

использовали универсальные праймеры на различные области данного гена: v3–v5, v4–v8 и полный ген. Для верхнего и нижнего образца анализировали все три области гена, тогда как для горизонтов 100 и 200 м – только области v3–v5 и v4–v8.

В результате скрининга 10 сконструированных библиотек были выявлены 41 филотип, принадлежащих 8 разделам бактерий: α -, β - и δ - *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*, *OD1*, а также 3-м разделам эукариот: оомицеты, зеленые и диатомовые водоросли. Из них 33 филотипа показали $\leq 98\%$ сходства с ближайшими таксонами в мировой базе данных GenBank и, тем самым, были отнесены к новым неизвестным видам микроорганизмов. Более того, 14 филотипов, показавшие $\leq 90\%$ сходства, были отнесены к неидентифицированным филотипам. Повсеместно доминирующими оказались *Actinobacteria* (40%) и зеленые водоросли (22%). Интересно, что из актинобактерий во всех 4 горизонтах преобладал видовой комплекс (3 клада *asI-A* подгруппы), близко родственный “*Candidatus*” *Planktophila limnetica*, составляя от 19 до 40% от общего числа клонов. Отметим, что обнаруженный нами филум *Planctomycetes* был выявлен только по области v4–v8 гена 16S рНК.

В целом, несмотря на экстремальные для жизни условия в оз. Радок, водная колонка озера оказалась представленной довольно большим микробным разнообразием. Следует отметить, что важным моментом работы было использование, по крайней мере, двух праймерных систем на различные области гена 16S рНК, что позволило более широко охарактеризовать микробное разнообразие водной колонки оз. Радок.

МИКРОПАЛЕОБИОТА ПОВТОРНО-ЖИЛЬНЫХ ЛЬДОВ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ

Э. А. Карнышева¹, С. Н. Филиппова², Н. А. Сургучева², М. Ю. Чербунина¹, В. В. Сорокин², В. Ф. Гальченко¹, А. В. Брушков¹

¹Геологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Институт Микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва, Россия

Повторно-жильные льды – природные образования, сформировавшиеся в течение геологически длительного времени. Они образуются в результате повторяющихся циклов морозобойного растрескивания и заполнения трещин талой водой, частицами почвы и другим веществом. Необходимым условием образования ледяных жил является проникновение морозобойных трещин ниже максимальной глубины слоя сезонного оттаивания. Они могут включать микроорганизмы, которые проникли в трещины в виде суспензий. Основной средой обитания микроорганизмов в ледяных жилах являются почвенные частицы, которые предохраняют их от повреждений кристаллами льда. Особенности состава и строения жильных льдов, отсутствие процессов протаивания предполагают существование микроусловий, способствующих выживанию разнообразных

форм микроорганизмов в этой среде. Это, в свою очередь, позволяет рассматривать жильные льды в качестве одного из уникальных природных банков древних микроорганизмов.

Гигантские скопления реликтовых повторно-жильных льдов, включенных в сильнольдистые алевритовые сингенетические мерзлые толщи широко развиты в центральной и северной Якутии. Ледяные жилы в рыхлых породах являются составной частью четвертичных отложений. Строение жильного льда во многом зависит от процесса формирования ледяных жил. Повторно-жильные льды могут образовываться как в сформировавшихся ранее породах в результате увеличения мерзлотных условий (эпигенетические ледяные жилы), так и одновременно с накоплением отложений (сингенетические ледяные жилы). Повторно-жильные льды в льдистых толщах четвертичных отложений – уникальные природные образования. Одно из таких образований входит в состав ледового комплекса Мамонтовой горы. Обнажение древних повторно-жильных льдов расположено на левом берегу р. Алдан в Центральной Якутии. Река Алдан вскрывает здесь неоген-плейстоценовую (возраст от 16 млн до нескольких тысяч лет) толщу аллювиальных отложений, в которой присутствуют следы эпи- и сингенетического промерзания (ледяные и грунтовые жилы). Криогенное строение отложений допускает возможность обнаружения в них микроорганизмов весьма значительного возраста

Целью исследования являлось выявление разнообразия бактериальных форм и определение численности жизнеспособных микроорганизмов микробиологическими методами с акцентом на актинобактерии в четырех образцах повторно-жильного льда, отобранных в разрезе Мамонтова гора, расположенном на левобережье реки Алдан в Центральной Якутии.

До последнего времени считалось, что льды - малопригодная среда для сохранения жизнеспособных микроорганизмов. Однако исследования последних лет показали, что численность микроорганизмов в повторно-жильных льдах лишь не намного ниже, чем в мерзлых осадочных породах и может варьировать в пределах 10^3 – 10^6 кл/мл. Основными элементами наряду с кристаллами льда, определяющими структуру подземных льдов, являются воздушные и органо-минеральные включения. Пузырчатая текстура, характерная для жильных льдов, обусловлена достаточно большим содержанием в них газовых включений, которые могут составлять 4–6% общего объема. Среди газовых включений могут быть газы, выделившиеся из воды при замерзании, а также воздух, содержащийся в порах между кристаллами льда. Уровень минерализации повторно-жильных льдов близок к ультрапресным поверхностным водам и атмосферным осадкам. В жильных льдах большая часть органо-минеральных веществ содержится в виде коллоидных соединений и скоагулировавшихся частиц. Известно, что обволакивающее действие гидрофильных коллоидов, отсутствие их вредного воздействия на осмотическое состояние клеток способствуют сохранению целостности клеточных структур.

Для микробиологического исследования были использованы образцы повторно-жильного льда из ледяной жилы сингенетического типа, расположенной в толще верхнеплейстоценовых отложений, содержащих суглинки с иловыми включениями. Возраст образцов составляет примерно 25–40 тысяч лет.

В результате микробиологического исследования аэробной гетеротрофной микрофлоры талого материала исследованных образцов многолетнемерзлого льда было показано, что численность колониеобразующих единиц жизнеспособных организмов составляла (10^2 – 10^3 КОЕ/мл). Обнаружено, что максимальные значения численности ($3,4 \times 10^3$ КОЕ/мл) и разнообразие жизнеспособных микроорганизмов отмечены в образце повторно-жильного льда №2. Наиболее благоприятными температурами инкубации для выявления и оценки численности и разнообразия колоний были 20°C и 28°C. Наибольшее число колоний было обнаружено на агаризованных средах ISP1 и ISP 3 с дрожжевым экстрактом. В изученных образцах были обнаружены бактерии различных групп: грамотрицательные, грамположительные, спорулирующие и неспорулирующие, палочковидные и кокковидные, а также полиморфные, иногда палочковидные микроорганизмы с рудиментарным ветвлением с характерным для коринеформных актинобактерий циклом развития: кокк-палочка-кокк. Были выявлены также колонии спорообразующих мицелиальных актинобактерий. В образцах № 2, № 3 и № 4 численно доминировали непигментированные или слабопигментированные колонии коринеформных актинобактерий. Среди колоний, обнаруженных при высевах образца №1 преобладали колонии спорообразующих бактерий бациллярного типа. Единичные колонии мицелиальных актинобактерий были выявлены при высевах образцов №2, №3 и №4. В образцах №2, №3 и №4 были выявлены также однотипные единичные колонии микроскопических грибов.

В результате электронно-микроскопического исследования 4 образцов повторно-жильного льда ледового комплекса Мамонтовой горы (Центральная Якутия) выявлено большое разнообразие бактериоморфных частиц. Отмечен ряд особенностей в их строении: наличие в них электронно-прозрачных зон, предположительно включений, содержащих резервные питательные вещества, а также микроокружения - в виде капсул или внешнего чехла. Указанные особенности можно рассматривать как проявление адаптационной стратегии выживания микроорганизмов в условиях вечной мерзлоты. Методом рентгеновского микроанализа подтверждено органическое происхождение бактериоморфных частиц. Ряд бактериоморфов характеризовался неполным спектром основных биогенных элементов, что могло быть вызвано криповреждениями клеточных структур. Модельные эксперименты показали существенное снижение содержания фосфора и калия в клетках бактерий в процессе замораживания-оттаивания, при этом уровень снижения определялся физиологическим состоянием культур на момент воздействия низких температур. Общая численность колониеобразующих единиц (КОЕ), выявленных гетеротрофных аэробных бактерий соизмерима с численностью аналогичных микроорганизмов, обнаруживаемых в мерзлых грунтах и в арктическом льду.