

**МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА**

На правах рукописи



БЕЛОВ АНДРЕЙ АНТОНОВИЧ

**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКАЯ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОКАРИОТНЫХ СООБЩЕСТВ
НЕКОТОРЫХ АРИДНЫХ ПОЧВ И ОСАДОЧНЫХ ПОРОД**

03.02.03 – Микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

**Москва
2021**

Работа выполнена на кафедре биологии почв факультета почвоведения МГУ имени М.В.Ломоносова.

Научный руководитель: **Манучарова Наталия Александровна,**
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Николаев Юрий Александрович,**
доктор биологических наук, ФГУ ФИЦ
«Фундаментальные основы биотехнологии», Институт
микробиологии имени С.Н.Виноградского РАН,
лаборатория выживаемости микроорганизмов,
заведующий лабораторией

Садыкова Вера Сергеевна,
доктор биологических наук, доцент, ФГБНУ «Научно-
исследовательский институт по изысканию новых
антибиотиков имени Г.Ф.Гаузе», заместитель
директора по научной работе, заведующая лабораторией
таксономического исследования и коллекции культур
микроорганизмов

Тульская Елена Михайловна,
доктор биологических наук, ФГБОУ ВО «Московский
государственный университет имени М.В.Ломоносова,
биологический факультет, кафедра микробиологии,
старший научный сотрудник

Защита диссертации состоится «09» ноября 2021 года в 15 ч 30 мин на заседании диссертационного совета МГУ.03.13 Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова по адресу: 119234, Москва, Ленинские горы, МГУ, д. 1, стр. 12, биологический факультет, аудитория М-1. Тел: 8(495)-939-35-46, электронная почта: nvkostina@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на сайте ИАС «ИСТИНА»: <https://istina.msu.ru/dissertations/393743168/>

Автореферат разослан «04» октября 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета, к.б.н.



Костина Н.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. На сегодняшний день около 30% земной поверхности представлено экосистемами, испытывающими периодический или длительный дефицит влаги и, согласно прогнозам, эта площадь существенно увеличится в результате изменения климата, процессов опустынивания, деятельности человека (Li et al., 2020). Вода необходима для всех живых организмов, ввиду ее участия в большинстве биохимических процессов в организме, включая процессы фолдинга белков и поддержания их стабильной конформации, фермент-субстратного взаимодействия и других процессов. Воздействие засушливых условий, таким образом, может серьезно препятствовать функционированию и выживанию клетки. Возникновение дефицита доступной для микробной клетки воды может быть вызвано нехваткой воды при высушивании или замораживании окружающей клетку среды (матричный стресс) или же чрезмерными концентрациями растворенных в ней веществ (осмотический стресс) (Lebre et al., 2017). Таким образом, аридные экосистемы – это экосистемы, в которых микроорганизмы лимитированы наличием доступной воды. Они представлены жаркими и холодными пустынями, полярными ледниковыми и внеледниковыми ландшафтами, а также высокогорными территориями. На сегодняшний день исследовано ограниченное число микробных сообществ, приуроченных к экстремальным условиям окружающей среды: не выявлены пределы их метаболической активности, вклад в биосферные процессы и не до конца ясны физиологические механизмы устойчивости клетки к различным стрессовым воздействиям (Dion, 2008; Stan-Lotter, Fendrihan, 2012; Heinrich, 2013; Merino et al., 2019). Накоплено относительно мало данных о микробных сообществах аридных экосистем, ксеротолерантных прокариотах: их филогенетическом разнообразии, распространении и физиологических особенностях (Qin et al., 2016; Schmid et al., 2020). Как правило, при изучении микроорганизмов экстремальных местообитаний, исследуются единичные устойчивые штаммы, при этом масштабный скрининг и исследования физиологических особенностей широкого разнообразия микроорганизмов, выделенных из подобных экотопов, редки.

Цель исследования: Изучение и сравнительный анализ таксономической структуры прокариотных сообществ почв и осадочных пород аридных экосистем; физиологическая характеристика сообществ и штаммов-изолятов.

Задачи исследования:

1. Оценка общей численности и биомассы прокариотных клеток и выявление доли метаболически активных прокариот в образцах почв и пород аридных экосистем;
2. Описание таксономической структуры культивируемых бактериальных комплексов;

3. Физиологическая характеристика штаммов-изолятов (диапазон температур и рН, пригодных для роста, чувствительность к присутствию различных солей и клинических антибиотиков);

4. Сравнительный анализ сообществ по физиологическим и филогенетическим характеристикам;

5. Создание коллекции бактерий, выделенных из исследованных образцов.

Научная новизна. В работе проведен анализ широкого спектра прокариотных сообществ различных аридных экосистем. Отбор образцов почв и осадочных пород был проведен в малоизученных областях: антарктических долинах, архипелагах Северная и Новая Земля, пустынях Сахара, Мохаве, Гибсона. В работе впервые проведена микробиологическая характеристика образцов, отобранных на севере Северного острова архипелага Новая Земля. Создана коллекция бактерий, выделенных из исследуемых образцов, насчитывающая 430 штаммов аэробных гетеротрофных бактерий. Впервые проведен масштабный скрининг штаммов, выделенных из почв и осадочных пород аридных экосистем, на способность к росту в широких диапазонах физико-химических воздействий. Проведенный анализ физиологических характеристик штаммов не имеет аналогов в литературе как по набору анализируемых параметров, так и по объему исследованной выборки. В ходе исследования показано, что полиэкстремотолерантность характерна для большинства штаммов аэробных гетеротрофных бактерий, выделенных из почв и пород аридных биотопов.

Теоретическая и практическая значимость работы. В ходе исследования выделены полиэкстремотолерантные штаммы аэробных гетеротрофных бактерий, способные сохранять метаболическую активность *in vitro* в широких диапазонах физико-химических условий, которые могут быть использованы в биотехнологических целях. Обнаружение антибиотикоустойчивых штаммов (в том числе с множественной устойчивостью) свидетельствует о перспективности их дальнейшего изучения как потенциальных продуцентов новых антибиотиков. Результаты исследования могут быть использованы также для прогнозирования последствий процессов опустынивания и смены микробных сообществ и их активности в почвах, подвергающихся аридизации и опустыниванию, а также в оттаивающих ввиду изменения климата вечномерзлых почвах и породах. Созданная коллекция бактерий может быть использована в качестве объекта для исследования потенциальной выживаемости бактерий в условиях внеземного пространства и разработки протоколов планетарного карантина.

Объектами исследования являлись сообщества культивируемых бактерий, выделенных из различных почв и осадочных пород, отобранных в аридных экосистемах Земного шара.

Предмет исследования - численность прокариотных сообществ, исследованных образцов, таксономический состав метаболически активных *in situ* прокариот и сообществ культивируемых бактерий, а также оценка физиологических характеристик изолятов.

Методология диссертационного исследования: В работе использовали стандартизированные современные и традиционные методы и подходы микробиологии и молекулярной биологии. Эксперименты выполняли в лабораторных условиях, полученные результаты подвергали статистической обработке.

Положения, выносимые на защиту.

1. Сообщества культивируемых бактерий исследованных образцов почв и осадочных пород аридных экотопов характеризуются высоким биоразнообразием, сходной таксономической структурой с доминированием представителей филумов *Actinobacteria*, *Proteobacteria* и *Firmicutes* и невысокой долей метаболически активных *in situ* прокариот.

2. Наиболее разнообразные в таксономическом и функциональном отношении бактериальные сообщества выявлены в мерзлых породах острова Северного архипелага Новая Земля и поверхностном горизонте почвы пустыни Мохаве.

3. Прокариотное сообщество мерзлой осадочной породы Северного острова архипелага Новая Земля, ранее не описанное в научной литературе, характеризуется высоким разнообразием: *in situ* доминируют представители филума *Proteobacteria*, субдоминантные позиции занимают представители филумов *Actinobacteria* и *Bacteroidetes*; *in vitro* преобладают представители филумов *Actinobacteria* и *Proteobacteria*.

4. Большинство представителей исследованных сообществ культивируемых бактерий проявляют полиэкстремотолерантность к широким диапазонам температур и рН среды, концентрациям различных водорастворимых солей, присутствию различных клинических антибиотиков, а отдельные штаммы характеризуются множественной антибиотикорустойчивостью.

Степень достоверности и апробация результатов

Личный вклад автора. Работа является результатом оригинальных исследований. Автор принимал участие в определении направлений исследований, разработке схем экспериментов, обработке данных, обсуждении полученных результатов и подготовке публикаций. Основные экспериментальные результаты получены лично автором.

Степень достоверности результатов. Все полученные результаты являются оригинальными, их достоверность обусловлена большим объемом полученных данных, воспроизводимостью результатов в повторностях, использовании классической и современных подходов и методов, статистической

обработке полученных данных. Степень достоверности подтверждается опубликованными по теме работы статьями в рецензируемых научных журналах.

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы были доложены на следующих всероссийских и международных конференциях: XXII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов-2015" (Москва, 2015), XI Международная школа-конференция с международным участием "Актуальные аспекты современной микробиологии" (Москва, 2016), Микробные сообщества в эволюции биосферы с древнейших времен до наших дней (Москва, 2016), Современные аспекты сельскохозяйственной микробиологии (Москва, 2016), The Eighth Moscow Solar System Symposium (Москва, 2017), 1-ый Российский Микробиологический Конгресс, (Пушино, 2017), XXXVII Annual Meeting of the European Culture Collections' Organisation Conference (Москва, 2018), The Ninth Moscow Solar System Symposium (Москва, 2018), Эволюция биосферы с древнейших времен до наших дней (Москва, 2018), III Молодежная конференция «Почвоведение: Горизонты будущего» (Москва, 2019), Venera-D Joint Science Definition Team Workshop: Potential Landing Sites and Cloud Layer Habitability (Москва, 2019), The Tenth Moscow Solar System symposium (10MS-3) (Москва, 2019), IV Молодежная конференция «Почвоведение: Горизонты будущего» (Москва, 2020), The Eleventh Moscow Solar System Symposium (Москва, 2020).

Публикации. По материалам диссертации опубликованы 22 работы: из них 6 статей в рецензируемых научных изданиях, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus) и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В. Ломоносова, 2 статьи, входящих в перечень изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки РФ, 1 статья в сборнике, 13 публикаций в сборниках материалов и тезисах докладов на российских и международных научных конференциях.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из 8 разделов: введения, обзора литературы, объектов и методов исследования, результатов и обсуждения, заключения, выводов, списка литературы и приложений. Работа изложена на 181 странице машинописного текста, содержит 28 рисунков, 5 таблиц и 3 приложения. Список литературы включает 450 источников, из них 26 на русском и 424 на иностранных языках.

Выполнение работы было поддержано грантами РФФИ № 18-34-00331 мол_а «Устойчивость почвенных бактерий из экстремальных местообитаний к различным видам стресса» и РФФИ № 14-50-00029 «Научные основы создания Национального банка-депозитария живых систем».

Благодарности. Автор признателен своему первому научному руководителю Е.А. Воробьевой за помощь с выбором тематики исследований. Автор благодарен научному руководителю Н.А. Манучаровой за ценные советы

и помощь при подготовке и описании диссертационных исследований. Автор благодарен В.С. Чепцову за помощь и поддержку на всех этапах работы. Автор выражает благодарность Бадюкову Д.Д., Ежелеву З.С., Смирновой И.Е. и Ульяновой Т.Ю. за помощь в отборе образцов для исследования, Лысак Л.В. за ценные советы при подготовке текста диссертационной работы, Розановой М.С. за консультации и помощь в проведении химических анализов, Петровой М.А. за обучение основам молекулярно-биологических методов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе описаны климатические условия и распространение аридных экосистем на планете. Дан обзор исследований биоразнообразия прокариотных сообществ, приуроченных к криоаридным и жарким аридным экотопам. Обобщены опубликованные данные об устойчивости микроорганизмов к температурам и рН окружающей среды, присутствию водорастворимых солей и основных физиологических механизмах, ее обуславливающих. Обсуждены результаты исследований прокариотных сообществ аридных экотопов, выполненные с применением различных методов анализа. Выявлены малоисследованные аридные регионы и сформулированы прикладные и междисциплинарные перспективы исследований экстремотолерантных микроорганизмов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования выступали прокариотные сообщества, приуроченные к образцам почв и осадочных пород, отобранных из различных биоклиматических регионов Земли, которые характеризуются аридными условиями для жизни населяющих их организмов: мерзлые осадочные породы, отобранные в различных районах Антарктиды, на острове Комсомолец архипелага Северная Земля и острове Северный архипелага Новая Земля, а также поверхностные горизонты почв пустынь Гибсона (Австралия), Мохаве (США), Сахара (Египет); в качестве объекта сравнения исследовали горизонт А дерново-подзолистой почвы Московской области, Россия.

Для характеристики прокариотных сообществ исследованных образцов применяли методы люминесцентной микроскопии, флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), мультисубстратного тестирования (МСТ), культивирования на плотных питательных средах, секвенирования фрагментов гена 16S рРНК. Штаммы, выделенные из всех исследованных образцов, были протестированы на способность к росту при различных температурах и рН среды (в диапазоне от 2 до 50°C и рН 2–14), в присутствии хлоридов натрия или калия, сульфата магния, гидрокарбоната натрия (в диапазоне концентраций 2–20% масса/объем), а также перхлората магния (в диапазоне концентраций 0.5–15% масса/объем). Также оценивали устойчивость выделенных бактерий к отдельным

клиническим антибиотикам: ампициллину, цефалексину, хлорамфениколу, тетрациклину, доксициклину, канамицину и рифампицину в концентрации 100 мкг/мл. Для образцов, отобранных в малоизученном регионе на севере Северного острова архипелага Новая Земля, было произведено высокопроизводительное секвенирование генов 16S рРНК.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общая численность прокариот и численность культивируемых бактерий в исследуемых образцах

Общая численность прокариот в исследованных образцах варьировала в диапазоне $(0.08 - 7.90) \times 10^8$ клеток/г субстрата. Наибольшие значения общей численности прокариот наблюдались в образцах почв, отобранных в пустынях Гибсона [Austr], Мохаве [Moj] и Сахара [SD], где она составляла 5.5×10^8 клеток/г и более. Образцы, отобранные в крио-аридных экосистемах северного полушария (мерзлые породы архипелагов Новая Земля [Nz] и Северная Земля [Sz]) характеризовались общей численностью прокариот в диапазоне $(1.85 - 3.51) \times 10^8$ клеток/г; в антарктических образцах общая численность прокариот была на порядок ниже и составляла 3.16×10^7 и 7.8×10^7 клеток/г в образцах, отобранных из долин Тейлора [Ho-6] и Бикона [A-6/99], соответственно. Общая численность прокариот в образце дерново-подзолистой почвы Московской области составляла 8.13×10^8 клеток/г (рис. 1). Наименьшая доля культивируемых бактерий (1.93×10^5 КОЕ/г) была обнаружена в образце мерзлой породы архипелага Северная Земля [Sz]: коэффициент К, равный отношению общей численности прокариот к численности культивируемых бактерий (Кожевин, 1989), близок к 500. Наибольшая доля культивируемых бактерий (7.81×10^9 КОЕ/г) выявлена в поверхностном образце морены и льда, отобранном на Северном острове архипелага Новая Земля [Nz 2], коэффициент К составлял 2.88. В остальных рассматриваемых образцах доля культивируемых бактерий была примерно одинакова: на один-два порядка меньше общей численности прокариот. Культивируемые бактерии при посеве и инкубации при 50°C не были выявлены во всех исследованных образцах аридных почв и пород.

В большинстве образцов наблюдалось возрастание численности культивируемых бактерий при температуре инкубации равной 25°C, по сравнению с численностью культивируемых бактерий при 10°C. Исключения составляли культивируемые сообщества, выделенные из мерзлоты архипелага Северная Земля [Sz], где численность культивируемых бактерий при 10°C была выше численности культивируемых бактерий при 25°C в 2 – 3 раза.

Содержание прокариотной биомассы в образцах приведено на рисунке 2. Наибольшие показатели отмечены в образцах жарких аридных пустынь, где содержание прокариотной биомассы достигало более 100 мкг/г. Наибольшие

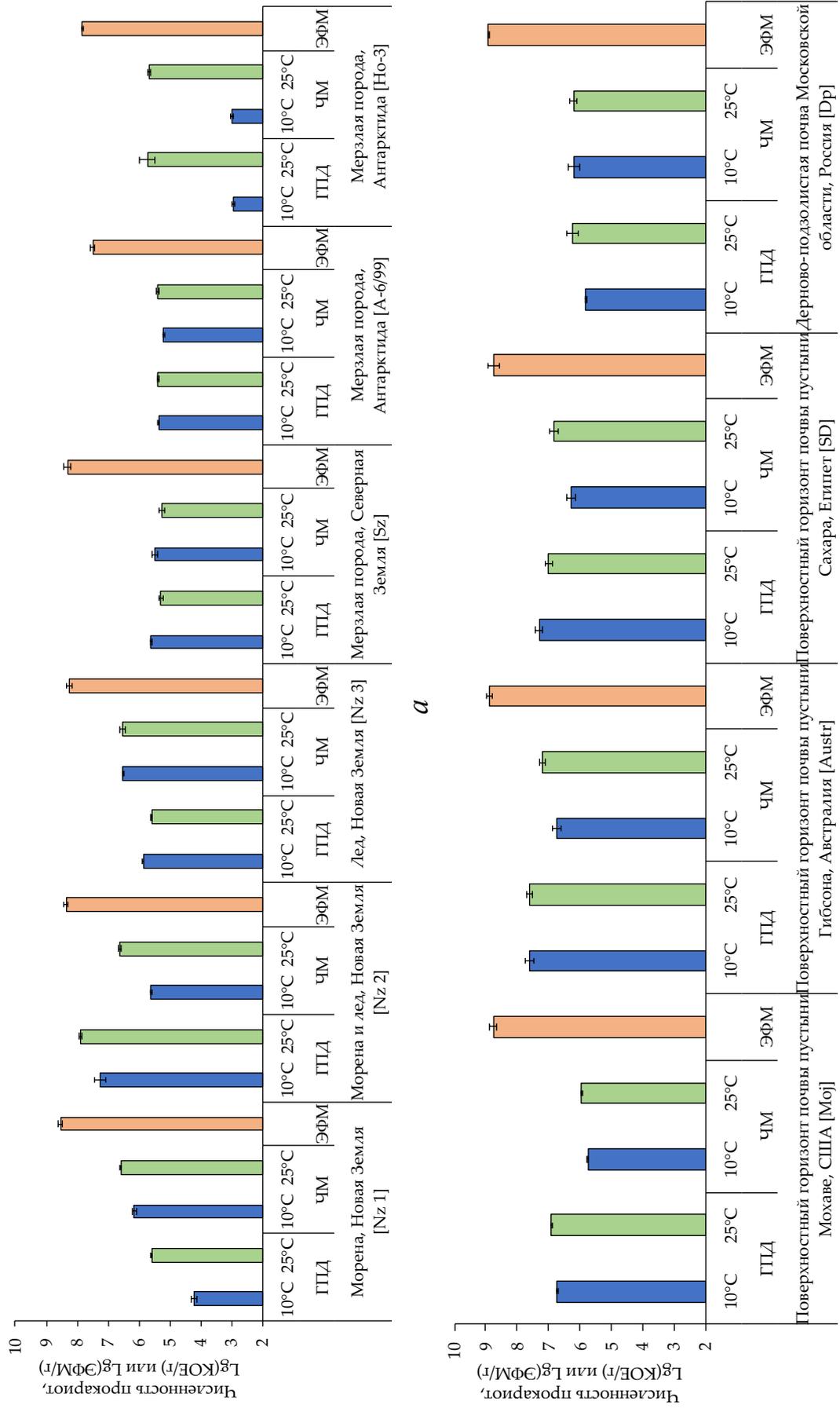


Рисунок 1. Показатели общей численности прокариот и численности культивируемых бактерий. Планки погрешности обозначают доверительный интервал при $p < 0.05$. ГПД и ЧМ – численность культивируемых бактерий на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде и модифицированной среде Чапека соответственно; ЭФМ – данные общей численности прокариот.

показатели содержания прокариотной биомассы выявлены в образцах почвы пустыни Гибсона и горизонта А дерново-подзолистой почвы, где общая биомасса прокариот была близка к 160 мкг/г.

В образцах арктических крио-аридных экотопов выявлено содержание прокариотной биомассы около 45 мкг/г, в антарктических образцах выявлено самое низкое содержание прокариотной биомассы, в рамках данного исследования, составляющее 7.6 - 14.2 мкг/г. Сравнивая показатели общей численности прокариот в исследуемых образцах, можно отметить статистически достоверные более высокие значения общей численности прокариот в жарких аридных пустынях по сравнению с крио-аридными породами. Близкие значения численности культивируемых бактерий при 10 и при 25°C, обнаруженные практически во всех образцах, свидетельствуют о психротолерантности многих выделенных бактерий, что впоследствии было подтверждено результатами исследований физиологических характеристик штаммов.

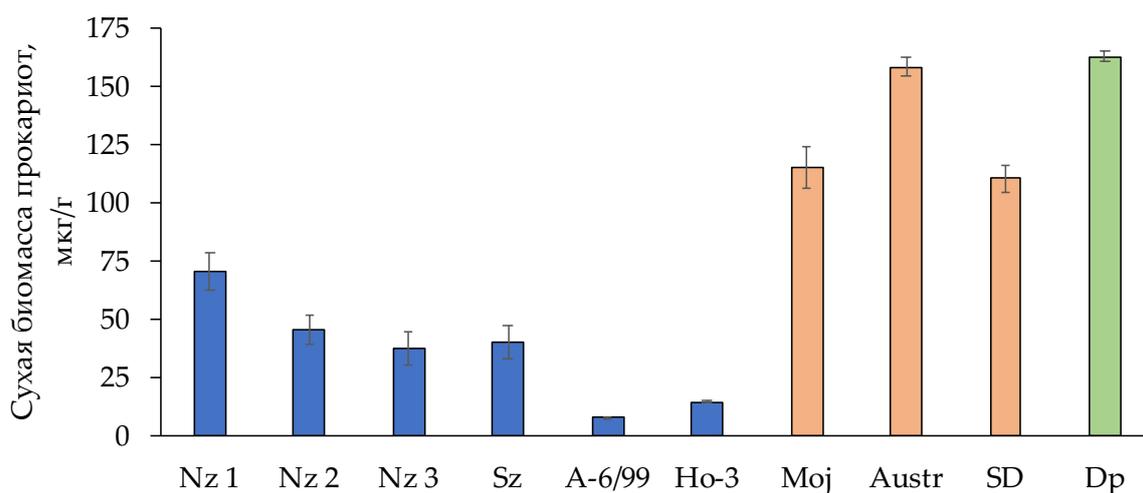


Рисунок 2. Содержание прокариотной биомассы в образцах по данным эпифлуоресцентного анализа. Планки погрешности обозначают доверительный интервал при $p < 0.05$. Условные обозначения образцов: Nz – мерзлые породы, Новая Земля, Sz – мерзлая порода, Северная Земля, A6/99 и Ho-3 – мерзлые породы, Антарктида, Moj – поверхностный горизонт почвы, пустыня Мохаве, Austr – поверхностный горизонт почвы, пустыня Гибсона, SD – поверхностный горизонт почвы, пустыня Сахара, Dp – горизонт А дерново-подзолистой почвы.

Численность метаболически активных *in situ* прокариот

Численность метаболически активных прокариот в исследуемых образцах, выявленная методом флуоресцентной *in situ* гибридизации, варьировала в диапазоне 10^5 – 10^7 клеток/г, что составляет от 0.08 до 6.73% от общей численности прокариот в исследуемых образцах. Наименьшая доля метаболически активных прокариот после увлажнения образца наблюдалась в образце поверхностного горизонта почвы, отобранной в пустыне Гибсона, где она составляла 0.08% от общего числа прокариот, выявляемого методом эпифлуоресцентной микроскопии.

Напротив, максимальная доля метаболически активных прокариот выявлена в сообществе, приуроченном к мерзлой осадочной породе архипелага Северная Земля, где она составляла 6.73% (рис. 3).

В целом, в образцах из крио-аридных экотопов, отобранных в арктическом регионе, в метаболически активное состояние после оттаивания и увлажнения переходят 2% и более клеток от общего числа прокариот в образце. В антарктических образцах их доля более чем в два раза ниже и составляет менее 1% от общего числа прокариот. Среди сообществ жарких аридных пустынь наибольшая доля метаболически активных после увлажнения прокариот выявлена в образце из пустыни Мохаве [Moj] (4.25%), в пустыне Сахара [SD] она составляет 1.22% от общего числа прокариот и достигает минимума в пустыне Гибсона (0.08%) (рис. 4).

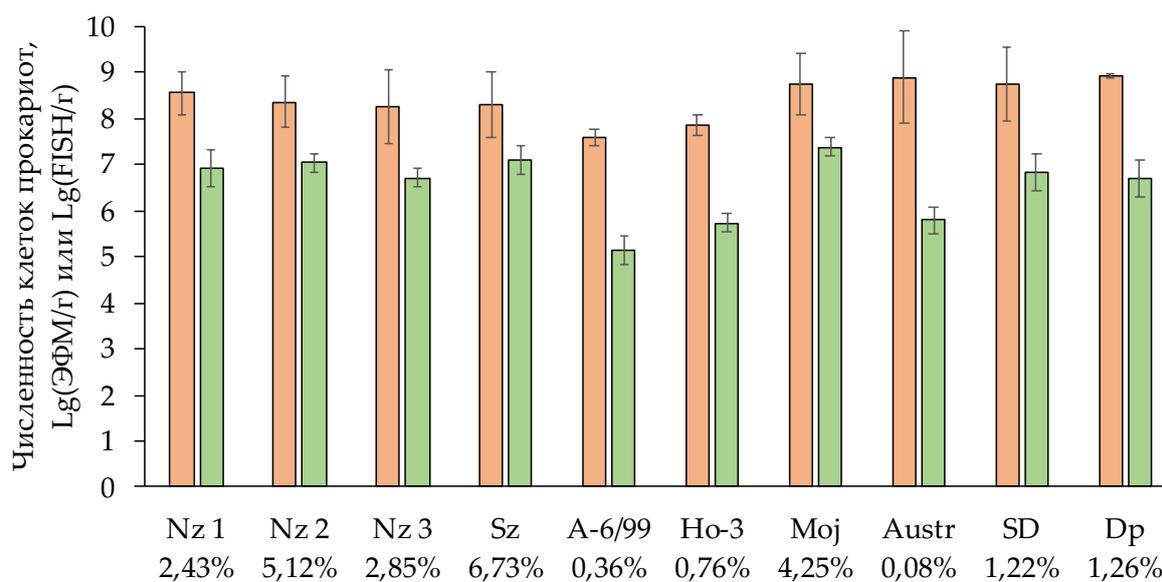


Рисунок 3. Значения общей численности и численности метаболически активных прокариотных клеток в образцах. Оранжевым цветом обозначена общая численность прокариотных клеток, зеленым – численность метаболически активных прокариот. Числовые значения под названиями образцов соответствуют доле метаболически активных клеток от общего числа прокариот. Планки погрешности обозначают доверительный интервал при $p < 0.05$. Условные обозначения образцов: Nz – мерзлые породы, Новая Земля, Sz – мерзлая порода, Северная Земля, A6/99 и Ho-3 – мерзлые породы, Антарктида, Moj – поверхностный горизонт почвы, пустыня Мохаве, Austr – поверхностный горизонт почвы, пустыня Гибсона, SD – поверхностный горизонт почвы, пустыня Сахара, Dp – горизонт А дерново-подзолистой почвы

Анализ структуры метаболически активных *in situ* прокариотных сообществ после увлажнения образцов выявил преобладание представителей филумов *Proteobacteria* во всех образцах (от 24 до 49% от всех метаболически активных прокариот) и представителей филума *Actinobacteria* (от 13 до 27%). Метаболически активные археи выявлены в сообществах в количествах от 3 до

37% от общего числа метаболически активных клеток. Максимальная доля архей в метаболически активном прокариотном сообществе наблюдалась в образце морены и льда [Nz 2] архипелага Новая Земля.

Относительно быстрый переход (24 часа) высокой доли прокариот в метаболически активное состояние при увлажнении, вероятно, является адаптивной стратегией для выживания и функционирования исследуемых сообществ. Быстрая реактивация и возвращение в метаболически активное состояние *in situ* могут способствовать эффективному использованию благоприятного температурно-влажностного режима для питания и размножения прокариот в составе сообществ. Данная стратегия реактивации сообщества может быть адаптивной в жарких аридных экотопах, где сезонная динамика внешних условий, оказывающих влияние на развитие и функционирование прокариотных комплексов в включает в себя периоды пика выпадения атмосферных осадков, а также быстрого развития и отмирания растений, которые могут приводить к скачкообразным индуцированным возрастаниям численности прокариот в периоды увлажнения и дальнейшему их сохранению (Makhalanyane et al., 2015).

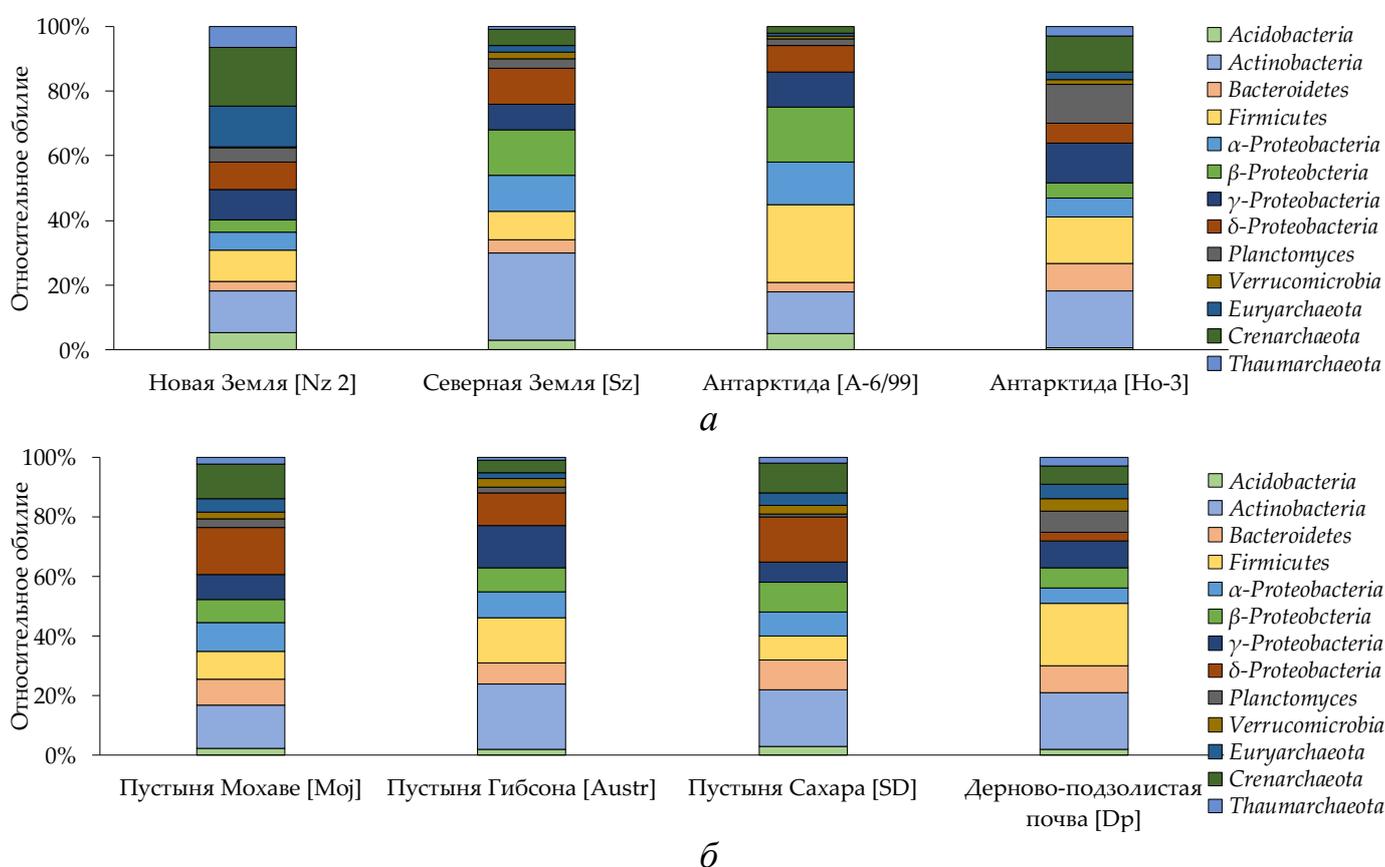


Рисунок 4. Филогенетическая структура метаболически активных прокариотных комплексов в исследуемых образцах, а – сообщества крио-аридных образцов, б – сообщества почвенных образцов.

Таким образом, во всех исследованных сообществах обнаружены метаболически активные представители всех исследованных филумов и классов прокариот. Однако, структура метаболически активных *in situ* прокариотных комплексов различна: при преобладании представителей филумов *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Firmicutes*, их доли в сообществах различаются в несколько раз между образцами.

Мультисубстратное тестирование бактериальных сообществ исследуемых образцов почв и пород

В ходе мультисубстратного тестирования выявлены различные уровни интенсивности потребления субстратов сообществами, приуроченными к различным образцам: наибольшее число потребляемых субстратов выявлено для сообществ образцов, отобранных в пустынях Мохаве [Moj] и Сахара [SD], а также на архипелаге Новая Земля [Nz 2]. Микробное сообщество образца дерново-подзолистой почвы потребляло 12 субстратов; микробные сообщества почвы пустыни Гибсона [Austr], а также мерзлоты архипелага Северная Земля [Sz] и Антарктиды [А-6/99 и Но-3] потребляли менее 12 субстратов.

Спектры потребления субстратов сообществами приведены на рисунке 5. Наибольшее разнообразие потребляемых субстратов наблюдалось для жарких аридных пустынь Мохаве и Сахара: эти сообщества характеризуются близкими значениями интенсивности потребления исследуемых субстратов и наиболее интенсивно потребляют гексозы. В образцах пород, приуроченных к криоаридным областям, выявлено снижение разнообразия ассимилируемых субстратов в ряду: породы архипелага Новая Земля [Nz 2], Сухих Долин Антарктиды [А6/99, Но-3], архипелага Северная Земля [Sz].

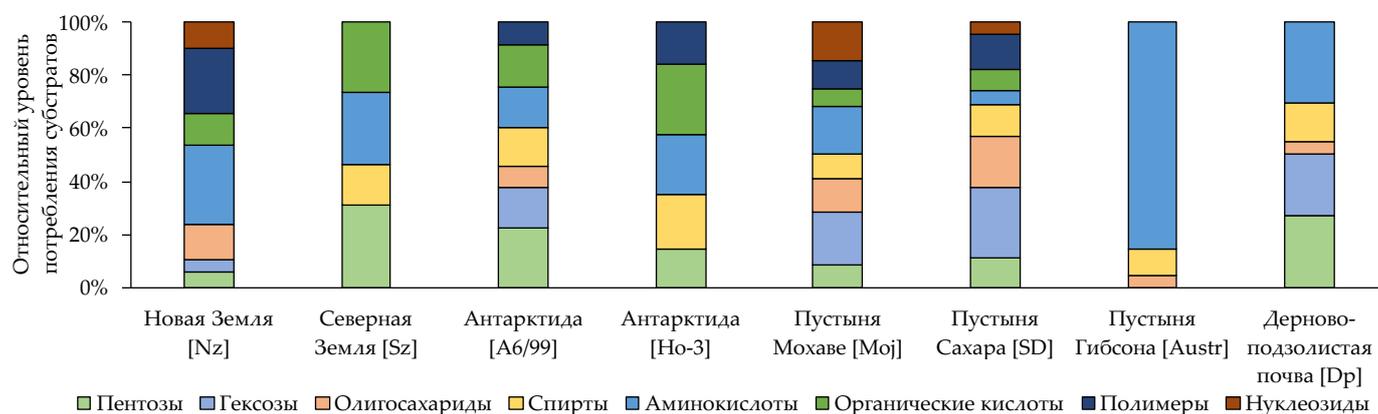


Рисунок 5. Спектры потребления субстратов, полученные при мультисубстратном тестировании.

Кластерный анализ, выполненный для полученных спектров потребления субстратов разделяет исследованные микробные сообщества на две подгруппы. Первая подгруппа включает в себя почвы аридных пустынь и мерзлоту

архипелага Новая Земля, что, по-видимому, связано с высокими показателями функционального и таксономического разнообразия данных сообществ. Вторая подгруппа, включающая в себя сообщества, приуроченные к арктическим и антарктическим мерзлым породам и дерново-подзолистой почве, характеризуется невысокими показателями потенциальной биологической активности и биоразнообразия.

Выявленная во всех сообществах высокая активность потребления аминокислот хорошо согласуется с результатами культивирования на плотных питательных средах, в ходе которых было выявлено увеличение численности колониеобразующих единиц на питательных средах, содержащих разнообразные олигопептиды и дрожжевой экстракт, выступающие в качестве ростовых факторов. Расширение спектра потребляемых субстратов, выявленное у сообществ, приуроченных к наиболее контрастным аридным экотопам (в пределах исследуемой выборки) может свидетельствовать о таксономическом разнообразии прокариот в них. На это также косвенно указывают результаты, полученные в ходе культивирования на плотных питательных средах и идентификации культивируемых бактерий в сообществах этих образцов.

Филогенетическая структура бактериального комплекса мерзлой осадочной породы архипелага Новая Земля *in situ*

Анализ структуры бактериального комплекса *in situ* был проведен для образца морены и льда [Nz 2], отобранного на севере Северного острова архипелага Новая Земля, прокариотные сообщества которого ранее не были исследованы. В результате высокопроизводительного секвенирования генов 16S рРНК, выделенной из мерзлоты архипелага Новая Земля, было получено 322 714 парноконцевых прочтения, после удаления некачественных прочтений и объединения прочтений были картированы 173906 прочтений, на основании анализа которых реконструировалась структура бактериального сообщества.

В доминантных позициях идентифицированы представители филума *Proteobacteria* (45.5%), представители филума *Actinobacteria* составляли 21.0% от всех полученных последовательностей. Представители филумов *Bacteroidetes* и *Acidobacteria* составляли 12.0 и 6.7% комплекса соответственно. Представители филумов *Gemmatimonadetes*, *Chloroflexi*, *Verrucomicrobia* составляли 5% и менее каждый. Доля в сообществе представителей всех остальных бактериальных филумов составляет суммарно менее 1% (рис. 6).

Выявленные при анализе структуры бактериального комплекса *in situ* образца морены и льда [Nz 2] архипелага Новая Земля доминирующие филумы бактерий типичны для различных мерзлых почв и пород (Jansson et al., 2014). Преобладание представителей филума *Actinobacteria* наблюдается в различных мерзлых и жарких аридных почвах. Причиной этого, как уже упоминалось ранее,

по-видимому, является широкая распространенность среди представителей этого филума различных механизмов устойчивости к широкому спектру стрессовых воздействий (Goodfellow et al., 2018; Idris et al., 2017; Horikoshi et al., 2010). Преобладание представителей филума *Proteobacteria* в бактериальном сообществе *in situ* ранее было выявлено в бактериальных сообществах мерзлых почв и пород Канадской Арктики и в отдельных антарктических мерзлых породах (Steven et al., 2008; Blanco et al., 2012).

Индексы альфа-разнообразия сообщества, рассчитанные по данным высокопроизводительного секвенирования на уровне рода, свидетельствуют о высоком биоразнообразии бактериального сообщества исследованного образца и неравномерной представленности представителей различных таксонов, что согласуется с результатами мультисубстратного тестирования и культивирования бактерий из этого образца. Аналогичные результаты ранее были получены для бактериальных сообществ некоторых мерзлых почв и пород (Miteva, 2008).

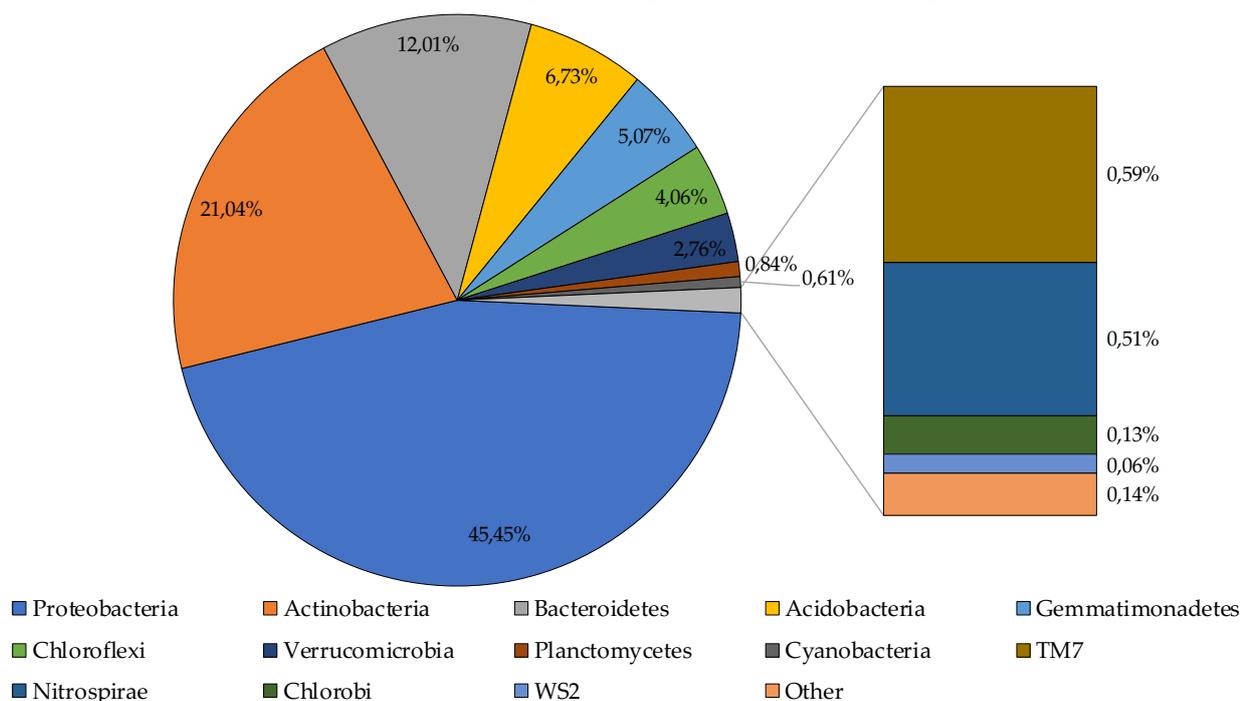


Рисунок 6. Структура бактериального комплекса мерзлой породы архипелага Новая Земля на уровне филумов.

Структура культивируемых бактериальных сообществ

В культивируемых сообществах, выделенных из исследуемых образцов, выявлены представители филумов *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* и *Bacteroidetes*, причем в большинстве сообществ представители филума *Actinobacteria* являлись доминантными (рис. 7).

В сообществах, выделенных из крио-аридных образцов, отобранных в арктических регионах, субдоминантные позиции занимали представители филума *Proteobacteria*, достигавшие доминантных позиций в сообществах, выделенных при температуре 10°C из образцов морены [Nz 1] и льда [Nz 2] архипелага Новая Земля. В культивируемых сообществах, выделенных из долины Бикона [А-6/99], выявлены представители филумов *Actinobacteria* и *Proteobacteria*, в культивируемых сообществах, выделенных из долины Тейлора [Но-3], субдоминантные позиции занимали представители филума *Firmicutes*, в то время как *Proteobacteria* занимали минорные позиции.

В сообществах культивируемых бактерий, выделенных из образцов, отобранных на Северном острове архипелага Новая Земля [Nz 1-3] наблюдалось высокое разнообразие бактерий (рис. 8): идентифицированы представители 30 родов аэробных гетеротрофных бактерий.

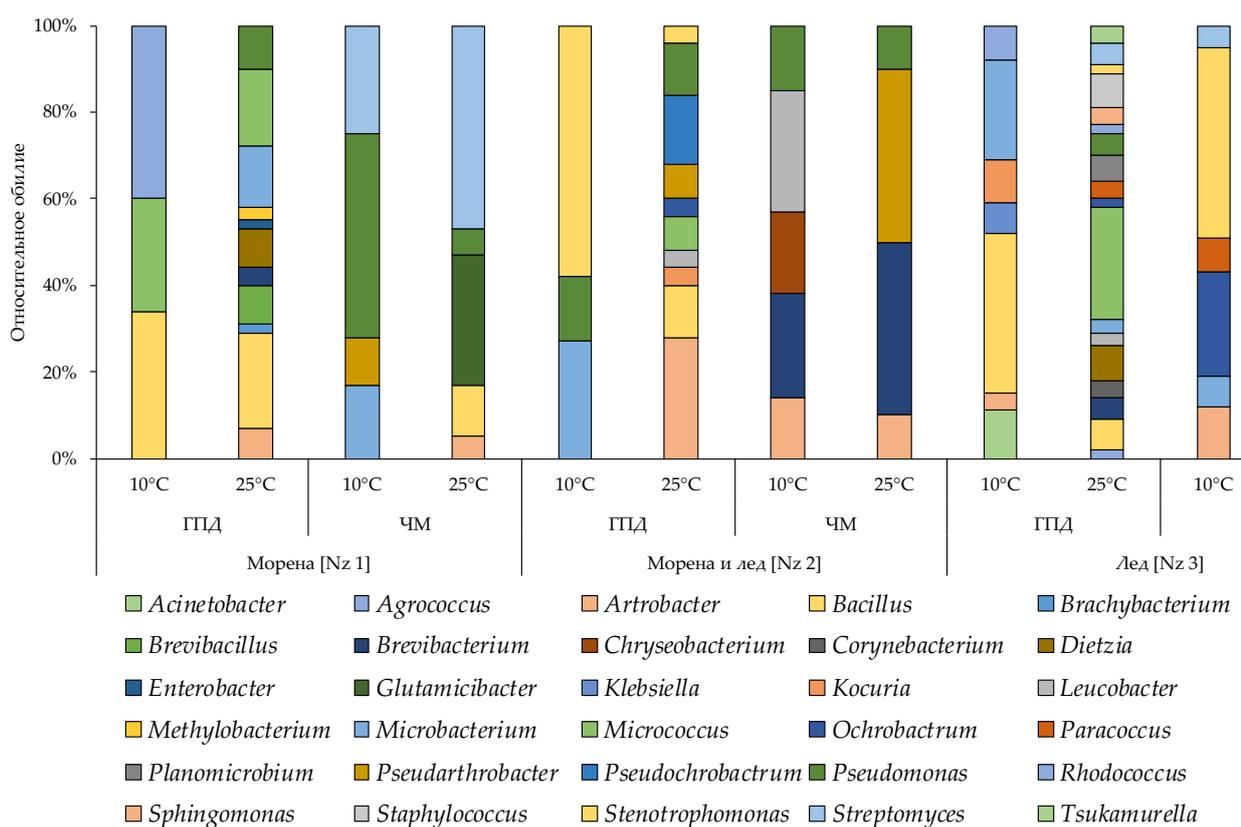


Рисунок 8. Структура культивируемых бактериальных сообществ, выделенных из образцов, отобранных на архипелаге Новая Земля. ГПД – сообщества, выделенные на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде; ЧМ – сообщества, выделенные на модифицированной среде Чапека. Температура на диаграмме указывает температуру инкубации, при которой были выделены данные сообщества.

Среди культивируемых бактерий, выделенных из образцов мерзлоты архипелага Новая Земля, были обнаружены представители родов *Stenotrophomonas*, *Corynebacterium*, *Klebsiella*, *Dietzia*, *Leucobacter* со сходством нуклеотидных последовательностей с базами данных 97% и менее, что может

указывать на то, что упомянутые штаммы могут быть представителями не описанных ранее видов.

Высокое разнообразие культивируемых бактериальных сообществ выявлено в образце поверхностного горизонта почвы, отобранной в наиболее засушливом регионе пустыни Мохаве [Мoj]. При посевах выявлены представители 26 родов бактерий (рис. 9).

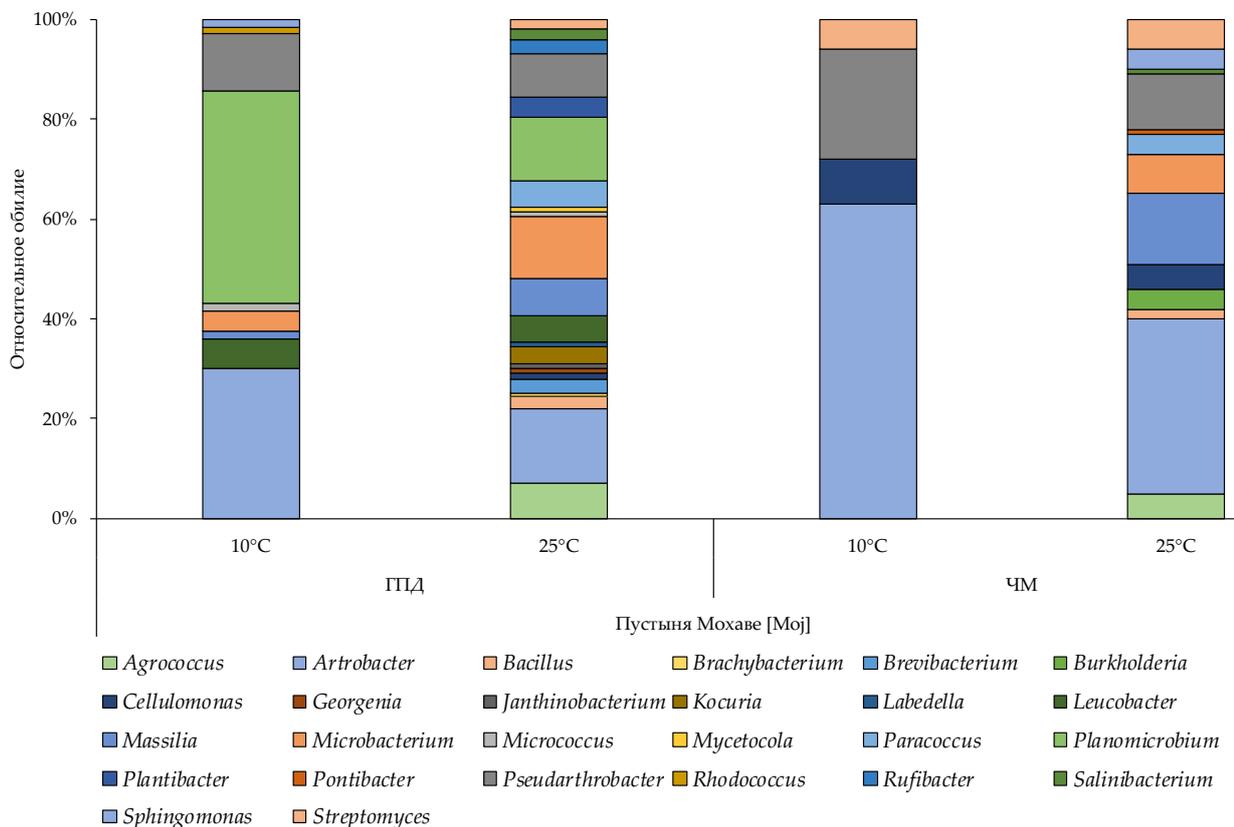


Рисунок 9. Структура сообществ культивируемых бактерий, выделенных из образца, отобранного в пустыне Мохаве. ГПД – сообщества, выделенные на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде; ЧМ – сообщества, выделенные на модифицированной среде Чапека. Температура на диаграмме указывает температуру инкубации, при которой были выделены данные сообщества.

Наиболее таксономически разнообразное бактериальное сообщество было выделено при температуре 25°C на среде ГПД: в этих условиях идентифицированы представители 22 родов бактерий, в то время как всего из данного образца были выделены представители 26 родов бактерий. Из данного образца при различных условиях культивирования были выделены в чистую культуру, представители родов *Bacillus*, *Burkholderia*, *Pontibacter* и *Rufibacter*, характеризующиеся низким сходством нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК с последовательностями, имеющимися в базах данных. Данные штаммы могут быть представителями ранее не описанных видов бактерий. Всего из исследованных образцов было выделено 430 штаммов аэробных гетеротрофных бактерий, принадлежащих к 59 родам: *Acinetobacter*, *Advenella*,

Agrococcus, Arthrobacter, Aureimonas, Bacillus, Brachy bacterium, Brevibacillus, Brevibacterium, Brevundimonas, Burkholderia, Cellulomonas, Chryseobacterium, Clavibacter, Corynebacterium, Dietzia, Enterobacter, Geodermatophilus, Georgenia, Glutamicibacter, Gordonia, Janibacter, Janthinobacterium, Klebsiella, Kocuria, Labedella, Leucobacter, Lysinibacillus, Massilia, Methylobacterium, Microbacterium, Micrococcus, Microvirga, Mycetocola, Nocardia, Ochrobactrum, Paenibacillus, Pantoea, Paracoccus, Pedobacter, Planococcus, Planomicrobium, Plantibacter, Pontibacter, Pseudarthrobacter, Pseudochrobactrum, Pseudomonas, Rhizobium, Rhodococcus, Rufibacter, Salinibacterium, Shinella, Sphingobacterium, Sphingomonas, Sphingopyxis, Staphylococcus, Stenotrophomonas, Streptomyces, Tsukamurella.

Рассчитанные по результатам мультисубстратного тестирования значения индекса Шеннона варьировались в пределах 0.73 – 3.93, рассчитанные по результатам анализа культивируемых сообществ значения этого индекса имеют значения от 0.99 до 3.9. Наблюдается хорошая сходимость значений индексов альфа-разнообразия: максимальные значения наблюдаются для сообществ мерзлоты архипелага Новая Земля и поверхностного горизонта почвы пустыни Мохаве. Это можно рассматривать как свидетельство одновременно высокого таксономического и функционального разнообразия сообществ большинства исследованных образцов. В результате анализа встречаемости бактерий разных родов в исследуемых типах экосистем не выявлены индикаторные рода бактерий, напротив, большинство представителей идентифицированных родов обнаруживаются как в аридных, так и не аридных почвах и породах.

Диапазоны устойчивости выделенных штаммов

Для всех штаммов, выделенных из исследованных образцов при описании структуры культивируемых бактериальных сообществ, оценивалась их способность к размножению при разных температурах культивирования, pH питательной среды, а также на средах с добавлением хлорида натрия, хлорида калия, сульфата магния, гидрокарбоната натрия или перхлората магния. Кроме того, проводили оценку устойчивости штаммов к клиническим антибиотикам, относящихся к разным классам по механизмам биологического действия. Оценка этих параметров позволяла получить физиологический профиль сообществ исследуемых образцов: отношение растущих *in vitro* в различных условиях штаммов к общему числу штаммов, выделенных из данного образца.

Независимо от температуры, при которой были выделены бактериальные культуры, все исследованные штаммы были способны репродуцировать на питательных средах при температуре 25°C. Среди бактерий, выделенных из крио-аридных образцов, около 20% штаммов были способны расти при температуре 2°C; из жарких аридных образцов в этих условиях росли только штаммы, выделенные из пустыни Мохаве [Mo]. Для выделенных из остальных жарких аридных пустынь штаммов минимальная температура роста составляла 10°C

(более 35% штаммов в каждом сообществе). Максимальная температура, при которой наблюдался рост штаммов в составе всех исследованных бактериальных сообществ, составляла 50°C – в среднем при этой температуре репродуцировали 5-10% штаммов в сообществах.

Полученные диапазоны устойчивости в градиенте значений рН среды выявили оптимум рН, характерный для нейтрофилов, у всех исследованных сообществ: в диапазоне рН 6 – 8 были способны развиваться от 77 до 100% изолятов, за исключением штаммов, выделенных из пустыни Мохаве [Moj], где доля штаммов, способных к росту, на среде с рН равным 6 составляла 54%. Нижний предел роста штаммов *in vitro* в большинстве сообществ находился при рН среды равном 3; при рН среды, равном 2, рост исследованных культур не выявлен.

Верхний предел рН среды, при котором наблюдается рост исследованных штаммов, находился при рН 12: в этих условиях росли от 19 до 68% штаммов в сообществах. Наибольшую алкалолтерантность проявили штаммы, выделенные из поверхностного горизонта почвы пустыни Мохаве [Moj]: 100% штаммов, выделенных из этого образца, репродуцировали на средах с рН от 7 до 11 и 68% штаммов развивались на среде с рН, равным 12.

Независимо от температуры, при которой были выделены бактериальные культуры, все исследованные штаммы были способны репродуцировать на питательных средах при температуре 25°C. Среди бактерий, выделенных из крио-аридных образцов, около 20% штаммов были способны расти при температуре 2°C; из жарких аридных образцов в этих условиях росли только штаммы, выделенные из пустыни Мохаве [Moj]. Для выделенных из остальных жарких аридных пустынь штаммов минимальная температура роста составляла 10°C (более 35% штаммов в каждом сообществе). Максимальная температура, при которой наблюдался рост штаммов в составе всех исследованных бактериальных сообществ, составляла 50°C – в среднем при этой температуре репродуцировали 5-10% штаммов в сообществах.

Полученные диапазоны устойчивости в градиенте значений рН среды выявили оптимум рН, характерный для нейтрофилов, у всех исследованных сообществ: в диапазоне рН 6 – 8 были способны развиваться от 77 до 100% изолятов, за исключением штаммов, выделенных из пустыни Мохаве [Moj], где доля штаммов, способных к росту, на среде с рН равным 6 составляла 54%. Нижний предел роста штаммов *in vitro* в большинстве сообществ находился при рН среды равном 3; при рН среды, равном 2, рост исследованных культур не выявлен. Верхний предел рН среды, при котором наблюдается рост исследованных штаммов, находился при рН 12: в этих условиях росли от 19 до 68% штаммов в сообществах. Наибольшую алкалолтерантность проявили штаммы, выделенные из поверхностного горизонта почвы пустыни Мохаве [Moj]:

100% штаммов, выделенных из этого образца, репродуцировали на средах с рН от 7 до 11 и 68% штаммов развивались на среде с рН, равным 12.

Исследованные культуры характеризуются умеренными галотолерантными свойствами – подавляющее большинство изолятов было способно к репродукции на средах, содержащих 5-10% хлорида натрия. Наибольшая доля штаммов, репродуцирующих на среде, содержащей 10% NaCl, выявлена в сообществах, выделенных из мерзлоты архипелага Новая Земля, а также почв пустынь Мохаве и Гибсона. Показатели устойчивости штаммов исследованных сообществ на средах с добавлением градиента концентраций хлорида калия в целом схожи с таковыми для присутствия в средах хлорида натрия. Предельным значением концентрации хлорида калия в среде, при котором развивались штаммы, выделенные из всех аридных образцов, являлось значение 15%: в этих условиях репродуцировали в среднем около 20% штаммов во всех сообществах. Оценка диапазонов устойчивости штаммов к присутствию в среде сульфата магния выявила низкую ингибирующую способность данной соли: около 50% и более штаммов в сообществах, выделенных из аридных почв, репродуцировали на среде, содержащей 20% MgSO₄. Гидрокарбонат натрия, добавленный в состав среды, напротив, оказывал на исследованные штаммы сильное ингибирующее воздействие. Наиболее распространены штаммы, способные репродуцировать в присутствии 2% гидрокарбоната натрия в среде, обнаруженные в сообществах, выделенных из всех аридных образцов, где их доля достигала 42% от общего числа штаммов в них. Сообщества, выделенные из мерзлоты архипелага Новая Земля и пустыни Мохаве, содержали штаммы, способные к репродукции при более высоких концентрациях NaHCO₃ в среде. Бактерии, выделенные из аридных образцов, были способны развиваться на средах, содержащих 5% Mg(ClO₄)₂ и их доля в соответствующих сообществах варьировала от 16 до 40%. Штаммы, выделенные из почвы пустыни Мохаве, проявили самую высокую устойчивость к присутствию данного соединения в среде: более 60% штаммов репродуцировали в диапазоне концентраций Mg(ClO₄)₂ от 0.5 до 10% и почти 50% развивались на среде с 15% перхлората магния.

Штаммы бактерий, проявившие способность развиваться *in vitro* в самых широких диапазонах температур и рН среды, а также в присутствии различных водорастворимых солей, принадлежали к родам *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Georgenia*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Planomicrobium*, *Pontibacter*, *Pseudarthrobacter*, *Rufibacter*, *Salinibacterium*, *Streptomyces*. Таксономическое разнообразие полиэкстремотолерантных штаммов, выявленное в ходе данного исследования можно рассматривать как свидетельство того, что данные свойства не являются специфической чертой того или иного бактериального таксона, а развиваются как адаптации бактерий, существующих в условиях дефицита влаги и контрастного физико-химического режима. Как уже упоминалось выше, адаптация ко многим из рассматриваемых факторных воздействий может быть

обусловлена устойчивостью к окислительному и осмотическому стрессам и высушиванию, которому подвергаются данные бактерии *in situ* (Makhalanyane et al., 2015). Антибиотикоустойчивые штаммы выявлены среди проанализированных бактерий, выделенных из всех исследованных образцов, и составляют не более 50% от соответствующих сообществ. Наибольшее число штаммов было устойчиво к цефалексину. Рифампицин в составе среды ингибировал почти все исследованные культуры бактерий, обнаружены единичные устойчивые к этому антибиотику штаммы. Один из исследуемых штаммов был не восприимчив ко всем антибиотикам в исследованных концентрациях: бактерия *Sphingopyxis chilensis*, выделенная из пустыни Сахара.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В современной биосфере существует чрезвычайно высокое разнообразие экосистем, испытывающих дефицит влаги, образовавшихся как вследствие естественных геологических и климатических процессов, так и в результате антропогенной деятельности. В настоящей работе исследованы прокариотные сообщества холодных и жарких аридных почв и осадочных пород: их структура и физиологические характеристики штаммов. Установлено, что во всех исследованных экотопах наблюдаются высокие значения общей численности прокариот. Максимальные значения численности культивируемых бактерий и их разнообразия выявлены на богатых питательных средах при температуре инкубации 25°C. Структура сообществ метаболически активных прокариот и культивируемых бактерий исследованных образцов была сходна на уровне филумов, в то же время отмечены существенные различия на родовом уровне.

Показано, что большинство штаммов аэробных гетеротрофных бактерий, выделенных из исследованных образцов, способны расти *in vitro* в широких, вплоть до экстремальных, диапазонах температур и pH среды, а также в присутствии различных водорастворимых солей. В данной работе выявлено, что полиэкстремотолерантность характерна для большинства культивируемых бактерий, выделенных из аридных экосистем.

Известно, что устойчивость микроорганизмов в составе сообществ в естественной гетерофазной среде существенно превосходит устойчивость в чистой культуре за счет взаимодействий клетки с окружающей ее твердофазной средой, так и с внутри- и межпопуляционными взаимодействиями в сообществах. Результаты исследования позволяют предполагать сохранение метаболической активности бактериальных сообществ исследованных образцов в широких диапазонах внешних факторов, и, следовательно, их участие в биосферных процессах.

Прикладное значение полученных результатов заключается в обнаружении термо- и pH-толерантных штаммов, которые могут использоваться в дальнейшем при разработке новых или модификации существующих биотехнологических

производств. Антибиоткоустойчивые изоляты, в особенности характеризующиеся множественной резистентностью, перспективны к дальнейшему исследованию данного явления, с целью его преодоления в медицинской практике, а также для поиска продуцентов новых веществ-антагонистов. Полученные в ходе исследования штаммы бактерий могут быть использованы в модельных экспериментах направленных на изучение жизнеспособности и/или метаболической активности прокариот при совокупном воздействии стрессовых факторов.

ВЫВОДЫ

1. В исследованных образцах аридных почв и пород установлена общая численность прокариотных клеток на уровне $10^7 - 10^8$ клеток/г, из которых до 6.7% способны переходить в метаболически активное состояние *in situ* после увлажнения и до 5% культивируются на питательных средах. Минимальные значения указанных показателей выявлены в древней мерзлоте долины Бикона; максимальные – в мерзлоте архипелага Новая Земля и почвах пустынь Мохаве и Гибсона.
2. Структура сообществ культивируемых бактерий исследованных образцов была сходна на уровне филумов (*Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Firmicutes*), в то же время отмечены существенные различия на родовом уровне. Наиболее разнообразные в таксономическом и функциональном отношении бактериальные сообщества выявлены в мерзлых породах Северного острова архипелага Новая Земля и поверхностном горизонте почвы пустыни Мохаве. При различных условиях культивирования из этих образцов выделены представители 30 и 26 родов аэробных гетеротрофных бактерий соответственно.
3. Впервые охарактеризованы прокариотные сообщества *in situ* и культивируемые бактериальные комплексы мерзлых осадочных пород Северного острова архипелага Новая Земля. Прокариотное сообщество *in situ* характеризуется высоким биологическим разнообразием, доминирующими в сообществе являются представители филума *Proteobacteria*, субдоминантные позиции занимают представители филумов *Actinobacteria* и *Bacteroidetes*.
4. В ходе работы составлена коллекция из 430 культур представителей 59 родов аэробных гетеротрофных бактерий, в том числе 11 штаммов ранее не описанных видов. Для всех культур определены таксономическое положение и физиологические характеристики, включающие в себя пределы толерантности в отношении температуры, рН среды, концентрации водорастворимых солей, а также устойчивость к антибиотикам.
5. Показано, что большинство исследованных бактерий (84% штаммов коллекции), а не отдельные изоляты, как считалось ранее, характеризуется полиэкстремотолерантными свойствами *in vitro* в отношении исследованных

факторов. Выявлены штаммы бактерий (33 штамма) проявляющие наибольшую толерантность к температурам, рН среды и присутствию водорастворимых солей, для 13 штаммов показана множественная антибиотикоустойчивость.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Список публикаций в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах данных WoS, SCOPUS и RSCI:

- 1) **Belov A.A.**, Cheptsov V.S., Vorobyova E.A. Soil bacterial communities of Sahara and Gibson deserts: Physiological and taxonomical characteristics // AIMS Microbiology. 2018. V. 4, No. 4. P. 685–710. doi: 10.3934/microbiol.2018.4.685. IF: 2.03; SJR: 0.57; Q3
- 2) **Belov A.A.**, Cheptsov V.S., Vorobyova E.A., Manucharova N.A., Ezhelev Z.S. Stress-tolerance and taxonomy of culturable bacterial communities isolated from a central Mojave desert soil sample // Geosciences. 2019. V. 9, No. 4. P. 166. doi: 10.3390/geosciences9040166. Scopus Citescore: 3.4; SJR 0.606; Q2
- 3) **Belov A.A.**, Cheptsov V.S., Vorobyova E.A., Manucharova N.A., Ezhelev Z.S. Culturable bacterial communities isolated from cryo-arid soils: Phylogenetic and physiological characteristics // Paleontological Journal. 2020. V. 54, No 8. P. 95–104. doi: 10.1134/S0031030120080043. IF: 0.73; SJR: 0.42; Q3
- 4) **Belov A.A.**, Cheptsov V.S., Manucharova N.A., Ezhelev Z.S. Bacterial communities of Novaya Zemlya archipelago ice and permafrost // Geosciences. 2020. V. 10, No 2. P. 67. doi: 10.3390/geosciences10020067. Scopus Citescore: 3.4; SJR 0.606; Q2
- 5) Kotsyurbenko O.R., Cordova J.A., **Belov A.A.**, Cheptsov V.S., Kölbl D., Khrunyk Y.Y., Kryuchkova M.O., Milojevic T., Mogul R., Sasaki S., Słowik G.P., Snytnikov V., Vorobyova E.A. Exobiology of the Venusian Clouds: New Insights into Habitability through Terrestrial Models and Methods of Detection // Astrobiology. 2021. V. 21. No 9. P 1–20. doi: 10.1089/ast.2020.2296 IF: 4.091; SJR: 1.23; Q1
- 6) Воробьева Е.А., **Белов А.А.**, Чепцов В.С., Соина В.С., Крючкова М.О., Караевская Е.С., Иванова А.Е. Устойчивость микроорганизмов экстремальных ксерофитных экотопов к воздействию инактивирующих факторов // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2018. No 4. С. 111–127. doi: 10.26897/0021-342X-2018-4-111-127. IF РИНЦ: 0.297

Список публикаций в рецензируемых научных изданиях, входящих в перечень ВАК:

- 7) **Белов А.А.**, Чепцов В.С., Воробьева Е.А. Биоразнообразие и таксономическая структура аэробных гетеротрофных бактериальных комплексов некоторых пустынных экосистем // Современные проблемы науки и образования. 2017. No 5. С. 344-344. IF РИНЦ: 0.94

- 8) Манучарова Н.А., Чепцов В.С., **Белов А.А.**, Воробьева Е.А., Зенова Г.М., Степанов А.Л. Почва как природный банк микробного разнообразия: новые подходы и актуальные аспекты // Вестник Российского фонда фундаментальных исследований. 2020. Т. 106, No 2. С. 88–100. doi: 10.22204/2410-4639-2020-106-02-88-100. IF РИНЦ: 0.296

Публикации в прочих научных изданиях:

- 9) **Белов А.А.** Бактериальные сообщества архипелага Новая земля: анализ устойчивости к воздействию рН и температуры // Ломоносов-2015: XXII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых: Секция Почвоведение. Макс Пресс Москва. 2015. С 61–62.
- 10) Воробьева Е.А., Чепцов В.С., Соина В.С., **Белов А.А.**, Соловьева О.А., Крючкова М.О., Иванова А.Е. Устойчивые микроорганизмы экстремальных местообитаний // Материалы международной конференции Современные аспекты сельскохозяйственной микробиологии. Москва. 2016. С. 33–34.
- 11) **Белов А.А.** Устойчивость бактерий экстремальных местообитаний к физико-химическим факторам среды // 2-ая Всероссийская конференция по астробиологии Жизнь во Вселенной: физические, химические и биологические аспекты, Пушино, Россия. Программа и сборник тезисов. ИФХиБПП РАН, Пушино. 2016. С. 57–57.
- 12) **Белов А.А.** Гетеротрофные бактериальные сообщества архипелага Новая Земля: анализ устойчивости к рН и температуре, физиологические особенности // XXIII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых Ломоносов-2016. Почвоведение. Макс Пресс Москва. 2016. С. 14–15.
- 13) **Белов А.А.** Бактериальные сообщества архипелага Новая Земля: микробиологическая характеристика и анализ устойчивости к физико-химическим факторам среды // Сборник тезисов XI молодежной школы-конференции с международным участием Актуальные Аспекты Современной Микробиологии. Макс Пресс Москва. 2016. С. 26–27.
- 14) **Белов А.А.**, Чепцов В.С. Прокариотные комплексы некоторых пустынных экосистем // Тезисы докладов XXIV Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых Ломоносов-2017. Почвоведение. Макс Пресс Москва. 2017. С. 16–17.
- 15) **Belov A.A.**, Cheptsov V S., Vorobyova E.A. Halotolerance of bacteria from extreme ecosystems: implications for astrobiology // The Ninth Moscow Solar System Symposium. IKI RAS, Moscow. 2018. P. 264–266.
- 16) **Belov A.**, Cheptsov V., Vorobyova E. Astrobiological collection of bacteria from extreme habitats // XXXVII Annual Meeting of the European Culture Collections' Organisation ECCO 2018. Макс Пресс Москва. 2018. P. 12–13.

- 17) **Белов А.А.,** Чепцов В. С. Бактериальные сообщества почв и осадочных пород экстремальных местообитаний // Сохраняя традиции – к новым достижениям: научная конференция, посвященная памяти ведущих ученых в области почвенной микробиологии И.Ю. Чернова, М.М. Умарова, О.Е. Марфениной, Б.А. Бызова. Тезисы докладов. Макс Пресс Москва. 2019. С. 10–11.
- 18) **Belov A.A.,** Cheptsov V.S., Vorobyova E.A., Ezhelev Z.S. Multiple stress-tolerance of culturable bacteria from extreme habitats: astrobiological implication // Venera-D Landing Sites selection and Cloud Layer Habitability Workshop. Materials. KI RAS, Moscow. 2019. P. 9–11.
- 19) **Belov A.A.,** Cheptsov V.S., Vorobyova E.A., Manucharova N.A., Ezhelev Z.S. Edaphic bacterial communities of the arid Mojave desert: Astrobiological implication // The Tenth Moscow Solar System Symposium. KI RAS, Moscow. 2019. P. 510–511.
- 20) **Белов А.А.,** Чепцов В.С. Культивируемые бактериальные сообщества пустыни Мохаве (США): таксономическая и физиологическая характеристика // IV Молодежная конференция Почвоведение: Горизонты будущего. Почвенный институт им. В.В. Докучаева. Москва. 2020. С. 143–145.
- 21) **Белов А.А.,** Чепцов В.С. Метаболическая активность микробных сообществ в условиях дефицита влаги // Экзобиология: от прошлого к будущему: 3-я Всероссийская конференция по Астробиологии. Пушино. Программа и сборник тезисов. Пушино, 2020. С. 133–136.
- 22) **Belov A.A.,** Cheptsov V.S., Manucharova N.A., Ezhelev Z.S. Microbial communities of Novaya Zemlya permafrost: physiological properties and astrobiological implication // The Eleventh Moscow Solar System Symposium. IKI RAS, Moscow. P. 107–109.