol. 2000. № 1543. P. 417–433.

15. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1991. 303 с.

16. Amann R.I., Ludwig W., Schleifer K.-H. Phylogenetic Identification and In Situ Detection of Individual Microbial Cells without Cultivation // Microbiol. Rev. 1995. V. 59. № 1. P. 143–169.

17. Amann R.I., Krunholz L., Stahl D.A. Fluorescent-oligonucleotide probing of whole cells for determinative, phylogenetic, and environmental studies in microbiology // Bacteriol. 1990. V. 172. P. 762–770.

18. Roller C., Wagner M., Amann R., Ludwig W., Schleifer K.-H. In situ probing of Gram-positive bacteria with high DNA G+C content using 23S rRNA- targeted oligonucleotides // Microbiology. 1994. V. 140. P. 2849–2858.

19. Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж. Хоулта, М. Крига, П. Смита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. М.: Мир, 1997. 799 с.

20. Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.А., Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. М.: Наука, 1983. 245 с.

21. Манучарова Н.А. Молекулярно-биологические аспекты исследований в экологии и микробиологии. М.: Изд-во «Университет и школа», 2010. 47 с.

22. Edwards U., Rogall T., Bloeker H., Ende M.D., Boeettge E.C. Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes, characterization of gene coding for 16S ribosomal RNA // Nucl. Acids Res. 1989. V. 17. P. 7843–7853.

23. Lane D.J. 16S/23S rRNA sequencing // Nucleic Acid Techniques in Bacterial systematic / Eds. Stackebrandt E., Goodfellow M. Chichester. UK: John Wiley & Sons, 1991. P. 115–177.

24. Звягинцев Д.Г., Зенова Г.М., Судницын И.И., Дорошенко Е.А. Способность почвенных актиномицетов развиваться при экстремально низкой влажности // Доклады Академии наук. 2005. Т. 405. № 5. С. 702–704.