

УДК 631.46

**Разнообразие почвенных актиномицетных комплексов,
обусловленное температурными адаптациями
мицелиальных актинобактерий**

© 2011. Д. Г. Звягинцев, д.б.н., профессор, Г. М. Зенова, д.б.н., профессор,
Т. А. Грачёва, к.б.н., м.н.с., А. И. Курапова, аспирант, М. С. Дуброва, аспирант,
Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,
e-mail: manucharova@mail.ru

В обзоре обсуждаются вопросы специфики разнообразия актиномицетных комплексов разных типов почв в связи с температурными адаптациями мицелиальных прокариот. Анализируются работы, посвящённые механизмам адаптаций мицелиальных актинобактерий к высоким и низким температурам. Температурные адаптации мицелиальных актинобактерий создают возможность сохранения актиномицетного разнообразия почв, различных по температурным режимам.

The review considers questions of specificity of actinomycetes complexes diversity in different soil types in connection with mycelial prokaryotes temperature adaptation. The works dedicated to mechanisms of mycelia actynobacteria adaptation to high and low temperature are analysed. Temperature adaptation of mycelialn actynobacteria helps to keep actinomycetes diversity in soils different in temperature regimes.

Ключевые слов: актиномицеты, температурные адаптации,
пустынные почвы, почвы тундры и тайги

Key words: Actinomycetes, temperature adaptation,
desert soil, tundra and taiga soils

Исследование закономерностей действия температурного фактора на активность жизнедеятельности микробных популяций имеет важное значение с теоретической и практической точек зрения. Теоретически представляют интерес механизмы температурных адаптаций. С практической точки зрения важно знать, например, как адаптации к температуре влияют на интенсивность микробного дыхания, в ходе которого выделяется углекислый газ. CO₂ является одним из «парниковых газов», изменение концентрации которых приводит к общему изменению климата. Предполагается, что дыхание почвы существенно превосходит антропогенные промышленные выбросы. Поэтому актуальна проблема зависимости от температуры функциональной активности микробного населения почвы, в число которого входят грамположительные мицелиальные бактерии – актиномицеты.

Своеобразие почвы как трёхфазной природной системы, характеризующейся исключительным разнообразием экологических условий, обуславливает представление о почве как множестве сред обитания. Применительно к миру микроорганизмов понятие о почве

как множестве сред обитания микроорганизмов введено Д. Г. Звягинцевым [1].

**Температурные границы
роста микроорганизмов**

Для микроорганизмов существуют значения температуры, которые в определённых условиях будут являться минимальными, оптимальными и максимальными. В зависимости от их значений микроорганизмы принято делить на четыре группы – мезофилы, психрофилы, термофилы и экстремотермофилы. Оптимальная температура для роста мезофилов (к ним относится большинство прокариот) – 20–40°C. Термотолерантные виды способны выживать при температуре до 50°C. Строгие термофилы растут при 70°C, экстремальные термофилы – до 120°C. Для психрофилов температурный оптимум не превышает 20°C, и при кратковременном нагревании до комнатной температуры строгие психрофильные организмы погибают [2].

Исследования термоадаптаций мезофильных и термофильных бактерий [3] подтвердили условность границы между термофилами

и мезофилами. Показано, что существуют два типа ферментов: термостабильные, присущие термофильному типу метаболизма, и термолабильные, соответствующие мезофильному типу метаболизма. В зависимости от условий среды соотношение этих ферментов в клетке может изменяться. Очевидно, термоадаптации микроорганизмов коррелируют с физиологическими и природными условиями обитания данного вида. Например, экстремальный термофил *Bacillus caldotenax*, выделенный из термального источника при температуре 93°C, имеет широкий диапазон роста 30–80°C и адаптируется к изменениям температуры в этих пределах без предварительной инкубации в более оптимальных условиях, в то время как умеренный термофил *B. stearothermophilus*, выделенный из почвы, где колебания температур незначительны, при резкой смене температуры без предварительной инкубации при переходной температуре растёт менее интенсивно [3].

От температуры зависит скорость биохимических реакций, составляющих обмен веществ. Коэффициент, показывающий, во сколько раз изменяется скорость химической реакции при изменении температуры на 10°C, обозначают Q10. По закону Вант-Гоффа для большинства химических и биохимических реакций он равен 2-3. Изменения температуры также приводят к изменениям стехиометрической специфичности макромолекул: третичной и четвертичной структуры белков, строения нуклеиновых кислот, организации мембран и других структур клетки. Так как величина Q10 различна для разных биохимических реакций, то изменения температуры могут сильно нарушить сбалансированность обмена веществ, если скорости сопряжённых процессов изменяются различным образом [2]. Сильное понижение температуры может вызвать такое замедление обмена веществ, при котором невозможно осуществление основных жизненно важных функций организма. Критический момент – замерзание воды в клетках с образованием кристалликов льда, нарушающих целостность внутриклеточных структур. Повышение температуры ведёт к денатурации белков, в среднем в области около 60°C, но рассогласование биохимических и физиологических процессов начинается раньше, в области 42–43°C.

Излишнее усиление метаболизма также может вывести организм из строя еще до теплового разрушения ферментов, так как резко возрастает потребность организма в пита-

тельных веществах, которая не всегда может быть удовлетворена. В среднем активная жизнедеятельность организмов ограничена критическими порогами замерзания воды и тепловой денатурации белков, примерно в пределах от 0 до +50°C. Соответственно границы оптимальных температур должны быть ещё уже, но реально эти границы преодолеваются у многих видов за счёт специфических адаптаций.

Существуют экологические группы организмов, оптимум которых сдвинут в сторону низких (криофилы) или высоких (термофилы) температур. Свыше 80% земной биосферы относится к постоянно холодным областям с температурой ниже +5°C [4] – это глубины Мирового океана, арктические и антарктические пустыни, тундры, высокогорья.

Ферменты холодостойких организмов имеют строение, которое позволяет снижать энергию активации молекул и поддерживать клеточный метаболизм при соответствующих температурах [5, 6]. Большую роль играют механизмы, предотвращающие образование льда в клетках. При этом реализуются два основных пути – резистентность (противостояние замерзанию) и толерантность (устойчивость к замерзанию). Биохимически резистентность реализуется через накопление антифризов – макромолекулярных веществ, которые понижают точку замерзания жидкостей в организме. Выносливость же к замерзанию связана с временным прекращением активного состояния. У многих криофилов это реализуется через накопление защитных органических веществ (глицерина, сорбита, маннита и других), которые препятствуют кристаллизации внутриклеточных растворов (образование льда происходит во внеклеточных жидкостях) и позволяют переживать критические морозные периоды в состоянии оцепенения.

Микробный рост возможен в широком интервале температур с пределами от -20°C (в солевых «венах» морских льдов Арктики и Антарктики) и выше 100°C (например, при 113°C способны расти археи *Pyrolobus fumari*) [6]. Психротолерантные микроорганизмы способны выживать при температурах ниже 20°C. Термофилы растут при температуре до 70°C (например, в гниющем навозе), а при значениях выше 70°C (зоны вулканической активности в океане – «чёрные курильщики») растут так называемые экстремальные термофилы или гипертермофилы.

По максимальным температурам роста микробные бактерии (актиномицеты) занимают «нижнее» положение среди прокариот,

располагаясь ниже цианобактерий и примыкая к эукариотам – грибам. В большинстве своем актиномицеты мезофилы [7 – 9]. Их отношение к температурам различно в пределах одного рода. Например, почти все виды рода *Microbispora* способны расти при 25°C, за исключением видов *M. thermodiastatica* и *M. thermorosea*, развивающихся при 55°C, но не способных к росту уже при 17°C [10].

В ограниченном интервале температур (21–37°C) кривая роста бактерий описывается уравнением Аррениуса. В этом нормальном диапазоне температур клеткам не требуются особые механизмы терморегуляции. У большинства бактерий в этом диапазоне температурный коэффициент равен 2, что соответствует влиянию температуры на скорость многих химических реакций, причём без изменения физиологического состояния бактерий, но с изменением активности ферментов [2]. Скорость роста снижается медленно при понижении температуры, а при повышении температуры вскоре после достижения наивысшей скорости роста наступает гибель клеток при максимальной температуре [11].

Значительные сдвиги температуры (на 20°C и больше) вызывают временную остановку роста, после которой возобновляется нормальный экспоненциальный рост, соответствующий данной температуре. Резкое изменение температуры среды от нормальной до экстремальной (например, путём быстрого охлаждения до 4°C или нагревания до 54°C) может вызвать повреждение клеток. Вероятно, это происходит из-за изменения проницаемости мембраны (теряются растворённые вещества, нарушаются барьерные функции). Чувствительность к изменениям температуры зависит от влажности среды и от физиологического состояния культуры (в стационарной фазе роста клетки менее чувствительны, чем в фазе активного роста) [2].

Адаптация микроорганизмов к температуре

У организмов, приспособленных к обитанию в высокотемпературных условиях, белки и мембранные системы в этих условиях способны нормально функционировать. У некоторых термофильных микроорганизмов при температуре более 80°C предположительно нарушается протонный перенос на мембране из-за повышения её проницаемости для протонов, и термофилы переключаются на другой механизм энергетического сопряжения – с участием вместо протона Na⁺, проницаемость

мембраны для которого мало зависит от действия высокой температуры. В свою очередь проницаемость мембраны зависит от текучести билипидного слоя мембраны. Относительное постоянство вязкости этого слоя контролируется составом липидов, который и изменяется при изменении температуры. Это не удивительно, так как все метаболические и структурные системы бактериальной клетки зависят от структуры и активности липидов и протеинов [4]. При низкой температуре в состав липидов включаются короткоцепочечные и ненасыщенные жирные кислоты, при высокой – наоборот, насыщенные длинноцепочечные [2]. Насыщенные кислоты имеют более высокую точку плавления по сравнению с ненасыщенными [12], а ненасыщенные жирные кислоты позволяют мембранам находиться в функционально активном жидкостно-кристаллическом состоянии при низких температурах. Это составляет обязательное условие для продолжения роста. Таким образом, при изменении температурных условий изменяется степень насыщенности, разветвлённости, длины цепи и цикличности жирных кислот [13].

Изменения в липидном составе обычно не требуют синтеза новых ферментов, т. к. активность ферментов биосинтеза фосфолипидов регулируется температурой. Устойчивость термостабильных ферментов проявляется в том, что фермент не теряет своей активности по достижении очень высокой температуры, при которой белок нетермофильных организмов денатурирует. Это достигается за счёт особой комбинации небольшого числа дополнительных связей в термостабильном ферменте [2]. В транспортных и рибосомных РНК термофилов повышено содержание гуанина и цитозина, которые более устойчивы, чем аденин и урацил. У термотолерантных актиномицетов также выработаны специальные приспособления, позволяющие им расти при высоких температурах. Так у *Saccharomonospora xinjinagenensis*, растущей при 45–50°C, был обнаружен необычный тип фосфолипидов [14]. Существуют сведения о том, что термофилы имеют и значительно более устойчивые к повышенным температурам клеточные стенки, мембраны и рибосомы, по сравнению с мезофилами. В работе [6] по исследованию ДНК-лигаз психрофилов, термофилов и мезофилов показано, что у психрофилов при низких и умеренных температурах возрастает активность фермента и конформационная подвижность, наблюдается общая дестабилизация молекулярного строения, у мезофилов

же, и особенно термофилов, наблюдается обратное явление. Было выдвинуто предположение, что движущей силой денатурации адаптированных к холоду ферментов является изменение энтропии. Наибольшая стабильность некоторых белков психрофилов наблюдается при температурах 0°C и 15°C, соответствующих оптимумам роста этих организмов, а денатурация этих же белков происходит уже при 20°C [13]. Так, амилаза психрофила, выделенного из Японского моря, инактивировалась после получасовой инкубации при 30°C, оказывалась наиболее активной при 25°C, а при 15°C и 0°C активность этого фермента проявлялась только на 35% и 15% от оптимальной активности соответственно [4].

Таким образом, можно выделить несколько механизмов, обеспечивающих активное существование бактерий в условиях экстремальной температуры: 1) изменение состава мембранных липидов; 2) изменение состава и конформации белков, в первую очередь ферментов; 3) изменение соотношения термолабильных и термостабильных структурных компонентов клетки.

Таксономическая и функциональная структура термотолерантных комплексов почвенных актиномицетов

Среди актиномицетов не известны экстремальные термофилы. Термофильные актиномицеты описаны в составе рода *Thermoactinomyces* (мицелиальные бактерии, имеющие эндоспоры и, согласно современным положениям [15], выведенные из порядка *Actinomycetales*); а также представители рода *Thermomonospora* и отдельные виды родов *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Saccharomonospora*, *Microbispora*, *Saccharopolyspora*, *Actinotadura*, *Promicromonospora*, *Nocardia*, *Nocardioides*, *Streptoalloteichus* [8]. Таким образом, термофильные актиномицеты не составляют отдельного таксона и входят в различные роды порядка *Actinomycetales* наряду с мезофильными актиномицетами [8]. Способность расти при высоких температурах, однако, связана у представителей группы с рядом особенностей, которые выделяют их из всего многообразия актиномицетов. Среди термофильных актиномицетов преобладают моноспоровый и олигоспоровый морфологические типы. Большинству термофильных актиномицетов свойственна повышенная требовательность к питательным средам, росту благоприятствуют среды с экстрактами из естественных суб-

стратов, с пептоном, гидролизатом казеина, дрожжевым экстрактом. В качестве источника углерода в средах для поддержания культур обычно рекомендуется крахмал [8].

Автолиз части мицелия в культурах актиномицетов – нормальное явление, характеризующее определённую стадию развития. Культуры термофильных актиномицетов отличаются повышенной склонностью к автолизу, который нередко приводит к потере их жизнеспособности. Сигналом, запускающим приводящие к автолизу процессы, служит колебание температуры при инкубации культур [16].

В существующих схемах для разделения термофильных микроорганизмов по их температурным предпочтениям [11,17,18] актиномицеты занимают место факультативных термофилов, или термотолерантных форм. Термофильные актиномицеты, в свою очередь, разделены на следующие группы: истинные термофилы с оптимумом при 55–60°C, ростом при 37–65°C, умеренные термофилы с оптимумом при 50–55°C, ростом при 28–60°C, термотолеранты с ростом при 15–55°C [19].

В настоящее время создана классификация термофильных стрептомицетов, основанная на филогенетических признаках (ДНК-ДНК гомологии, 16S рДНК сиквенсе) [16]. Дополнительно были описаны термофильные виды стрептомицетов (*Streptomyces thermocoprophilis* и *S. thermospinisporus*) [16]. К термофильным отнесены представители рода *Amycolatopsis* (*A. fastidiosa*, *A. methanolica* и *A. thermofava*) [20].

Общепринято относить актиномицеты к термофилам, если они растут при 50–60°C, независимо от минимальной температуры роста. Температурой, служащей границей между термофильными и мезофильными актиномицетами, принято считать 55°C, так как последние не растут при таких условиях [10]. При этом имеются сведения об актиномицетах, которые по кардинальным точкам роста занимают промежуточное положение между группами термофилов и мезофилов, что говорит об условности границы между термофилами и мезофилами [8]. По современным представлениям к термофильным актиномицетам относят организмы, способные расти в диапазоне температур от 25 до 55°C, с оптимумом роста около 50°C. Группа термофилов является гетерогенной, сюда относят как стрептомицеты, так и актиномицеты других родов, отвечающие вышеуказанным условиям [21].

Местообитаниями термофильных и термотолерантных микроорганизмов являются ком-

посты, стога сена, хранящееся зерно, кучи древесных стружек, разогреваемые поверхности почв, особенно подверженных воздействию солнечной радиации (чистый пар, свежеспаханные почвы). Термофильные актиномицеты не обнаруживаются выше определённых высот (в северных областях Китая их не могли выделить выше 3500 м от уровня моря). Считается, что сами термофильные и термотолерантные организмы способны вносить существенный вклад в процессы саморазогревания субстратов и биологической порчи различных материалов [19].

Большинство исследований термофильных актиномицетов посвящено роду *Thermoactinomyces*. О закономерностях распространения в почвах и таксономическом составе термофильных и термотолерантных актиномицетов других родов в литературе мало известно. Существуют лишь отдельные упоминания об обнаружении термотолерантных актиномицетов в горных почвах Гималаев [22], в осадках озёр [19] и рек [23]. В грибных компостах выявлены термофильные актиномицеты пяти родов *Pseudonocardia*, *Saccharomonospora*, *Saccharopolyspora*, *Streptomyces* и *Thermobifida* [24], причём доминировали представители рода *Thermoactinomyces* семейства *Bacillaceae*. Из аридных почв Австралии выделен *Amycolatopsis australiens* sp. nov., а из растительных субстратов – *Amycolatopsis sacchari* [25]. Среди термофильных актиномицетов известны хемоорганотрофы, способные использовать для роста широкий набор органических веществ в качестве источников углерода и азота. Почвенные термофильные карбоксидотрофные стрептомицеты окисляют оксид углерода, водород и могут расти на комплексных средах. Особое место занимает *Streptomyces thermoautotrophicus*, использующий монооксид углерода или смесь диоксида углерода и водорода, не растущий на комплексных средах [16] и использующий диоксид азота [26].

Представители родов *Thermoactinomyces* и *Streptomyces* составляют 97% от общей численности почвенных термофильных актиномицетов, выявляемых в почвах Китая [19].

Распространение термотолерантных актиномицетов исследовали в почвах пустынных степей Монголии, горно-луговой почве Центрального Кавказа, вулканических почвах на территории п-ва Камчатка (табл. 1) [27]. На поверхности пустынных почв образуется песчано-щебнистый «панцирь», который может нагреваться в дневное время до 40–60°C. Высокие температуры характерны для почв

горных и вулканических районов. Почвы, формирующиеся на камнях в ущельях Центрального Кавказа, разогреваются в дневное время до 40–50°C, вулканические почвы Камчатки вблизи горячих источников характеризуются температурой до 49°C. Таким образом, в исследуемых аридных, горных и почвах районов вулканической деятельности создаются условия, благоприятные для развития термотолерантных актиномицетов.

Численность актиномицетов в исследуемых пустынных, горных и вулканических почвах составляет от тысяч до сотен тысяч и миллионов КОЕ/г почвы. В вулканической дерновой почве кальдеры вулкана Узон количество актиномицетов достигает миллиона КОЕ/г почвы. Значительно меньшее количество актиномицетов обнаружено в слабозавитой слоисто-пепловой почве, покрытой цианобактериальными шлейфами. Численность термотолерантных актиномицетов в исследуемых разогреваемых почвах сопоставима с численностью мезофильных форм, а в некоторых почвах (например, серо-бурой пустынной почве Монголии) на 1-2 порядка превышает количество мезофильных мицелиальных бактерий [27, 28].

Термотолерантные актиномицетные комплексы исследуемых почв отличаются значительно большим таксономическим разнообразием по сравнению с мезофильными. В комплексах мезофильных актиномицетов в большинстве случаев доминируют стрептомицеты. Комплекс термотолерантных актиномицетов почв пустынных степей Монголии представлен родами *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Streptosporangium* и актиномицетами олигоспоровой группы, включающей роды *Actinomadura*, *Saccharopolyspora*, *Microtetraspora*, *Microbispora*, среди которых в бурых пустынных почвах доминируют представители рода *Actinomadura*. Термотолерантные микромоноспоры обнаружены во всех исследованных образцах пустынных почв Монголии в сопоставимых или равных со стрептомицетами долях в актиномицетном комплексе, а иногда и «вытесняя» стрептомицеты из комплекса. В горно-луговой почве Центрального Кавказа среди термотолерантных актиномицетов наблюдается доминирование родов *Micromonospora* (особенно в условиях повышенной влажности в ущелье Укю) и *Saccharopolyspora*.

Актиномицетные комплексы вулканических почв очень специфичны. В вулканической дерновой почве кальдеры вулкана

Таблица 1

Характеристика исследуемых периодически прогреваемых почв

Номер почвенного разреза	Название почвы	Горизонт, глубина отбора образцов, см	C %	pH	Район взятия образцов
1, 2, 3	Бурая пустынно-степная песчаная	Ад, 0-10	0,3	8-9	Монголия, Южный Гоби, Булган сомон
4	Серо-бурая пустынная	В1, 6-18	0,29	8-9	Южный Гоби, Ханбогд-Галдын Гоби
5	Остепнённо-пустынная лугово-светлобурая засоленная	Ад, 0-5	0,67	8,4	Южный Гоби, Номгон сомон
6	Остепнённо-пустынная светлобурая суглинистая	Ад, 0-2	0,2	7,9	Южный Гоби, Номгон сомон
7	Остепнённо-пустынная светлобурая засоленная	Ад, 0-3	0,2	7,9	Южный Гоби, Номгон сомон
8	Тапыровидная	К, 0-5	2,64	7,3	Южный Гоби, Номгон сомон
9	Остепнённо-пустынная лугово-бурая солончаковатая	Ад, 0-1,5	0,1	7,8	Восточно-Гобийский аймак, Улаанбадрах сомон
10	Горно-луговая	0-10	8,1	4,7	Центральный Кавказ
11	Вулканические	0-2	9,8	5-6	Камчатка, р-н Карымского вулкана; кальдера вулкана Узон

Узон, где численность актиномицетов достигает миллиона КОЕ/г почвы, стрептомицетов совсем не обнаружено, здесь среди термотолерантных актиномицетов абсолютно доминируют в комплексе представители рода *Saccharopolyspora*, среди мезофильных – представители рода *Micromonospora*. Выявлены специфические актиномицетные комплексы, например, в образце цианобактериального шлейфа термального поля, отобранном на слабо развитой слоисто-пепловой почве, мезофильные актиномицеты представлены исключительно родом *Microbispora*, а термотолерантные – родом *Micromonospora*. В образце гейзерита, отобранном из слабо развитой слоисто-пепловой почвы близ горячего источника в разрастаниях мха, термотолерантные актиномицеты по численности превосходят мезофильные формы, среди термотолерантных актиномицетов преобладают представители рода *Microtetraspora* [29].

Численность термотолерантных и термофильных актиномицетов в пустынных почвах Монголии (табл. 1) колеблется от тысяч до десятков миллионов КОЕ/г почвы в зависимости от типа почвы и оказывается сопоставимой с численностью мезофильных форм, чаще превышая последнюю (рис. 1, I).

Сравнение актиномицетных комплексов торфяных типичных почв на территории Дмитровского филиала Всероссийского НИИ сельскохозяйственного использования мелиорируемых земель (Московская обл.) с комплексами прогреваемых пустынных почв показало, что в холодных почвах численность термофильных и термотолерантных актиномицетов, в отличие от прогреваемых, не превышает десятков, редко сотен тысяч КОЕ/г почвы [30].

Из всех исследованных пустынных почв Монголии остепнённо-пустынные светлобурые и тапыровидная почвы характеризуются наиболее значительной численностью актиномицетов (до миллионов и десятков миллионов КОЕ/г). В актиномицетных комплексах этих почв значительную долю, превышающую долю мезофильных актиномицетов, составляют термотолерантные и умеренно термофильные актиномицеты (рис. 1, II).

Комплексы умеренно термофильных актиномицетов пустынных почв Монголии представлены родами *Streptomyces*, *Micromonospora* и актиномицетами олигоспоровой и спорангиальной групп, среди которых в комплексах доминируют термофильные представители рода *Actinomadura* и *Streptosporangium*. Микромоноспоры в актиномицетных комплексах

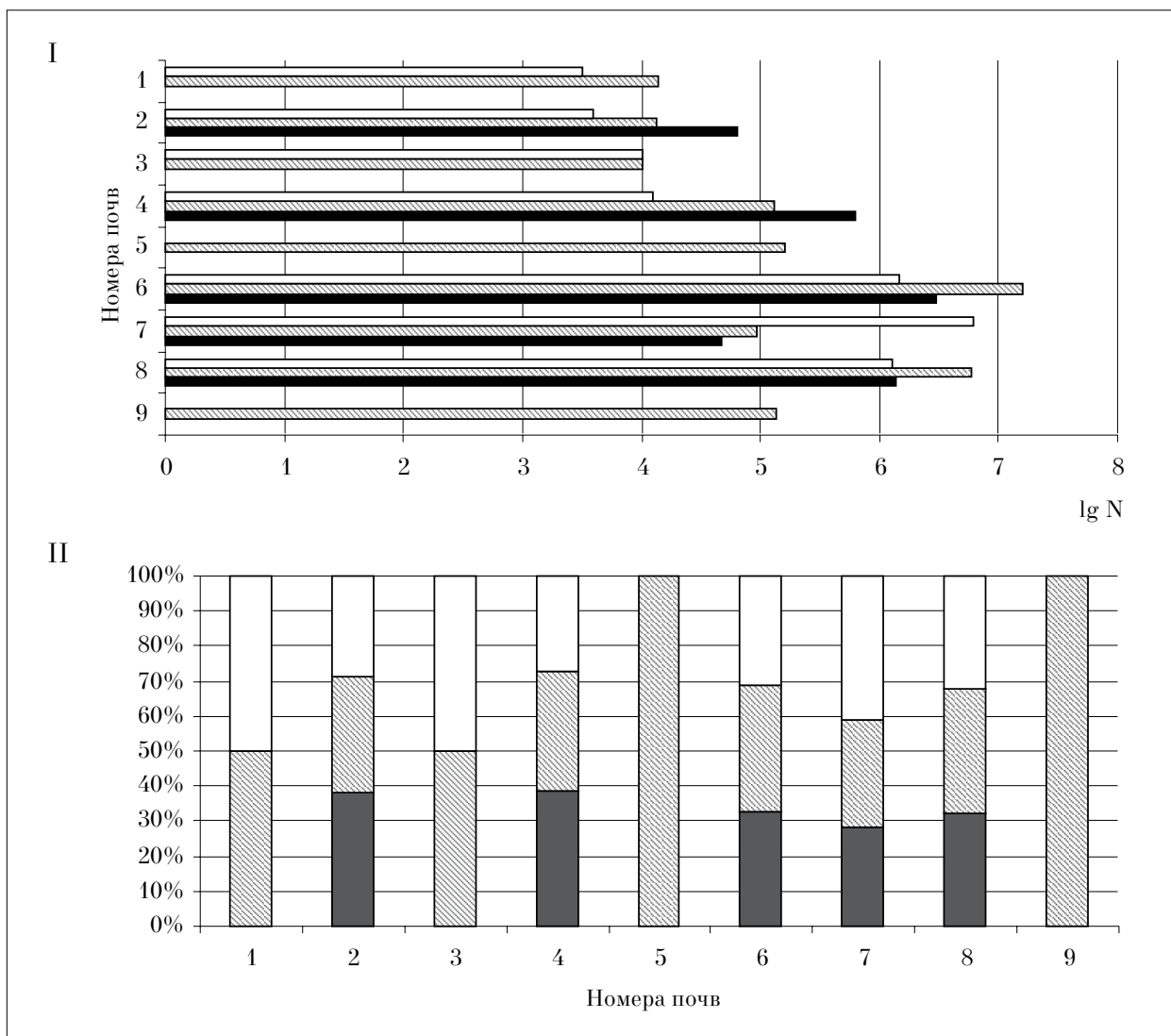


Рис. 1. Численность (I) и доля в актиномицетном комплексе (II) мезофильных, термотолерантных и термофильных актиномицетов в пустынных почвах Монголии

Примечание: здесь и на рис. 2: мезофильные актиномицеты – белые столбики; термотолерантные актиномицеты – заштрихованные столбики; термофильные актиномицеты – чёрные столбики.

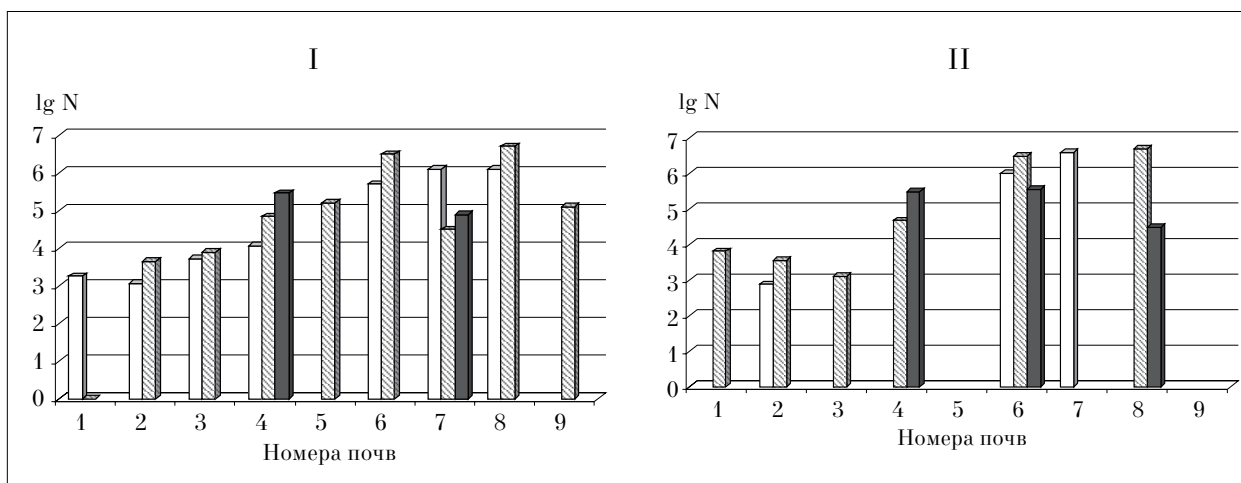


Рис. 2. Численность мезофильных, термотолерантных и термофильных представителей родов *Micromonospora* (I) и *Streptomyces* (II) в пустынных почвах Монголии

почти всех исследованных пустынных почв представлены в большинстве термотолерантными и термофильными формами (рис. 2, I).

Для стрептомицетов характерно присутствие как мезофильных, так и термофильных и термотолерантных форм (рис. 2, II).

Таксономическое разнообразие термотолерантных актиномицетов холодных торфяных почв ограничивается родами *Streptomyces* и *Micromonospora* [30].

Таким образом, в пустынных почвах Монголии в условиях иссушения и высоких температур формируются специфические актиномицетные комплексы, отличные от комплексов почвенных актиномицетов холодных влажных почв.

Наблюдения за динамикой развития мицелия в условиях микрокосма свидетельствуют о том, что термофильные актиномицеты (именно эти формы актиномицетов активно растут в почве при её инкубировании при 45°C) в исследованных почвах пустынно-степной зоны активно развиваются, размножаются, проходя полный цикл развития. Характер динамики длины мицелия и биомассы термотолерантных и мезофильных (активно растущих в почве при её инкубировании при 28°C) форм в ходе сукцессии, инициированной увлажнением исследованных почв, подобен. Величины длины мицелия и биомассы термофильных и мезофильных актиномицетов выражены значениями одного порядка, в конце опыта длина мицелия и биомасса термофильных актиномицетов снижаются более резко по сравнению с длиной мицелия и биомассой мезофильных форм. Длина мицелия термофильных актиномицетов колеблется в разных исследованных почвах от 100 до 240 м/г; мезофильных – примерно в тех же пределах. Биомасса термофильных актиномицетов в разных пустынных почвах достигает 14 мкг/г почвы, мезофильных – 11 мкг/г (рис. 3).

Исследование таксономического состава прокариотного микробного сообщества почв зоны пустынных степей методом *in situ*-гибридизации с рРНК-специфичными флуоресцентно-мечеными олигонуклеотидными зондами (FISH-fluorescent *in situ* hybridization) показало, что метаболически активные эубактерии, окрашенные по методу FISH, от общей биомассы бактерий составили значительную долю (от 18 до 59%) в прокариотном микробном комплексе большинства исследованных почв, инкубированных при 28°C; доля метаболически активных бактерий от общей массы бактерий в прокариотном микробном ком-

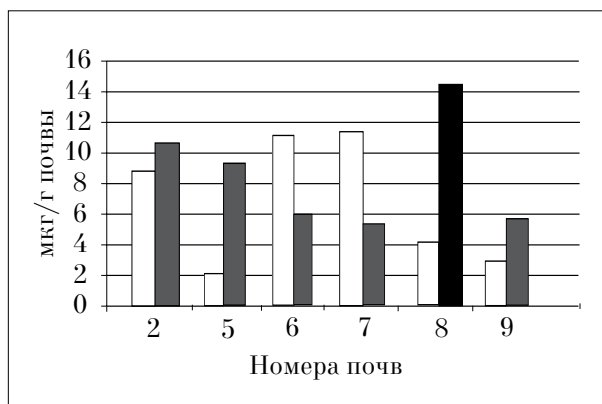


Рис. 3. Биомасса актиномицетов (мкг/г почвы) в пустынных почвах Монголии, инкубированных при 28°C (белые столбики) и при 45°C (чёрные столбики)

плексе исследованных почв, инкубированных при 45°C, составила от 25 до 82%. Только в единичных случаях (в остепнённо-пустынных бурых засоленных почвах) доля метаболически активных эубактерий составляет не более 10% от всех бактерий. Доля метаболически активных представителей группы *Actinobacteria* среди других представителей домена *Bacteria* в прокариотном микробном комплексе исследованных почв возрастает с увеличением температуры инкубирования почвы от 28 до 45°C, достигая в некоторых почвах более 70%.

Установлено, что среди метаболически активных представителей филогенетической группы *Actinobacteria* всех исследованных почв преобладают мицелиальные формы (рис. 4).

Анализ полимеразной цепной реакции (ПЦР) продуктов амплифицированного 16S гена суммарной ДНК, выделенной из остепнённо-пустынной светлобурой почвы, и ДНК чистых культур – представителей рода *Streptomyces* на основе денатурирующего градиентного геля электрофореза (DGGE – метод) позволил получить спектр сиквенсных типов, сходных с группой *Actinobacteria* как одноклеточных, так и мицелиальных, что подтверждает наши данные, полученные методом посева и молекулярным методом FISH.

Выделенные из пустынных почв культуры стрептомицетов с помощью расчёта радиальной скорости роста колоний классифицировали по их температурным предпочтениям. Выявлены мезофильные актиномицеты с оптимальной величиной скорости роста колоний при 28°C и растянутым температурным диапазоном роста (5–37°C), не растущие при 45°C; термотолерантные актиномицеты, характеризующиеся оптимальной радиальной скоростью роста колоний при 37°C, растущие при

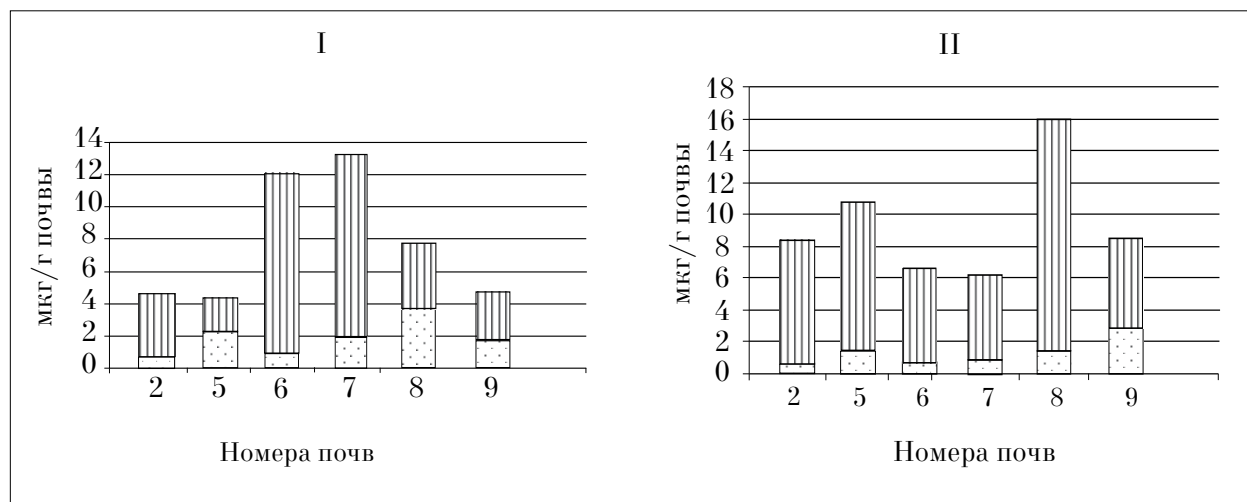


Рис. 4. Соотношение биомасс метаболически активных мицелиальных (заштрихованные столбики) и одноклеточных (пунктирная штриховка столбиков) представителей группы *Actinobacteria* в прокариотных микробных сообществах пустынных почв Монголии, инкубированных при 28°C (I) и 45°C (II)

45°C, диапазон роста которых лежит в области 20°–50°C. К термофильным актиномицетам отнесен штамм 315-1, выделенный из серобурой пустынной почвы Монголии, по фенотипическим признакам и сиквенсу 16S рРНК близкий к *Streptomyces albogriseolus*. Штамм 315-1 характеризуется максимальным значением радиальной скорости роста колоний при 45°C, хорошо растёт при 50°C и 37°C, слабо растёт при 28°C.

Таким образом, исследование актиномицетных комплексов в почвах зоны пустынных степей Монголии, периодически разогревающихся до высоких температур, характеризующихся прерывистым режимом увлажнения и поступления доступных питательных веществ, позволило заключить, что актиномицетные комплексы этих почв специфичны, отличаются от комплексов почв холодных и влажных районов преобладанием термотолерантных и термофильных актиномицетов над мезофильными, таксономическим разнообразием термотолерантных и термофильных форм. В пустынных почвах актиномицеты имеют преимущества перед одноклеточными бактериями и составляют в этих почвах основу гидролитического блока прокариотных организмов. Способность актиномицетных спор прорасти при очень низком давлении влаги в среде обитания (-96,4 МПа, a_w 0,50) [31] создаёт преимущество мицелиальным бактериям перед одноклеточными в условиях засухи, мало пригодных для активности немцелиальных бактерий. В почвах аридной зоны термотолерантные ксерофильные актиномицеты активно растут, образуют мицелий,

доля метаболически активных мицелиальных форм актинобактерий превышает долю одноклеточных актинобактерий. Очевидно, термотолерантные и термофильные актиномицеты составляют неотъемлемую часть сапротрофного микробного блока, принимающего участие в разложении и синтезе гумусовых веществ и создании почвенного плодородия в пустынных почвах Монголии.

Адаптации микроорганизмов к низким температурам

Первые упоминания о психрофильных организмах относятся к 1884 г. [13]. Для обозначения психрофильных бактерий использовались разные термины: термофобы, ригофилы, психрофобы, гляциобактерии и др. [13]. Впервые Форстер выделил психрофильную бактерию из рыбных консервов, а до него в сороковых годах XIX века во время экспедиции в Антарктику были замечены психрофильные водоросли в куске льда [4].

Термин «психрофилы» был предложен Шмидтом-Нильсеном в 1902 г. для бактерий, способных жить при 0°C [32]. Для более сложно организованных биологических видов (например, для полярных рыб), обитающих в холодных условиях, используется термин «криофилы» [13], хотя иногда [33] применяют термин «психрофилы» как к прокариотам, так и к эукариотам. Среди микроорганизмов, способных к росту при низких температурах, выделяют две группы – облигатные психрофилы и факультативные психрофилы, различающиеся по своим экологическим нишам и меха-

низмам адаптации к холоду. Основное различие заключается в том, что облигатные психрофилы не способны к росту при температуре выше 20°C, в то время как верхняя температурная граница роста факультативных форм намного выше. Но чёткого разделения между этими группами нет. Существование двух типов психрофилов объясняется особенностями их мест обитания. Облигатные психрофилы приспособились к устойчивым холодным условиям (глубины морей и океанов, ледяные пещеры), факультативные же – к обитанию в неустойчивых холодных условиях, что делает их более распространёнными по сравнению с первыми [11, 18]. Например, на поверхности льда, который в дневное время может значительно нагреваться (до 28°C), обнаруживаются именно психротолерантные формы, а истинные психрофилы существовать не могут [13].

Психрофилы – организмы, оптимальная температура для роста которых составляет 15°C и ниже, а максимальная – не превышает 20°C, хотя при этом они могут размножаться при значениях близких к нулю. Психротолеранты, хотя и могут расти при низких температурах, оптимум роста имеют при 20°C и выше. При этом оговаривается условность границы в 20°C в связи с тем, что температура в лабораторных условиях равна приблизительно 21–22°C [13].

Психротолерантные актиномицеты иногда называют психротрофами [34]. Поскольку термин «трофия» обычно используется, когда речь идёт о питательных субстратах, то во избежание путаницы в литературе чаще используют термин психротолерантные организмы для обозначения мезофильных видов, способных адаптироваться к низким температурам [35].

В соответствии с концепцией экологической толерантности, согласно которой каждый экологический фактор, воздействующий на организм, имеет максимальные и минимальные границы действия, в пределах которых организм может к нему адаптироваться, были предложены два новых термина: «стенопсихрофилы» и «эврипсихрофилы» для обозначения микроорганизмов с ограниченным интервалом температур (истинные психрофилы) и микроорганизмов, толерантных к более широкому интервалу значений температур (психротрофы и психротолерантные) соответственно [33].

Принципиальной чертой психрофильных организмов считается способность к росту при 0°C и минусовых температурах, а подгруппы

выделяются по ширине так называемой экологической валентности и оптимумам роста.

Бактерии, получившие название экстремальных психрофилов, хорошо растут при температуре –10°C в микроскопических водных «карманах» на границах раздела между льдом и морской водой. Температурный диапазон роста психрофильных бактерий, выделяемых из почвы, значительно шире, чем психрофилов, выделенных со дна моря, где постоянная температура 5°C [36].

Для отнесения микроорганизма к одной из этих температурных групп недостаточно пользоваться только скоростью роста как критерием для определения оптимальной температуры. Например, некоторые морские бактерии Антарктики быстрее всего растут в интервале температур 20–25°C, однако при этих значениях у них уменьшается синтез некоторых экзоферментов и снижается общее число жизнеспособных клеток. В связи с этим было предложено использовать новую кардинальную температуру – температуру оптимальной активности T_{OA} (*temperature of optimal activity*) [2].

Традиционно считалось, что мицелиальные бактерии не являются чемпионами устойчивости в отношении многих абиотических факторов и не могут развиваться при низких температурах. В определителях бактерий [37] и актиномицетов [38] отсутствуют сведения о возможных температурных границах роста актиномицетов. В литературе имеются лишь отдельные попытки систематизировать мицелиальные бактерии по их температурным предпочтениям [19]. Среди актиномицетов выделены факультативные психрофилы – организмы, растущие при 0°C с оптимумом роста от 10 до 28°C и плохо растущие при 37°C; умеренные психрофилы – организмы, хорошо растущие при 0°C, имеющие оптимум роста от 10 до 20°C и не растущие при 37°C; истинные психрофилы – организмы, растущие при 0°C (оптимум роста отмечен при 10–14°C) и не растущие при 28°C.

Разделение организмов на психрофильные и психротолерантные условно [39]. В большинстве случаев для разделения психрофильных и психротолерантных форм используют инкубирование культур при 4 и 20°C. Психротолерантные культуры не растут при 4°C, тогда как для психрофилов эта температура является оптимальной. Условность разделения психрофилов и психротолерантов подтверждается исследованиями роста представителей рода *Arthobacter* [40], которые показали, что длительность лаг-фазы при 0°C и скорость

роста у мезофильных и психрофильных представителей чётко не различаются.

Механизмы адаптации микробов к низким температурам

Психрофильные и психротолерантные бактерии используют различные стратегии для адаптации к низким температурам. Главная стратегия, которая является решающей для выживания клетки при низкой температуре, связана со способностью регулировать текучесть мембран с помощью изменения состава жирных кислот. К другим стратегиям относятся: изменение основных липидов, белкового состава мембраны, типа синтезируемых каротиноидов, длины цепи жирных кислот и пропорции цис- и трансизомеров кислот [2]. У психрофильных бактерий есть двухкомпонентный аппарат трансдукционного сигнала: сенсор, связанный с мембраной, и растворимый цитоплазматический рецептор для получения сигнала о низкой температуре [41]. Некоторые психрофилы, обитающие в морях, способны синтезировать ненасыщенные трансжирные кислоты, являющиеся протекторами от тяжёлых металлов и токсических органических веществ [4]. Психрофилы и психротрофы содержат короткоцепочечные, ненасыщенные, разветвлённые или циклические жирные кислоты. В общем случае, понижение температуры культивирования психрофилов увеличивает долю ненасыщенных фосфолипидов и нейтральных липидов для поддержания текучести мембраны при низкой температуре, укорачивается и длина цепей в фосфолипидах [13], вырабатываются в больших количествах каротиноиды [33]. Предположительно в роли клеточных сенсоров выступают цитоплазматическая мембрана, нуклеиновые кислоты и рибосомы, изменения которых являются ключевым моментом в процессе адаптации к охлаждению [32].

Ответом на низкотемпературное воздействие является синтез специфических белков, получивших название белков холодового шока, или CSP-белков (cold shock protein) [2, 6]. Они синтезируются постепенно в течение роста при низкой температуре, и их количество увеличивается при возрастании шока [4]. Особенность высокой активности этих белков заключается в том, что они способны снижать энергию активации многих реакций [5]. Каталитическая способность ферментов психрофилов выше таковой у мезофилов, что позволяет говорить о биотехнологическом потенциале

ферментов психрофилов в качестве энергосберегающих веществ [33]. По мере дальнейшего снижения температуры в клетках начинает образовываться лёд, и это вызывает гибель бактерий. При образовании льда вокруг клеток концентрируются соли, что приводит к локальному повышению осмотического давления, инициирующего адаптацию к осмотическому стрессу. В результате при очень низких температурах у некоторых микроорганизмов происходит накопление совместимых осморегуляторных веществ, защищающих клетки от повреждения льдом. Отдельные бактерии обладают способностью регулировать образование льда благодаря наличию центров его кристаллизации в белках наружной мембраны (например, *Pseudomonas syringae*). Преимущество в этом случае даёт упорядоченность структур льда, образующихся при кристаллизации с участием этих белков, поскольку такие структуры значительно слабее повреждают клетки [2]. Низкие температуры замедляют и ингибируют химические реакции, катализируемые ферментами, снижается текучесть мембран и стабилизация вторичных структур РНК и ДНК, что сказывается на процессах трансляции, транскрипции и репликации [42]. Предполагается, что в роли клеточных сенсоров выступают цитоплазматическая мембрана, нуклеиновые кислоты и рибосомы, изменения которых являются ключевым моментом в процессе адаптации к охлаждению. Отмечено увеличение транспорта некоторых совместимых растворимых веществ (бетаина, пролина, карнитина), что может свидетельствовать о связи между осмопротекцией и адаптацией к низким температурам.

При воздействии низких температур в бактериальной клетке происходят изменения, которые направлены на поддержание текучести мембраны [43]. Однако, поскольку прокариоты не имеют стеринов, они не могут использовать механизм регуляции текучести мембран, который широко применяется у эукариот и заключается в изменении соотношения фосфолипид/стерин в составе мембран. Поэтому прокариотам приходится использовать более сложные механизмы регуляции липидного состава. Чаще всего при снижении температуры возрастает доля ненасыщенных жирных кислот и/или уменьшается длина углеродной цепи жирнокислотного компонента липидов. Так, например, у *Micrococcus cryophilus* при изменении температуры контролируется соотношение C_{18}/C_{16} жирных кислот. Хотя во многих случаях возможно сочетание нескольких

регуляторных факторов. Интересные данные были получены при сравнении жирных кислот из мембран ряда бактерий, найденных в Антарктике. Оказалось, что у психротрофов чаще наблюдались насыщенные короткоцепочечные или ненасыщенные жирные кислоты. У психрофилов в мембранах преобладали разветвлённые жирные кислоты. Установлено, что длина цепи и степень насыщенности сказываются на температуре плавления жирных кислот, что прямо связано с текучестью мембраны [5].

Для адаптации ферментов возможны два пути: синтез большого числа ферментов или синтез ферментов, эффективно действующих при низких температурах. Разница в действии температуры на активность психрофильных и мезофильных форм проявляется в трёх основных характеристиках [44]: 1. Психрофилы синтезируют ферменты с большей специфической активностью; 2. Максимальная активность ферментов, адаптированных к холоду, сдвинута в область низких температур, что отражает их слабую термостабильность; 3. Адаптация, вероятно, не завершена, так как специфическая активность мезофильных ферментов при температурах, близких к 0°C, в целом ниже, чем активность мезофильных ферментов при характерной для них температуре.

Таким образом, общая стратегия организмов заключается в синтезе адаптированных к холоду психрофильных ферментов с повышенной каталитической эффективностью [45].

Психрофильные ферменты, как правило, имеют высокую каталитическую эффективность, связанную с низкой температурной стабильностью. В большинстве случаев адаптация к холоду достигается через редукцию энергии активации, что происходит из-за повышенной гибкости или в определённой области белковой молекулы, или всей белковой структуры [46]. Эта увеличенная пластичность приводит к слабой термостабильности психрофильных ферментов. Следует отметить, что аминокислотные остатки активных сайтов, включённые в реакции, высоко консервативны между гомологичными ферментами, адаптированными к разным температурам, т. е. молекулярные изменения, ответственные за адаптацию к холоду, расположены в других участках молекул. Общая черта психрофильных ферментов – это их низкая конформационная стабильность. Анализ трёхмерных структур способствовал выявлению тех структурных факторов, которые вовлечены в адап-

тацию к холоду и, возможно, ответственны за низкую термостабильность [33]. К таким факторам относятся: увеличенное число и кластеризация остатков глицина; снижение остатков пролина в петлях; редукция остатков аргинина, способного формировать множественные электростатические взаимодействия и водородные связи; снижение числа ионных пар, ароматических взаимодействий, гидрофобных взаимодействий и ионных связей по сравнению с мезофильными гомологами.

Видимо, каждый белок использует несколько из этих структурных изменений для того, чтобы достичь требуемой гибкости при определённых температурных условиях. Предполагается, что психрофильные ферменты должны увеличивать свою пластичность для того, чтобы катализировать реакции при низких температурах, и увеличенная пластичность в целом генерируется низкой стабильностью белковой структуры. Этот баланс между гибкостью и пластичностью представляет один из важнейших моментов в адаптации белка к окружающей температуре. Хотя следует упомянуть, что гибкость белка, особенно связанная с активностью и/или стабильностью молекулы, является пока трудноопределяемым параметром. И прежде всего требуется установить, какой тип гибкости необходим для улучшения активности. Из анализа ряда психрофильных ферментов следует, что высокая специфическая активность связана с низкой стабильностью фермента. Однако анализ термостабильности свидетельствует о том, что стратегия адаптации, которая ведёт к нестабильности белка, может быть разной. Так, анализ фосфоглицеринкиназы из штамма *Pseudomonas*, изолированного в Антарктике, показал, что фермент состоит из температуролабильного и температуростабильного доменов [47]. Авторы предположили, что температуролабильный домен даёт необходимую гибкость в области каталитического центра и обеспечивает скорость реакции путём редукции энергетических затрат, а температуростабильный домен может обеспечивать достаточное связывание субстрата как результат его ригидности. Таким образом, в данном типе стратегии присутствует компромисс между необходимостью увеличить специфическую активность при низких температурах и необходимостью сохранять высокое сродство к субстрату. Можно сказать, что термолабильность является следствием улучшения пластичности, необходимой в области каталитического центра. Адаптированные к низким температурам

ферменты требуют определённой гибкости структурных элементов, включённых в каталитическую активность, в то время как другие регионы, не вовлечённые в катализ, остаются достаточно ригидными. Безусловно, надо учитывать, что в природе эволюция таких ферментов происходила в результате действия на организмы не только температуры, но и других экологических факторов среды, поэтому целый комплекс физических и химических параметров привёл к адаптации белковых молекул.

Трегалоза и экзополисахариды также выполняют важные функции в криопротекции психрофилов [48]. Считают, что трегалоза способствует прерыванию денатурации и агрегации белков. Экзопалисахариды найдены в морских бактериях, изолированных в Антарктиде. Подобные физико-химические модификации окружения бактерий способствуют адгезии клеток к поверхностям и удерживанию воды, обеспечивая благоприятную изоляцию микроорганизмов и концентрирование питательных компонентов, сохраняют и защищают внеклеточные ферменты от денатурации и действуют как криопротекторы [49].

Белки холодового шока с молекулярной массой около 7 кДа выявляются у разных видов грамположительных и грамотрицательных бактерий [50, 51].

Два холодоустойчивых штамма (психротрофы) сравнивали со слабо приспособленным к холоду штаммом и с холодочувствительным (контрольный штамм) по их выживаемости при замораживании, образованию белков и составу жирных кислот при низкой температуре. При холодовом шоке (от 25° до 10°, 5° и 0°С) во всех штаммах продуцировался обычный (6,1-кДа) белок холодового шока, но количество белков холодового шока, синтезированных при 0°С, было выше в холодоустойчивых штаммах. Выживаемость через 24 часа при экспозиции -80°С была выше у холодоустойчивых (79%) и слабо приспособленных к холоду (64%) штаммов, чем у холодочувствительного (33%), но после 2-часового периода акклиматизации при 5°С перед замораживанием выживаемость холодочувствительного штамма увеличилась в 2 раза. Низкие температуры приблизительно одинаково влияли на состав жирных кислот во всех штаммах, независимо от уровня их приспособленности к холоду. Количество ненасыщенных жирных кислот значительно увеличивалось при уменьшении температуры культивирования от 25 до 5°С, но была выявлена тенденция к сокращению количества ненасыщенных жирных кис-

лот после холодового шока от 25 до 5°С. Специфическая ненасыщенная жирная кислота, цис-12 октадекановая, продуцировалась во время роста организмов при 5°С [52].

Температурный диапазон роста психрофильных бактерий, выделяемых из почвы, значительно шире, чем психрофилов, выделенных со дна моря, где постоянная температура 5°С [19]. Верхний температурный предел роста психрофилов определяется обратимой инактивацией некоторых жизненноважных реакций. Нижний предел роста мезофилов – прекращение транспорта субстратов [53].

Большая часть земной биосферы лежит в области холодных температур. Около 14% земной поверхности занимают полярные регионы, 70% занято океаном, температура которого относительно постоянна и колеблется в пределах 4–5°С. Понятно, что организмы, обитающие в океане и являющиеся барофилами, в большинстве своём психрофилы или психротрофы [13]. Даже в самых холодных формах льда между кристаллами остаётся жидкая вода. Из изученных форм льда температура самой холодной, содержащей живые бактерии внутри жидкой фазы, -20°С. Даже в модификации льда-VI (в ней твёрдая фаза тяжелее жидкой), которая не может существовать в земных условиях и может быть получена лишь в лаборатории при действии высоких давления и температуры, возможно поддержание жизни таких бактерий, как *Escherichia coli*. Причём, как показало микроскопирование, местообитание микроорганизмов независимо от модификации льда приурочено именно к «венам» из жидкой фазы, прорезающей твёрдую.

В этих «венах» повышено содержание солей. В итоге получается, что создаются условия повышенного давления, повышенного содержания солей и пониженной температуры, а организмы, обитающие в данных условиях, относятся по каждому из параметров соответственно к группе барофилов, галофилов и психрофилов. Для организмов, обитающих в среде с подобными сочетаниями условий, ввели термин «эвтектофилы» [5].

Психрофилы – хозяева вечнохолодных местообитаний [6]. В основном изучались психрофильные организмы океанических и материковых вод, что делает актуальными выделение и изучение именно почвенных актиномицетов.

Психрофилы широко распространены в природе, поскольку они формируют постоянные микробные сообщества регионов вечно холода, полярных регионов и океанов [5]. Температура почв в разных природных зонах

резко отличается. Почвы в зонах с холодным и умеренным климатом в течение длительного времени находятся при очень низких температурах, во многих почвах температура вообще не поднимается выше 5–10°C, т. е. все микробиологические процессы должны идти при температурах гораздо более низких, чем те, которые обычно используются при выращивании почвенных организмов в лабораторных условиях (20–28°C) [54].

Психрофильные и психротрофные микроорганизмы встречаются в природных местообитаниях и пищевых продуктах. В природных микробных экосистемах психрофилы и психротрофы играют важную роль в расщеплении органического вещества в холодное время года [34]. Установлено, что интенсивность развития исследуемых почвенных микроорганизмов в почве и воде при снижении температуры замедляется, снижается и количество видов, способных к развитию. Грибы менее чувствительны к низким температурам, чем бактерии, а актиномицеты занимают промежуточное положение между грибами и бактериями [55].

Психротолерантные комплексы актиномицетов в почвах тундры и тайги

Сведений о психрофильных и психротолерантных актиномицетах в научной литературе очень мало. Большинство сообщений относится к исследованию океанических вод. Истинные психрофильные актинобактерии в наземных экосистемах редки, чаще их выделяют из водных экосистем.

Актиномицеты обнаружены во льдах Антарктиды на глубине 3590 м в озере Восток [56]. Из вод фьорда Трондхейм (Trondheim Fjord) в Норвегии выделены актиномицеты рода *Streptomyces*, активно разлагающие целлюлозу и являющиеся продуцентами антибиотиков. Три штамма имели температурную зону роста от 0 до 25–28°C, один штамм рос при температуре 20°C, авторы называют его психрофильным [57]. Из воды и льда южных океанических морей выделены баротолерантные и психрофильные представители рода *Micromonospora* и *Rhodococcus* [35].

Из вод озера Хоаре в Антарктиде были выделены восемь штаммов хемоорганотрофных бактерий, относящихся к группе *Actinobacteria*. Все изоляты росли при 0°C, и все, за исключением одного, растут при температуре ниже 0°C. Среди изолятов оптимальная температура роста варьирует, но в основном составляет

15°C. Один из выделенных изолятов – истинный психрофил: оптимум роста около 10°C и диапазон роста не превышает 20°C. У одного штамма максимальная температура роста равна 40°C, но даже в этом случае рост возможен и при температуре ниже нуля. Доминирование в озёрах психротолерантных, а не психрофильных актиномицетов свидетельствует о молодом возрасте этих озёр по сравнению с другими холодными местообитаниями микроорганизмов, таких, как морские осадки, где психрофилов больше [58]. Из льдов Антарктики было выделено 769 актинобактерий, из которых 65% составили стрептомицеты. Встречались также и редкие роды *Streptosporangium*, *Micropolyspora*, *Actinomadura*, *Microbispora*, *Nocardia*, *Elytrosporangium* и т. д.

Новый род *Modestobacter multiseptatus* gen. nov., sp. nov. психрофильных актиномицетов выделен из почв Трансантарктических гор [59]. Из образцов морены региона Антарктики выделены актиномицеты нового вида *Pseudonocardia antarctica* sp. nov. [60]. Исследования функциональных особенностей психрофильных и психротолерантных актинобактерий показали, что многие из них обладают способностью выделять внеклеточные ферменты. Из бореальных грунтовых вод Финляндии выделены две культуры актинобактерий, идентифицированные как *Subtercola frigormans* sp. nov. и *Subtercola boreus* gen. nov., sp. nov. Их рост наблюдался при температуре ниже 2°C с оптимумом 15–17°C. При 30°C рост отсутствовал [61].

Из шерсти животных выделен новый род психрофильных актинобактерий *Frigobacterium faeni* gen. nov., sp. nov. семейства *Microbacteriaceae*, растущих в температурном диапазоне 2–10°C [62].

Существуют лишь разрозненные сведения об обнаружении психрофильных актиномицетов в почвах [63]. Так, отмечалось, что в почвенных образцах, собранных в альпийских луговых экосистемах, обнаружены психрофильные актиномицеты, принадлежащие к родам *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Nocardia*, *Promicromonospora*. В условиях холодного климата в Китае среди почвенных актиномицетов преобладают представители рода *Streptomyces*. Среди психрофильных актиномицетов, выделенных из лесных и луговых почв юго-восточного Тибета, обнаружены представители рода *Actinosynnema* [64]. Из почв провинции Хиндзианг Китая выделен и описан новый вид психротолерантного стрептомицета, получивший название *Streptomyces*

beijiangensis sp. nov. [65]. Среди почвенных психрофильных актиномицетов в Китае представители рода *Streptomyces* (58%) преобладают над нокардиоформными актиномицетами (30%) и *Micromonospora* (12%) [19].

Главным компонентом целлюлозолитического бактериального сообщества в сфагновом торфе оказались представители филогенетической группы *Actinobacteria*, способные развиваться в кислых условиях и не требующие связанного азота. Их численность в варианте сукцессии образца сфагнового торфяника без обогащения Р и N увеличивалась на 2,5 порядка и составляла около трети от числа всех идентифицированных бактерий [66].

В Антарктических почвах актиномицеты встречаются редко. Тем не менее методом посева были выделены актиномицеты рода *Streptomyces*. Культуры выделялись из почв при 4°C. Многие штаммы образовывали внеклеточные ферменты и поверхность гликолипидной природы. Один из штаммов образует три антибиотика [67].

Из антарктического цианобактериального мата выделена оранжево-пигментная бактерия *Kokuria polaris*. Культура растёт в тем-

пературных границах от 5 до 30°C с оптимумом 20°C [68].

Исследование психрофильных антарктических культур открывает новые горизонты в энзимологии и биотехнологии. Ротшильд и Манчинетти [69] считают, что ферменты психрофильных культур действуют как высушивающие детергенты при биоремедиации вод, следующих за масляными полосами при низких температурах.

Психрофильные актиномицеты, среди которых преобладали стрептомицеты, были выделены из бедных, холодных и сухих почв Юннаня (Китай) [70]. Мезофильные и психрофильные актиномицеты (88 и 12% соответственно) были выделены из 220 образцов почв Шангри-Ла. Многие актиномицеты оказались продуцентами ферментов [71]. Исследования почв Полярного и Бореального географических поясов (табл. 2) [72] показало, что при инкубировании посевов из почвы при 5°C психротолерантные актиномицеты выявляются не во всех горизонтах тундровых почв, чаще из нижних. Численность психротолерантных актиномицетов, выделяемых на плотной питательной среде при ин-

Таблица 2

Характеристика исследуемых тундровых и таёжных почв

Название почвы, профиль или глубина взятия образца (см)	Район взятия образца	Среднегодовая температура почвы на глубине 20 см	Сумма активных температур почвы выше 10°C на глубине 20 см
Торфяно-криозём типичный ТО-Т1-BCg	Типичная тундра Центральный Ямал	от -12° до -8°	400°
Криозём грубогумусный глееватый ТО-Т1-А-ВG	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 окрестности г. Надыма	от -8° до -4°	400-1200°
Подзол гипсовый петрозём серогумусовый турбированный (0-5)	Северная тайга Чугский заповедник Архангельская обл.	от 4° до 8°	1200-2000°
Пелозём гумусовый глеевый (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 Западновинский р-н Тверской обл.	от 4° до 8°	1200-2000°

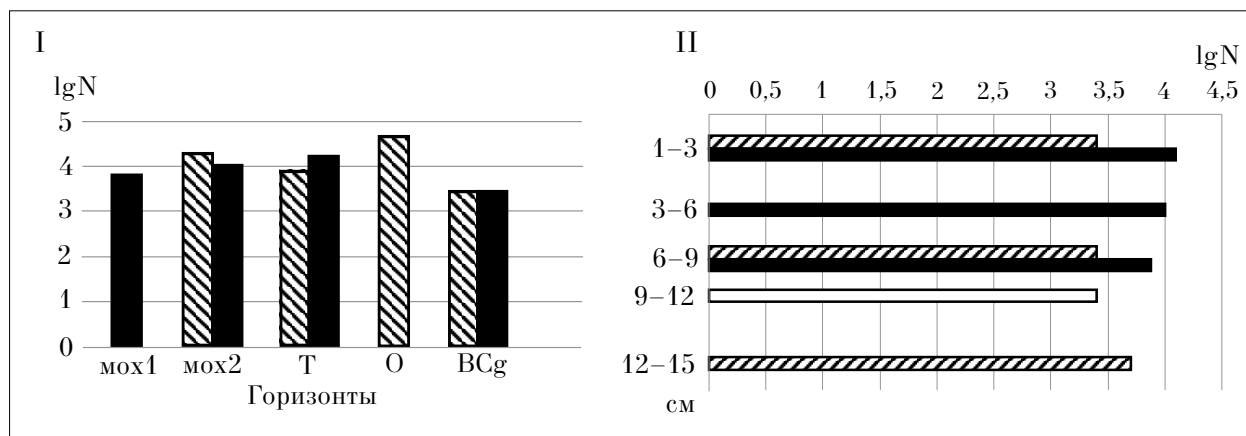


Рис. 5. Численность психротолерантных актиномицетов, выделенных из торфяно-криозёма типичного (I) и криозёма грубогумусного глееватого (II) при 5°C (белые столбики) и 20°C (заштрихованные столбики), и мезофильных актиномицетов, выделенных из этих почв при 28°C (чёрные столбики)

кубировании посевов при 20°C, сопоставима с количеством мезофильных форм (выделяемых при 28°C) (тысячи и десятки тысяч КОЕ/г субстрата) (рис. 5).

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 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°C в летний период. Почвенный профиль пелозёма имеет мощность 3-5 см и состоит из верхнего горизонта подстилки, гумусового горизонта и нижнего оглеённого горизонта.

Низкие температуры пелозёмов способствуют развитию в них психротолерантных актиномицетов в количествах тысяч и сотен тысяч КОЕ/г субстрата (рис. 6, 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 подзола железистого Большого Соловецкого острова (рис. 6, II). Психротолерантные актиномицеты составляют значительную часть актиномицетного комплекса (а иногда и целиком комплекс) в лесных подстилках этой почвы.

Для наблюдения за динамикой длины актиномицетного мицелия были выбраны две контрастные по температурным условиям почвы: глее-слабоподзолистая с отрицательными среднегодовыми температурами и олиготрофная торфяная с положительными температурами, не превышающими 10°C [72]. При инкубировании посевов при 5°C 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°C, 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°C, мицелий актиномицетов растёт и развивается. В торфяной почве при 5°C 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 ме-

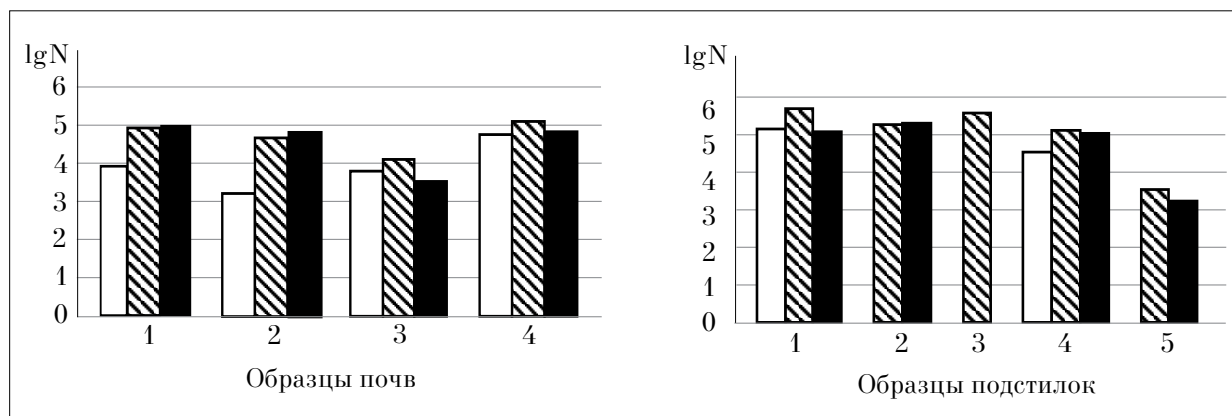


Рис. 6. Численность психротолерантных и мезофильных актиномицетов, выделенных при разных температурах из пелозёмов гумусовых глееватых (I) и лесных подстилок подзолов иллювиально-железистых (II). Обозначения см. рис. 1.

тодом гибридизации *in situ* с помощью 16S рРНК специфичных олигонуклеотидных зондов, определяющих представителей филогенетической группы *Actinobacteria*, показало, что в сообществах исследуемых почв метаболически активные мицелиальные актинобактерии составляют большую долю по сравнению с одноклеточными, что особенно заметно в подстилке кедрового леса на подзоле железистом (рис. 7) [72].

В результате проведённых исследований выделены культуры актиномицетов. Все они отнесены к разным видам рода *Streptomyces*. Для штаммов 5-4-1 и мох 18 проведено определение фенотипических признаков и секвенирование гена 16S рРНК и показано сход-

ство штамма 5-4 со *Streptomyces beijiangensis*, новым видом психротолерантного стрептомицета, выделенного из почв Китая [65], а штамма мох 18 – со *Streptomyces parvus*.

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°C, различен. Мезофильный стрептомицет *Streptomyces tenebrarius* шт. 3 А, выделенный при 28°C, растёт в диапазоне температур от 12 до 45°C, оптимум роста отмечен при 28°C. Психротолерантные стрептомицеты *S. wedmorensis* шт. Н-5-2, *S. xanthochromogenes* шт. Н-5-1; *S. helveticus* шт. 8-5-3, шт. 8-5-2,

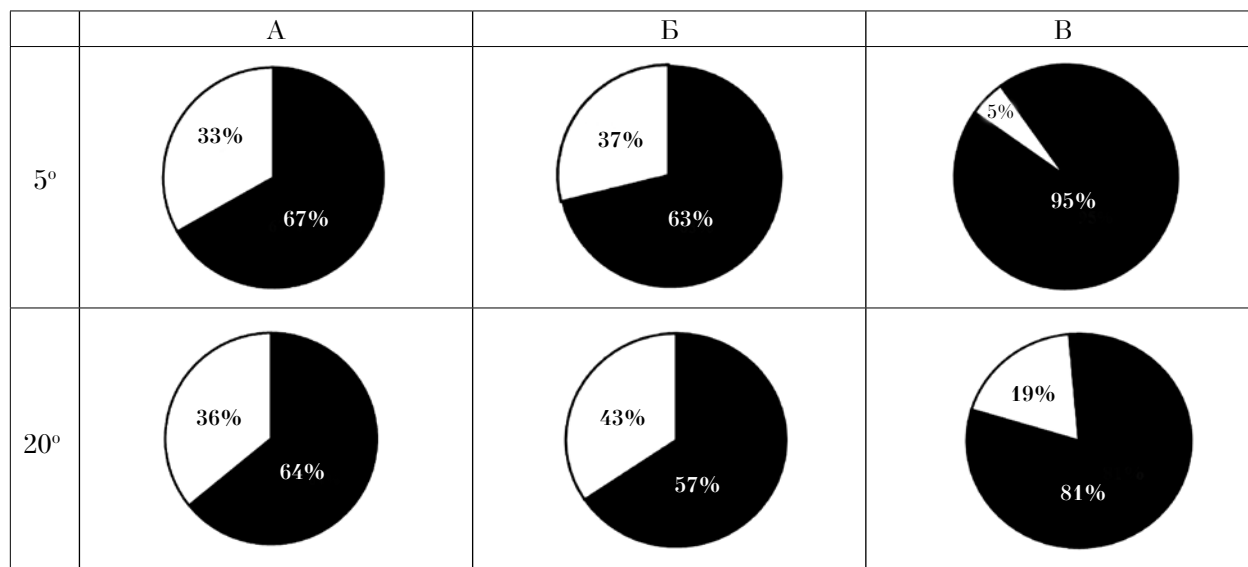


Рис. 7. Соотношение биомасс метаболически активных мицелиальных (чёрные сегменты) и одноклеточных (белые сегменты) представителей филогенетической группы *Actinobacteria* в прокариотном микробном сообществе органогенных горизонтов исследуемых почв: А – глее-слабоподзолистой, Б – торфяной олиготрофной, В – лесных подстилок подзолов иллювиально-железистых

S. aburaviensis шт. Н-5-6, *S. caeruleus* шт. Н-5-4, выделенные при 5° или 20°C, растут в диапазоне температур от 5 до 37°C. Максимальная величина радиальной скорости роста колоний отмечена при 20°C. *Streptomyces beijiangensis* шт. 5-4-1 и *S. aburaviensis* шт. Н-5-6, выделенные при 5°C из почвы, имеют диапазон роста от 2 до 28°C. Оптимум роста отмечен у этих культур при 5°C, по классификации психрофильных актиномицетов [19] 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°C и проходит полный цикл развития от споры до образования колоний с субстратным, воздушным мицелием и цепочками спор. При 5°C 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°C, 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 родов *Aquaspirillum*, *Bacteroides*, грибам родов *Fusarium*, *Penicillium* и грибам *Mucor riemalis*, *Cladosporium herbarum*; у психротолерантных актиномицетов отмечена пектинолитическая и амилитическая активность.

Таким образом, в северных почвах с низкими температурами, не превышающими 10°C 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 к почвенной среде способствует сохранению биологического разнообразия в почвах северных регионов.

Заключение

Почвенная матрица как арена микромира, где микробные популяции размножаются, обмениваются генетической информацией, перемещаются, погибают, чрезвычайно гетерогенна. Наиболее значимыми особенностями почвы как среды обитания для мицелиальных бактерий, среди прочих, является температура. Несмотря на то, что большинство актиномицетов является мезофилами, температурные адаптации, свойственные этим мицелиальным прокариотам, способствуют сохранению разнообразия актиномицетных комплексов как в периодически прогреваемых почвах южных регионов, так и в холодных промерзающих почвах северных бореальных и полярных поясов.

Литература

1. Звягинцев Д.Г. Почва и микроорганизмы. М.: Изд-во Московск. ун-та, 1987. 355 с.
2. Современная микробиология. Прокариоты /Под ред. Й. Ленглер, Г. Древис, Г. Шлегель (ред). М.: Изд-во Мир, 2005. Т. 2. 449 с.
3. Haberstick I.U., Zuber H. Thermoadaptation of enzymes in thermophilic and mesophilic cultures of *Bacillus stearothermophilus* and *Bacillus caldotaenax* // Arch. Microbiol. 1974. V. 98. P. 275–287.
4. Russell N. J. Molecular adaptations in psychrophilic bacteria: potential for biotechnological applications // Adv. in Biochem. Eng. Biotechnol. 1998. V. 61. P. 1–2.
5. Deming J. W. Psychrophiles and polar regions // Curr. Opin. Microbiol. 2002. V. 5. P. 301–309.
6. Georlette, Damien, Blaise, Depiereux, Uversky, Gerday and Feller. Structural and functional adaptations to extreme temperatures in psychrophilic, mesophilic, and thermophilic DNA ligases // J. Biol. Chemistry. 2003. V. 278. № 39. P. 37015–37023.
7. Калакуцкий Л.В., Агре Н.С. Развитие актиномицетов. М.: Наука, 1977. 286 с.
8. Агре Н.С. Систематика термофильных актиномицетов. Пущино. 1986. 130 с.
9. Звягинцев Д.Г., Зенова Г.М. Экология актиномицетов. М.: Изд-во ГЕОС, 2001. 256 с.
10. The Prokaryotes. V. 3: Archaea, Bacteria: Firmicutes, Actinomycetes. Springer New York. 2006. P. 297–321.
11. Заварзин Г.А., Колотилова Н.Н. Введение в природоведческую микробиологию. М.: Изд-во Книжный дом Университет, 2001. 255 с.
12. Грандберг И.И. Органическая химия. М.: Дрофа, 2001. 672 с.
13. Moyer Craig L., Morita Richard Y. Psychrophiles and psychrotrophs // Encyclopedia of life sciences. 2007. John Wiley & Sons. Ltd. www.els.net.

14. Jin X., Xu L.H., Mao P.H., Hseu T.H., Jiang C.L. Description of *Saccharomonospora xijiangensis* sp. nov. based on chemical and molecular classification // Intern. J. Syst. Bacteriol. 1998. V. 48. P. 1095–1099.
15. Stackebrandt E., Rainey F.A., Ward-Rainey N.L. Proposal for a new hieraric classification system, Actinobacteria classic nov. // Int. J. Syst. Bacteriol. 1997.V. 47. № 2. P. 479–491.
16. Kim S.B., Falconer Ch., Williams E., Goodfellow M. *Streptomyces thermocarboxydovorans* sp. nov. and *Streptomyces thermocarboxydus* sp.nov., two moderately thermophilic carboxydotrophic species from soil // Inter. J. Syst. Bacteriol. 1998. V. 48. P. 59–68.
17. Farell Y., Campbell L.L. Thermophilyc bacteria and bacteriophages // Adv. Microbiol. Physiol. 1969. V. 3. P. 83–109.
18. М.В. Гусев, Л.А. Минеева. Микробиология. Классич. универ. учебник. М.: Издательский центр «Академия», 2004. 464 с.
19. Jiang C., Xu L. Actinomycete diversity in unusual habitats // Actinomycetes. 1993. V. 4. № 2. P. 47–54.
20. Goodfellow, Kim S.B., Minnikin D.E., Whitehead D., Zhou Z.-H., Mattinson A.D. *Amycolatopsis sacchari* sp. nov., a moderately thermophilic actinomycete isolated from vegetable matter // Intern. J. Syst. Evolu. Microbiol. 2001. V. 51. P. 187–193.
21. Kim B., Sahin N., Minnikin D.E., Zakzewska –Czerwinska J., Mordarski M., Goodfellow M. Classification of thermophilic streptomycetes, including the description of *Streptomyces thermoalcalitolerans* sp. nov. // Int. J. Syst. Bact. 1999. V. 49. P. 7–17.
22. Kumar B., Trivedi P., Kumar Mishra A., Pandey A., Lok Man S. Microbial diversity of soil from two hit springs in uttaranchal Himalaya // Microbiological Research. 2004. V. 159. № 2. P. 141–146.
23. Niemi R.M., Knuth S., Lundstrom K. Actinomycetes and fungi in surface waters and in potable water // Appl. Environ. Microbiol. 1982. V. 42. № 2. P. 378–388.
24. Song J., Weon H.V., Yoon S.H., Park D.S., Go S.J., Suh J. W. Polygenetic diversity of thermophilic actinomycetes and *Thermoactinomyces* spp. Isolated from mushroom composites in Korea based on 16 S rRNA gene sequence analysis // FEMS Microbiol. Lett. 2001. V. 202. № 1. P. 97–102.
25. Tan G. Y.A., Robinson S., Lacey E., Goodfellow M. *Amycolatopsis australiensis* sp. nov., an actinomycete isolated from arid soils // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2006. V. 56. P. 2297–2301.
26. Gardkari D., Morsdorf G., Meyer O. Chemolithoautotrophic assimilation of dinitrogen by *Streptomyces thermoautotrophicus* UBT 1: identification of an unusual N₂-fixing system // J. Bacteriol. 1992. V. 174. P. 6840–6843.
27. Курапова А.И., Зенова Г.М., Орлеанский В.К., Манучаров А.С., Норовсурэн Ж. Мезофильные и термотолерантные актиномицеты в разогреваемых почвах // Вестник Моск. ун-та. Серия 17 Почвоведение. 2008. № 3. С. 45–57.
28. Зенова Г.М., Лысенко А.М., Манучарова Н.А., Курапова А.И., Дуброва М. С. Таксономическая и функциональная структура психротолерантных и термотолерантных комплексов почвенных актиномицетов // Теоретическая и прикладная экология. 2008. № 3. С. 66–72.
29. Зенова Г.М., Курапова А.И., Лысенко А.М., Звягинцев Д.Г. Структурно-функциональная организация комплексов термотолерантных актиномицетов пустынных и вулканических почв // Почвоведение. 2009. № 5. С. 575–580.
30. Грядунова А.А., Зенова Г.М., Поздняков А.И., Звягинцев Д.Г. Актиномицетный комплекс в низинной торфяной почве // Болота и биосфера: Материалы третьей научной школы. Томск. 2004. С. 184–192.
31. Звягинцев Д.Г., Зенова Г.М., Дорошенко Е.А., Грядунова А.А., Грачева Т.А. Судницын И.И. Развитие актиномицетов при низкой влажности // Известия РАН. Серия биологическая. 2007. № 3. С. 296–302.
32. Ермилова Е.В. Молекулярные аспекты адаптации прокариот. С.-Петербург: Изд-во С.-Петербургского университета, 2007. 207 с.
33. Feller G., Gerday C., Psychrophilic enzymes: hot topics in cold adaptation // Nat. Rev. Microbiol. 2003. V. 1. P. 200–208.
34. Gounot A.-M. Psychrophilic and psychrotrophic microorganisms // Experientia. 1986. V. 42(1-12). P. 1192–1197.
35. Helmke E., Weyland H. Psychrophilic versus psychrotolerant bacteria – occurrence and significance in polar and temperate marine habitats // Cell. Mol. Biol. 2004. V. 50. P. 553–561.
36. Jiang C.L., Xu L.H. Diversity of aquatic Actinomycetes in lakes of in Middle platen, Yunnan, China // Appl. Environ. Microbiol. 1996. V. 62. Yss. 1. P. 249–253.
37. Определитель бактерий Берджи. М. Изд-во Мир, 1997. Т. 2. 799 с.
38. Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.А., Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. М.: Наука, 1983. 245 с.
39. Gow I.A., Mills F.I Pragmatic criteria to distinguish psychrophiles and psychrotrophs in ecological systems // Appl. and Environment. Microbiology. 1984. V. 47. P.213–215.
40. Roth N.H., Wheaton R.B. Continuity of psychrophilic and mesophilic growth characteristics in the genius *Arthrobacter* // J. Bacteriology. 1962.V. 83 P. 551–555.
41. Chintalapati S., Kiran MD., Shivaji S. Role of membrane lipid fatty acids in cold adaptation // Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). 2004. V. 50. № 5. P. 631–42.
42. Graumann P., Marahiel M.A. Some like it cold: response of microorganisms to cold shok // Arch. Microbiol. 1996. V. 166. P. 293–300.
43. Wouters J.A., Rombouts F.M., Kuipers O.P. de Vos W.M., Abee T. The role of cold-shok proteins in low-

- temperature adaptation of food-related bacteria // System. Appl. Microbiol. 2000. V. 23. P. 165–173.
44. Smalas A.O., Leiros H.K. Os V., Willassen N.P. Gold – adapted enzymes // Biotechnol. Annu. Rev. 2000. V. 6. P. 1–57.
45. Lonhienne T., Gerday C Feller G. Psychrophilic enzymes revisiting the thermodynamic parameters of activation may explain local flexibility // Biochim. Biophys. Acta. 2000. 1543. P. 1–10.
46. Russel N.J. Toward a molecular understanding of cold activity of enzymes from psychrophiles // Extremophiles. 2000. V. 4. P. 83–90.
47. Wintrode P.L., Arnold F.H. Temperature adaptation of enzymes: lessons from laboratory evolution // Adv. Protein Chem. 2000. V. 55. P. 161–225.
48. D'Amico S., Collins T., Marx J.-C. et al. Psychrophilic microorganism: challenges for life // EMBO reports. 2006. V. 7. P. 385–389.
49. Mancuso Nichols C.A., Guezenne J., Bowman J.P. Bacterial exopolysaccharides from extreme marine environments with special consideration of the southern ocean, sea ice, and deep-sea hydrothermal vents: a review // Mar Biotechnol. 2005. V. 7. P. 253–271
50. Ermolenko D.N., Makhatadze G.I. Bacterial cold-shock proteins // Cell Mol. Life Sc. 2002. V. 59. P. 293–1913.
51. Phadtare S; Alsina J; Inouye M Cold-shock response and cold-shock proteins // Current opinion in microbiology. 1999. V. 2. № 2. P. 175–180.
52. Pascal Drouin, Danielle Prevost, Hani Antoun. Physiological adaptation to low temperatures of strains of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* associated with *Lathyrus* spp. // FEMS Microbiology Ecology. 2000. V. 32. № 2. P. 111–120.
53. Baxter R.M., Gibbous N.E. Observations on the physiology of psychrophilism in a yeast // Can. J. Microbiology. 1962. V. 8. № 4. P. 511–517.
54. Скворцова И.Н., Бабыева И.П., Звягинцев Д.Г. Психрофильные микроорганизмы почв // Научн. докл. выс. школы. Биол. науки. 1973. № 11. С. 113–122.
55. Алтон Л.В. Адаптация организмов к условиям Крайнего Севера // Всесоюзное совещание: Тезисы докладов. Таллин. 1984. С. 13–14.
56. Priscu J. C., Adams E. E., Lions W. B., Voytek M. A., Mogk D. W., Brown R. L., McKay C. D., Welch K. A., Wolf C. F., Kirshtein J. D., Avci R. Geomicrobiology of Subglacial Ice Above Lake Vostok // Antarcticall Science. 2000. V. 286. P. 2141–2144.
57. 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.
58. 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. and Environm. Microbiology. 2007. P. 3077–3083.
59. Mevs U., Stackebrandt E., Schuman P., Gallio-wski C. A., Hirsch P. *Modestobacter multiseptatus* gen. nov., sp. nov., a budding actinomycete from soil of the Asgard Range (Transantarctic Mountains) // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2000. V. 50. Pt. 1. P. 337–373.
60. Prabahar V. *Pseudonocardia antarctica* sp. novo an Actinomycetes from McMurdo Dry Valleys, Antarctica // Syst. Appl. Microbiol. 2004. V. 27. P. 66–71.
61. Mannisto M.K., Hagblom M.M. Characterization of psychrotolerant heterotrophic bacteria from Finnish Lapland // J. Syst. Appl. Microbiol. 2006. V. 29(3). P. 229–272.
62. Kampfer P., Rainey F.A., Andersson M.A., Nurmiaho Lassila E.L., Ulrych U., Busse H.J., Weiss N., Mikkola R., Salkinoja-Salonen M. *Frigoribacterium faeni* gen. nov., sp. nov., a novel psychrophilic genus of the family Micromonosporaceae // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2000. Pt. 1. P. 355–363.
63. Wang Q. L., Cao G. M., Jiang W. B., Zhang Y. S. Study on actinomyces population of alpine meadow soil in Qinghai // Wei Sheng Wu Xue Bao. 2004. 44(6). P. 733–736 .
64. He J.Q., Wu Y. F., Zhang G. J. Activity and ecological distribution of actinomyces from soil in the southeastern of Tibet // Wei Sheng Wu Xue Bao. 2006. V. 46(5). P. 773–780.
65. 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 // J. Syst. Evol. Microbiol. 2002. V. 52. P. 1695–1699.
66. Панкратов Т.А., Дедыш С.Н., Заварзин Г.А. Ведущая роль Actinobacteria в процессах аэробной деструкции целлюлозы в сфагновых болотах // Докл. РАН. 2006. Т. 410. С. 546–567.
67. Gesheva V., Distribution of psychrophilic microorganisms in soils of Terra Nova Bay and Edmonson Point, Victoria Land and their biosynthetic capabilities // Polar Biol. 2009. V. 32. P. 1287–1291.
68. Gundlapally S.N. Reddy, Jogadhenu S.S. Prakash, Vadivel Prabahar, Genki I. Matsumoto, E. Stackebrandt and Sisintly Shivaji. *Kocuria polaris* sp.nov., an orange-pigmented psychrophilic bacterium isolated from fn Antarctic cyanobacterial mat sample // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2003. V. 53. P. 183–187.
69. Rothschild LJ, Manchinetti RZ (2004) Life in extreme environments // Nature. 2001. V. 409. P. 1092–1104.
70. Xu L., Li Q., Jiang C. Diversity of Soil Actinomyces in Yunnan, China // Appl. Environ. Microbiol. 1996. V. 62(1). P. 244–248.
71. Cao Y., Jiang Y., Xu L. Diversity and bioactivity ananalysis of actinomycetes isolated from grand Shangri-la soil // Wei Sheng Wu Xue Bao. 2009. V. 49 № 1. P. 105–109.
72. Зенова Г.М., Дуброва М.С., Звягинцев Д.Г. Структурно-функциональные особенности комплексов почвенных психротолерантных актиномицетов // Почвоведение. 2010. Т. 43. № 4. С. 482–487.