

В.А. Романовская¹, П.В. Рокитко¹, С.О. Шилин¹, Н.А. Черная¹, А.Б. Таширев²

¹Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев
ул. Академика Заболотного, 154, Киев ГСП, Д03680, Украина

²Национальный антарктический центр МОН Украины, Киев

РАСПРОСТРАНЕНИЕ БАКТЕРИЙ РОДА *METHYLOBACTERIUM* В НАЗЕМНЫХ БИОТОПАХ АНТАРКТИКИ

Изучено распространение метилотрофов в наземных биотопах (мох, лишайник, трава, почва, ил озер) на островах Галиндез (*Galindez*), Барханы (*Barchans*), Иризар (*Irizar*), Уругвай (*Uruguay*), Ялур (*Jalour*), Питерман (*Petermann*), Берселот (*Berthelot*), Крулс (*Cruels*), Кинг-Джордж (*King-Georg*), Корнер (*Corner*), Скуа (*Skuia*), расположенных в Тихоокеанском секторе Антарктики, а также в аналогичных биотопах на западном побережье Антарктического полуострова. На основании комплекса диагностических признаков изолированные розовоокрашенные штаммы, факультативно использующие метанол и реализующие сериновый цикл ассимиляции одноуглеродных соединений, отнесены к роду *Methylobacterium*. Штаммы *Methylobacterium* чаще встречаются на мхах, траве *Deschampsia antarctica* и лишайниках, чем в почве и иле озер. Некоторые регионы Антарктики сопоставимы по количеству клеток *Methylobacterium* с таковым в регионах с умеренным климатом. Анализ последовательностей генов 16S рРНК антарктических метилобактерий с таковыми в GenBank показал высокий уровень сходства с *Methylobacterium extorquens* (99,4–99,7 %). Хотя штаммы *Methylobacterium* устойчивы к широкому спектру экстремальных факторов (γ -облучение, УФ облучение, дегидратация), антарктические и коллекционные штаммы данного рода чувствительны к ионам таких тяжёлых металлов как Cu, Hg, Cd, Cr (10 мг/л).

Ключевые слова: острова Антарктики, *Methylobacterium*, чувствительность к тяжёлым металлам.

Ранее сообщалось о существовании в Антарктике метилотрофной микробиоты [1, 14, 15]. Нами также на нескольких островах в западной Антарктике были выявлены психротолерантные штаммы *Methylobacterium* [9]. Однако эти спорадические исследования не дают целостного представления о распространении метилобактерий в такой уникальной географической зоне, как Антарктика. Цель данной работы – изучить распространение в типичных биотопах Антарктики штаммов *Methylobacterium*, а также определить наличие среди них металлрезистентных форм, поскольку таковые были обнаружены среди других физиологических групп антарктических микроорганизмов [10].

Материалы и методы. Выделение метилотрофных бактерий. Использовали нативные и высушенные образцы из наземных биотопов (почва, мох, лишайник, трава, ил), которые были отобраны во время украинской экспедиции в Антарктику в 2006 и 2007 гг. Образцы высушивали при комнатной температуре между двумя слоями стерильной гигроскопической бумаги. Далее образцы растирали в фарфоровой ступке и 1 г образца вносили в 10 мл стерильного физиологического раствора (0,5 % раствор NaCl). Эти разведения (10^{-1}) использовали для нанесения (0,1 мл) на агаризованную поверхность среды в чашке Петри. Для выявления факультативных метилотрофных бактерий использовали агаризованную (15 г агара Difco/л) минеральную среду ММ с метанолом (0,5 об.%) в качестве углеродного субстрата [8]. Для выявления метилотрофных бактерий, которые устойчивы к тяжёлым металлам, в среду ММ вносили растворы металлов до конечной концентрации 10 мг иона металла/л среды. Чистые культуры факультативных метилотрофов выделяли, используя стандартные процедуры [8].

Приготовление растворов ионов тяжёлых металлов. Использовали CuSO_4 , CdCl_2 , K_2CrO_4 , $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$, которые растворяли до концентрации: 10 г/л (Cu^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{6+}) и 1 г/л Hg^{2+} . Нитрат ртути получали растворением металлической ртути (1 г) в конц. HNO_3 (5,0 мл). Раствор упаривали на водяной бане до состояния влажного осадка („мокрый снег“), а затем $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ растворяли в дистиллированной воде (1 л). Растворы металлов стерилизовали кипячением

© В.А. Романовская, П.В. Рокитко, С.О. Шилин, Н.А. Черная, А.Б. Таширев, 2009

(30 мин) на водяной бане. Для предотвращения образования осадка при кипячении, в растворы солей (кроме K_2CrO_4) добавляли 0,5 М ЭДТА (до конечной концентрации 5 г/л), охлаждали (до 25 °С) и вносили в среду (до конечной концентрации 10 мг/л).

Идентификация бактерий. Первичную идентификацию бактерий проводили на основании изучения их морфолого-культуральных и физиологических свойств общепринятыми методами, приведенными в руководстве [2]. Способность бактерий ассимилировать различные источники углерода определяли стандартными методами. Органические кислоты вносили в среду в виде солей натрия (5,0 г в 1 л, pH среды 6,5–6,8). Путь ассимиляции метанола определяли, как описано в работе [13].

Молекулярно-генетические методы. Выделение тотальной ДНК проводили методом, описанным в руководстве [3]. Ген 16S рРНК амплифицировали, используя универсальные для большинства эубактерий олигонуклеотидные праймеры (27f и 1492r) [12]. ПЦР проводили на термоциклере Eppendorf (Германия). Более подробно эти методы описаны нами ранее [5]. Сиквенирование амплифицированных генов 16S рРНК проводили в обоих направлениях, с помощью прямого и обратного праймеров (27f и 1492r), на сиквенаторе CEQ 2000XL (Beckman Coulter) с использованием набора реактивов CEQ DTCS, согласно рекомендациям фирмы-производителя. Последовательности генов 16S рРНК исследуемых штаммов сравнивали с таковыми различных видов бактерий в базе данных GenBank.

Результаты и их обсуждение. *Выделение метилотрофных бактерий из антарктических образцов.* Для микробиологического анализа нами были отобраны образцы на островах Аргентинского архипелага, примыкающего к Антарктическому полуострову: Галиндез (Galindez), Барханы (Barchans), Иризар (Irizar), Уругвай (Uruguay), Ялур (Jalour), Питерман (Petermann), Берселот (Berthelot), Крулс (Cruls), Кинг-Джордж (King-Georg), Корнер (Corner), Скуа (Skua). Кроме того, образцы отбирали также на западном побережье Антарктического полуострова: мыс Расмуссен (Rasmussen) и мыс Туксен (Tuxen). Основным местом наших исследований служили острова Аргентинского архипелага, расположенные в Тихоокеанском секторе Антарктики в зоне субантарктического морского климата (рис. 1). Всего было изучено 80 образцов из различных биотопов Антарктики: мох, лишайник, трава, почва, ил озер.

На минеральной среде с метанолом (в качестве единственного источника углерода и энергии) из антарктических образцов были получены розовоокрашенные колонии метилотрофов. Изолированы накопительные культуры метилотрофов, из них 15 штаммов выделены в чистую культуру. Установлено, что они (1) образуют розово пигментированные колонии; (2) способны ассимилировать, кроме метанола, другие органические соединения; (3) у них отсутствует гексулозофосфатсинтаза, но функционируют оксипируватредуктаза и серинглиоксилатаминотрансфераза, что свидетельствует о способности реализовать сериновый цикл ассимиляции одноуглеродных соединений. На основании комплекса этих диагностических признаков исследуемые розовоокрашенные метилотрофные штаммы отнесены к роду *Methylobacterium*.

Штаммы *Methylobacterium* выявлены на островах Антарктики, а также на западном побережье Антарктиды (табл. 1). Они обнаружены во мхе около водоёмов, на моховом поле, во мхе скальных трещин; на розовых, оранжевых и темноокрашенных лишайниках, которые находятся на камнях и скальном массиве. Реже они выявлялись в образцах почвы (табл. 2). В антарктической почве, на которой отсутствовала растительность, как правило, не были выявлены метиლობактерии, поскольку они, являясь эпифитной микрофлорой, приурочены к местам, где растёт трава и мох (табл. 2). В антарктических образцах ила из высохших естественных водоёмов (образуемых в процессе таяния снега, диаметром 3–5 м), в почве и мхе вблизи этих водоёмов, в почве из трещины скалы, а также на некоторых лишайниках метиლობактерии не были обнаружены. Видимо, более типичным местообитанием этих бактерий являются мхи, а также растительно-почвенные образцы. Это не удивительно, так как известно, что представители рода *Methylobacterium* составляют до 60 % от общего числа бактерий филлосферы растений в регионах с умеренным климатом [7, 11]. Экологическая роль метиლობактерий определяется тем, что они, являясь фитосимбионтами, синтезируют ауксины, цитокинины, витамины и другие физиологически активные вещества и тем самым способствуют росту растений [11].

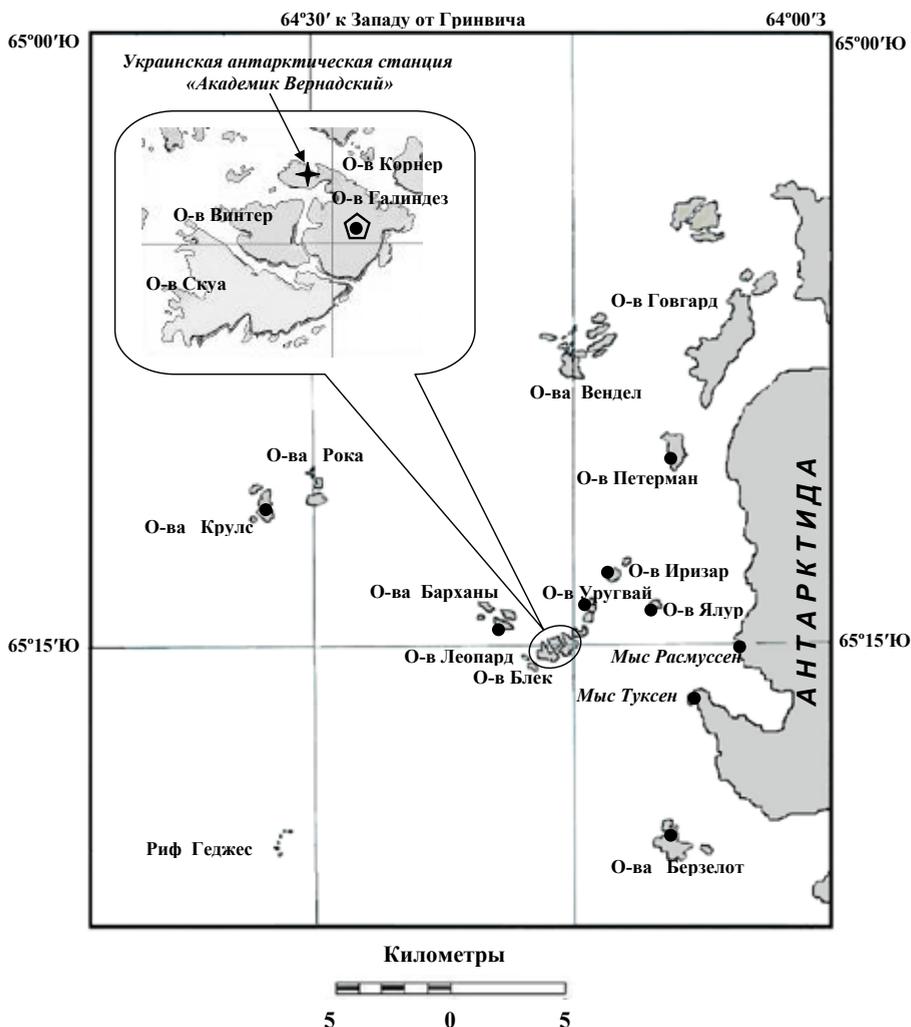


Рис. 1. Карта-схема западного побережья Антарктиды с прилегающими к нему островами. На вьсьне в левом верхнем углу карты показана часть обследованных островов Аргентинского архипелага, увеличенных в несколько раз, в том числе о. Галиндез, на котором расположен биогеографический полигон.

Условные обозначения: ★ – украинская антарктическая станция «Академик Вернадский»;
 ◡ – биогеографический полигон на о. Галиндез; ● – острова, на которых отбирались образцы для микробиологического анализа.

Сравнительный анализ показал (табл. 1), что количество метилотрофных бактерий в образцах почвы из Антарктики меньше на один-два порядка, чем в образцах, отобранных в регионе с умеренным климатом (Украина). Вместе с тем, в Антарктике имеются места, которые сопоставимы по содержанию клеток *Methylobacterium* с таковым в регионах с умеренным климатом. В целом, полученные результаты свидетельствуют о широком распространении бактерий рода *Methylobacterium* в изученных нами типичных биотопах Антарктики.

Устойчивость к тяжелым металлам. Недавно нами было показано, что в Антарктике (Аргентинский архипелаг) широко распространены микроорганизмы, резистентные к высоким концентрациям (100–500 мг-ионов/г образца) токсичных металлов, таких как Hg^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} и CrO_4^{2-} [10]. Это побудило нас параллельно провести выделение метилотрофов из антарктических образцов на средах с повышенным содержанием металлов. Однако, штаммы *Methylobacterium* не были выявлены при посеве антарктических образцов на среды, содержащие даже 10 мг ионов тяжелых металлов (Cu, Hg, Cd или Cr) в 1л среды. Вместе с тем на МПА были выделены металлрезистентные хемоорганотрофные бактерии из тех же регионов. Показано, что рост коллекционных штаммов *Methylobacterium* ингибируется даже меньшими

концентрациями металлов (1–2 мг иона металла/л среды). Видимо, у них отсутствуют механизмы, обеспечивающие устойчивость к металлам, хотя ранее [4] нами было установлено, что штаммы *Methylobacterium* устойчивы к другим экстремальным факторам (γ -облучение, УФ облучение, дегидратация, перекись водорода).

Идентификация изолированных штаммов. Как сказано выше, изучение некоторых диагностических признаков изолированных антарктических штаммов позволило отнести их к роду *Methylobacterium*. Как правило, видовая диагностика штаммов *Methylobacterium* затруднена, т.к. практически отсутствуют фенотипические признаки, которые дифференцируют виды данного рода. Проведенный нами ранее сравнительный анализ последовательностей генов 16S рРНК бактерий рода *Methylobacterium* с таковыми различных видов бактерий в GenBank показал, что штаммы *Methylobacterium* можно идентифицировать по уровню сходства генов 16S рРНК, если это согласуется с фенотипическим подходом [7]. Методами, описанными ранее [5], из биомассы антарктических штаммов UCM В-3391 и UCM В-3392 выделены препараты ДНК, с использованием ПЦР получены амплификаты гена 16S рРНК, которые далее секвенированы. Нуклеотидные последовательности генов 16S рРНК данных бактерий депонированы в GenBank (номера доступа EF442172 и EF442173, соответственно). В таблице 3 приведены результаты идентификации исследованных штаммов, полученные при сравнительном анализе нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК изучаемых бактерий с таковыми последовательностями различных видов бактерий в базе данных GenBank. Как следует из представленных данных, исследованные антарктические штаммы по секвенсу гена 16S рРНК имеют высокий уровень сходства с *Methylobacterium extorquens* (99,4–99,7 %) (табл. 3). С другими видами рода *Methylobacterium* эти штаммы имели низкий уровень сходства – 93–96 %. Следует отметить, что *M. extorquens* является наиболее распространённым видом как в почве, так и филлосфере растений в различных регионах Украины (по сравнению с другими видами *Methylobacterium*) [7].

Широкое распространение метилотрофных бактерий рода *Methylobacterium* в Антарктике является логичным, т.к. для их существования в Антарктике имеются объективные условия. Так, ранее были выявлены психротолерантные формы среди коллекционных штаммов метилотрофных бактерий [9], что свидетельствует о потенциальной возможности этих бактерий существовать при низких температурах. Причём психротолерантные формы метилотрофов обнаружены среди мезофильных коллекционных бактерий, которые были изолированы из регионов с умеренным климатом [9]. Трофические потребности этих бактерий, видимо, обеспечиваются естественными процессами трансформации органических веществ (мха, птичьего помёта и т. п.) до метанола. Утилизация метанола в экосистемах Антарктики, несомненно, имеет важное экологическое значение, т. к. предохраняет атмосферу от загрязнения этим токсичным соединением. Более того, как ранее было показано, эпифитные и почвенные штаммы *Methylobacterium* не только не являются катализаторами процесса льдообразования, но некоторые из них способны снижать температуру замерзания воды, т.е., в природных условиях они оказывают «антифризное» действие на процесс кристаллизации льда [6]. Эти свойства штаммов *Methylobacterium* имеют большое значение для выживаемости биоты в условиях Антарктики.

Таблица 1

Количество метилотрофных бактерий (род *Methylobacterium*) в образцах, отобранных в Антарктике (экспедиции 2006 и 2007 гг.)

Остров	Характеристика образца	Количество метилобактерий в 1 г образцов:	
		высушенных	нативных
1	2	3	4
Галиндез	Моховое поле	4×10^2	7×10^2
– " –	Мох	1×10^2	4×10^2
– " –	Почва под мхом в скале	4×10^2	н.о.*
– " –	Почва (без растений)	0	0
– " –	Мох на дне скальной трещины	3×10^2	5×10^2
– " –	Оранжевые лишайники на скале	4×10^3	н.о.

1	2	3	4
Галиндез	Чёрные лишайники на скале	7×10^2	1×10^3
– " –	Ил	0	1×10^2
Барханы	Мох с почвой	4×10^2	н.о.
– " –	Почва (без растений)	0	0
Иризар	Серая почва	1×10^3	4×10^3
– " –	Ил	н.о.	1×10^3
Уругвай	Почва (без растений)	0	6×10^2
Питтерман	Мох	1×10^2	3×10^2
– " –	Трава <i>Deschampsia antarctica</i>	5×10^3	5×10^4
– " –	Почва (без растений)	н.о.	8×10^3
– " –	Ил	н.о.	1×10^2
Марио-Пьедро	Мох	2×10^2	н.о.
– " –	Лишайник	3×10^2	н.о.
Ялур	Трава <i>Deschampsia antarctica</i>	2×10^2	3×10^2
– " –	Почва	1×10^2	5×10^2
Берселот	Серая почва	1×10^2	н.о.
Круле	Лишайник	н.о.	1×10^2
Кинг-Джордж	Розовый лишайник на камнях	3×10^2	7×10^2
– " –	Ил водоёма	1×10^2	0
– " –	Почва под травой <i>D. antarctica</i>	1×10^2	1×10^2
– " –	Почва под лишайником	4×10^2	н.о.
Корнер	Почва (без растений)	н.о.	0
Скуа	Почва (без растений)	н.о.	0
Мыс Расмуссен	Мох	4×10^3	4×10^3
– " –	Лишайник	0	2×10^2
– " –	Почва	н.о.	6×10^2
– " –	Трава <i>Deschampsia antarctica</i>	н.о.	5×10^4
Мыс Туксен	Мох	1×10^2	8×10^3
– " –	Лишайник	5×10^3	5×10^4
– " –	Почва (без растений)	0	0
Лес под Киевом	Почва под деревьями	$0,1 - 1 (\times 10^3)$	$0,3 - 5 (\times 10^4)$
– " –	Почва под травой	$0,1 - 2 (\times 10^3)$	$0,7 - 6 (\times 10^4)$

Примечание: н.о. – не определяли.

Таблица 2

Количество образцов из биотопов Антарктики, в которых были выявлены метилотрофные бактерии рода *Methylobacterium* (в % от количества изученных образцов определённого биотопа)

Биотоп	Количество образцов		
	Исследованных	в которых выявлены метилотрофы	
		Количество	% от количества
Мох	25	22	88
Лишайник	15	10	66
Трава	10	8	80
Почва под растениями	8	7	87
Почва без растений	12	2	16
Ил	10	3	30

Уровень сходства исследуемых штаммов с родственными штаммами *Methylobacterium* (по сиквенсу 16S рРНК)

№ штамма	Откуда изолирован	Родственный вид	
		Вид, в скобках № доступа в GenBank	Сходство, %
050	Антарктика, о. Ирizar. Почва	<i>M. extorquens</i> (AF531770)	99,7
		<i>M. extorquens</i> (AB175633)	99,7
		<i>M. extorquens</i> (AF293375)	99,7
053	Антарктика, о. Берселот. Почва	<i>M. extorquens</i> (AF531770)	99,6
		<i>M. extorquens</i> (AY365229)	99,4
		<i>M. extorquens</i> (AB175632)	99,6

В.А. Романовська¹, П.В. Рокитко¹, С.О. Шилін¹, Н.А. Чорна¹, А.Б. Таширев²

¹Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ

²Національний антарктичний центр МОН України, Київ

РОЗПОВСЮДЖЕННЯ БАКТЕРІЙ РОДУ *METHYLOBACTERIUM* У НАЗЕМНИХ БІОТОПАХ АНТАРКТИКИ

Резюме

Вивчено розповсюдження метилотрофів в наземних біотопах (мох, лишайник, трава, ґрунт, мул озер) на островах Галіндез (Galindez), Бархани (Barchans), Ірізар (Irizar), Уругвай (Uruguay), Ялур (Jalour), Пітерман (Petermann), Берселот (Berthelot), Крулс (Cruls), Кінг-Джордж (King-Georg), Корнер (Corner), Скуа (Skua), які розташовані у Тихоокеанському секторі Антарктики, а також у аналогічних біотопах на західному узбережжі Антарктичного півострова. На основі комплексу діагностичних ознак ізольовані рожевозабарвлені штами, які використовують факультативно метанол і реалізують сериновий цикл асиміляції одновуглецевих сполук, віднесено до роду *Methylobacterium*. Штами *Methylobacterium* частіше зустрічаються на мохах, траві *Deschampsia antarctica* та лишайниках, ніж у ґрунті та мулі озер. Деякі регіони Антарктики зіставні за кількістю клітин *Methylobacterium* з такою ж у регіонах із помірним кліматом. Аналіз послідовностей генів 16S рРНК антарктичних метилобактерій із такими ж у GenBank показав високий ступінь подібності з *Methylobacterium extorquens* (99,4–99,7 %). Не дивлячись на те, що штами *Methylobacterium* стійкі до широкого спектра екстремальних факторів (γ-опромінення, УФ-опромінення, дегідратація), антарктичні та колекційні штами даного роду були чутливими до іонів таких важких металів як Cu, Hg, Cd, Cr (10 мг/л).

Ключові слова: острова Антарктики, *Methylobacterium*, чутливість до важких металів.

V.A. Romanovskaya¹, P.V. Rokitko¹, S.O. Shilin¹, N.A. Chorna¹, A.B. Tashirev²

¹Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

²National Antarctic Centre,
Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv

DISTRIBUTION OF BACTERIA OF *METHYLOBACTERIUM* GENUS IN THE TERRESTRIAL BIOTOPES OF THE ANTARCTIC REGION

Summary

Methylotrophs distribution has been studied in the terrestrial biotopes (moss, lichen, grass, soil, sludge of lakes) on the islands of Galindez, Barkhans, Irizar, Uruguay, Jalour, Petermann, Berthelot, Cruls, King George, Corner, Skua located in the Pacific sector of the Antarctic Region, as well as in analogous biotopes on the western shore of the Antarctic peninsula. Basing on a complex of diagnosis features the isolated pink-pigmented strains, which facultatively use methanol and realize the serine cycle of assimilation of one-carbon compounds, are attributed to *Methylobacterium* genus. *Methylobacterium* strains occur more often in mosses, grass *Deschampsia antarctica* and lichens, than in the soil and lake sludge. Some regions of Antarctica are comparable by the number of *Methylobacterium* cells with the same in the regions with moderate climate. An analysis of gene sequences 16S rRNA of the Antarctic methylotrophs with those of GenBank has shown a high extent of similarity with *Methylobacterium extorquens* (99.4–99.7 %). Notwithstanding that the strains of *Methylobacterium* are resistant to the broad range of extreme factors (γ-irradiation, UV-irradiation, dehydration), the Antarctic and collection strains of the genus were sensitive to the ions of such heavy metals as Cu, Hg, Cd, Cr (10 mg/l).

The paper is presented in Russian.

Key word: the Antarctic Region, *Methylobacterium*, sensitivity to heavy metals.

The authors' address: V. A. Romanovskaya, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03 680, Ukraine.

1. Беляев А.С., Черных В.Ф., Гальченко В.Ф., Иванов М.В. Детекция метилотрофов в природных образцах методом амплификации фрагмента тоxF-гена. // Микробиология. – 1995. – **64**, № 6. – С. 788–791.
2. Методы общей бактериологии // Под ред. Ф. Герхард и др. – Москва: Мир, 1983. – Т. 1. – 536 с.
3. Методы общей бактериологии // Под ред. Герхард Ф. и др. – Москва: Мир, 1984. – Т. 3. – 115 с.
4. Романовская В.А., Рокитко П.В., Михеев А.Н., Гуца Н.И., Малащенко Ю.Р., Черная Н.А. Влияние γ -излучения и дегидратации на выживаемость бактерий, изолированных из зоны отчуждения Чернобыльской АЭС // Микробиология. – 2002. – **71**, № 5. – С. 705–712.
5. Романовская В.А., Рокитко П.В., Шилин С.О., Малащенко Ю.Р. Идентификация штаммов *Methylobacterium* с использованием сиквенс-анализа генов 16S рРНК // Микробиология. – 2004. – **73**, № 6. – С. 846–848.
6. Романовская В.А., Столяр С.М., Малащенко Ю.Р., Додатко Т.В. Пути колонизации растений штаммами *Methylobacterium* и их некоторые свойства // Микробиология. – 2001. – **70**, № 2. – С. 263–269.
7. Романовская В.А., Столяр С.М., Малащенко Ю. Р. Систематика метилотрофных бактерий. – Киев: Наук. думка, 1991. – 211 с.
8. Романовская В.А., Столяр С.М., Малащенко Ю.Р. Распространение бактерий рода *Methylobacterium* в различных экосистемах Украины // Микробиол. журнал. – 1996. – **58**, № 3. – С. 3–11.
9. Романовская В.А., Шилин С.О., Черная Н.А. Таширев А.Б., Рокитко П.В., Малащенко Ю.Р. Поиск психрофильных метилотрофных бактерий в экстремальных биотопах Антарктики // Микробиол. журнал. – 2005. – **67**, № 3. – С. 3–11.
10. Таширев А.Б., Романовская В.А., Сиома И.А., Усенко В.П., Таширева А.А., Матвеева Н.А., Рокитко П.В., Копытов Ю.П., Серединин Е.С., Мизин Д.А., Подгорский В.С. Антарктические микроорганизмы, устойчивые к высоким концентрациям Hg^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} и CrO_4^{2-} // Доповіді Національної Академії наук України. – 2008. – № 1. – С. 169–176.
11. Троценко Ю.А., Иванова Е.Г., Доронина Н.В. Аэробные метилотрофные бактерии как фитосимбионты // Микробиология. – 2001. – **70**, № 6. – С. 725–736.
12. Lane D.E. 16S/23S rRNA Sequencing // Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics / Eds.: Stakebrandt E., Goodfellow M. – New York: Wiley. 1991. – P. 115–147.
13. Large P.J., Quayle J.R. Microbial growth on C_1 -compounds. V. Enzyme activities in extracts of *Pseudomonas* AM-1 // Biochem. J. – 1963. – **87**, N 8. – P. 386–396.
14. Moosvi S.A., McDonald I.R., Pearce D.A., Kelly D.P., Wood A.P. Molecular detection and isolation from Antarctica of methylophilic bacteria able to grow with methylated sulfur compounds // Syst. Appl. Microbiol. – 2005. – **28**, N 6. – P. 541–554.
15. Moosvi S.A., Pacheco C.C., McDonald I.R., De Marco P., Pearce D.A., Kelly D.P., Wood A.P. Isolation and properties of methane sulfonate-degrading *Afpia felis* from Antarctica and comparison with other strains of *A. felis*. // Environ. Microbiol. – 2005. – **7**, N 1. – P. 22–33.

Отримано 10.03.2008