

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ПСИХРОФИЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В НАЗЕМНЫХ БИОТОПАХ АНТАРКТИКИ

Показано, что в Антарктике количество аэробных хемоорганотрофных микроорганизмов, выявленных при 1 °С и 5 °С, составляло от 10⁴ до 10⁶ клеток/г растительно-почвенного образца наземных биотопов: трава *Deschampsia antarctica*, трава *Colobanthus*, зелёный мох, накипные чёрные лишайники и биоплёнка обрастания на вертикальных скалах. В тех же антарктических фитоценозах при 30 °С выявлено от 10⁶ до 10⁸ клеток/г образца. При 42 °С термотолерантные бактерии или отсутствовали, или их количество было менее 10⁴ клеток/г образца. Таким образом, доля (часть) антарктических микроорганизмов, растущих при различных температурах, варьировала: при 1-5 °С их доля составляла от 5 до 15 %, а при 30 °С – от 10 до 45 %. При 15-20 °С наблюдался рост как психрофильных/психротолерантных, так и мезофильных микроорганизмов. При сравнении результатов посева образцов из различных климатических зон (Антарктика и Украина) показано, что в антарктических биотопах по сравнению с биотопами зоны умеренного климата (1) общее количество микроорганизмов ниже, (2) более высокое количество психрофильных/психротолерантных бактерий, (3) меньшее количество мезофильных микроорганизмов, (4) в результате – доля психрофильных/психротолерантных микроорганизмов в общем микробном пуле значительно выше. Очевидно, низкие температуры, а также суточные циклы заморозания и оттаивания – это факторы, которые ограничивают микробную колонизацию биотопов Антарктики.

Ключевые слова: психрофильные микроорганизмы, Антарктика, наземные биотопы.

В настоящее время микробиологическими и молекулярно-биологическими методами даже в вечномерзлых осадках обнаружены представители различных филогенетических линий микроорганизмов: актинобактерий, споровых, протеобактерий и др. [15]. Показано, что в мерзлых осадочных породах доминируют неспорулирующие грамположительные бактерии порядка *Actinomycetales* [3]. Интерес к психрофильным и психротолерантным микроорганизмам вызван тем, что полярные регионы и Мировой океан занимают 14 и 71 % поверхности Земли, соответственно. Однако о психрофильной микрофлоре этих регионов известно мало. До сих пор в биотопах этих регионов не установлена относительная доля микроорганизмов, которые способны расти и проявлять метаболическую активность в природных условиях при низких температурах (1-5 °С). Среди таких микроорганизмов выделяют две физиологические группы: (1) облигатные психрофилы, оптимальная температура роста которых не превышает 15 °С, а максимальная – не выше 20 °С; (2) психротолерантные (то есть факультативные психрофилы, иногда называемые психротрофами), для которых оптимальная температура роста выше 15 °С, а максимальная – превышает 20 °С [13]. Психрофилия не является свойством каких-то отдельных таксонов. Способность к психрофилии выявлена у грамотрицательных бактерий (например, представители родов *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Cytophaga*), грамположительных (*Clostridium*), а также у архей (*Methanogenium* и *Methanococcus*). Среди психрофилов известны протисты и многоклеточные организмы [2]. В литературе имеются сведения о наличии во льдах и водах Антарктики психрофильных и психротолерантных бактерий, в том числе и новых видов [7-10, 14]. Ранее нами было показано широкое распространение мезофильных микроорганизмов в наземных биотопах Антарктики [5, 6]. Цель данной работы – определить распространение психрофилов в наземных антарктических биотопах и оценить количественное соотношение психро- и мезофильных микроорганизмов в них.

Материалы и методы. Выделение психрофильных и психротолерантных микроорганизмов. Образцы для микробиологических исследований отбирали на биогеографическом полигоне острова Galindez (Аргентинский архипелаг, Антарктика) во время сезонной Антарк-

тической экспедиции в январе 2010 г. и хранили при +5°C. Для сравнения отбирали образцы почвы из экологически чистого региона с умеренным климатом (Херсонская обл., заповедник Аскания Нова, степь). Подготовку образцов для посева проводили стандартными методами. Для выявления качественного разнообразия аэробных хемоорганотрофных микроорганизмов использовали стандартные питательные среды: глюкозо-картофельный агар (ГКА), мясо-пептонный агар (МПА) и агаризованное сусло (СА). Для подавления роста микромицетов в среды добавляли 50 мг нистатина на 1 л среды. Посевы культивировали при +1°C, +5°C (до 30 суток), при +15°C, +30°C, +42°C (до 10 суток).

Количество психро- и мезофильных микроорганизмов в образцах определяли посевом последовательных десятикратных разведений образцов на питательные среды [12] и культивировании их при +1°C, +5°C, +15°C, +30°C, +42°C. Подсчитывали различные морфотипы колоний в чашках, где общее количество колоний не превышало 50. То есть, учитывали морфотипы только тех видов, которые доминируют в исследованном природном образце. Основным критерием для определения различных морфотипов колоний служила совокупность следующих их признаков: пигментация, выделение водорастворимого пигмента, образование внеклеточной слизи, консистенция, размер (мм), наличие воздушного и субстратного мицелия и другие характерные признаки. Результаты учитывали через каждые 3 суток (при +1°C, +5°C) и ежедневно (при +15°C, +30°C, +42°C).

Результаты и их обсуждение. Для выделения психрофильных и психротолерантных микроорганизмов использовали образцы почвы из двух климатических зон: полярный регион (Антарктика, о. Галиндез) – и регион с умеренным климатом (Украина, заповедник Аскания Нова). Изучали также специфические для Антарктики растительно-почвенные биотопы: трава *Deschampsia antarctica* (высота – 2-5 см), трава *Colobanthus* (высота – до 2 см), зелёный мох (высота – 3-5 см), накипные чёрные лишайники на вертикальных скалах и биоплёнка обрастания на скалах. Всего было исследовано более 20 образцов (по три образца указанных биотопов). С учётом того, что такие фитоценозы, как мох и лишайники, содержали небольшое количество почвы, мы рассматривали их как растительно-почвенные образцы.

Показано, что количество аэробных хемоорганотрофных микроорганизмов, выявленных при 1 °C и 5 °C, составляло от 10⁴ до 10⁶ клеток/г образца наземных антарктических биотопов. Количество различных морфотипов колоний при этих температурах не превышало 2-х (исключение, некоторые образцы мха – до 3-х), наибольшее разнообразие морфотипов колоний обнаружено при 15 °C. В тех же антарктических фитоценозах (трава, мох) и почве при 30 °C выявлено от 10⁶ до 10⁸ клеток/г образца.

Чтобы сравнить количество психро- и мезофилов в исследованных образцах, определяли их процентное содержание в каждом образце (рис. 1). Количество микроорганизмов, выявленное в антарктических образцах при различных температурах их культивирования, было характерным для каждого типа вышеуказанных биотопов. Поэтому для наглядности на рис. 1 (и на других рисунках) приведены результаты посевов одного из образцов каждого типа. Как следует из приведенных данных (рис. 1), доля (часть) антарктических микроорганизмов, растущих при различных температурах, варьировала: при 1-5 °C их доля в образце составляла от 5 до 15 %, а при 30°C – от 10 до 45 %. При 15-20°C наблюдался рост как психрофильных/психротолерантных, так и мезофильных микроорганизмов.

Более чётко отличие между биотопами показаны на графике с логарифмической шкалой (рис. 2). В этом случае (рис. 2) за 100 % принято максимальное количество бактерий, выявленное в почве (образец K1) в зоне умеренного климата (Украина, Аскания Нова), которое составляло 5·10⁸ клеток/г образца. Полученные результаты показали, что в Антарктике в растительно-почвенных образцах содержание психрофилов выше, чем в биоплёнке обрастания на скалах и в почве. Аналогичные закономерности обнаружены также при посеве образцов на среду МПА (рис. 3).

Нами показано, что в наземных антарктических биотопах широко распространены психрофильные/психротолерантные бактерии, растущие при температурах от +1 °C до +15 °C. Это свидетельствует о возможности существования микроорганизмов при низкотемпературном режиме в различных полярных регионах в наземных биотопах, а не только в водных и ледовых системах, как было показано ранее (например, в морских льдах Антарктики [7-10 и др.]). В последнем случае, видимо, слой льда достаточно близок к поверхности и может слегка

оттаивать в теплое время года, что позволяет расти микроорганизмам. Это обусловлено тем, что температурный диапазон, при котором могут существовать микроорганизмы, ограничен температурой, при которой вода остается в жидком состоянии. Первичными продуцентами в таких условиях могут служить водоросли, например зеленая водоросль *Chamydomonas nivalis*, которая образует розовые налеты на поверхности снега и льда. В постоянно покрытых льдом водах Антарктики обнаруживаются также диатомовые водоросли [4]. Что же касается распространения психрофильных/психротолерантных микроорганизмов в наземных антарктических биотопах, таких работ значительно меньше [11, 16].

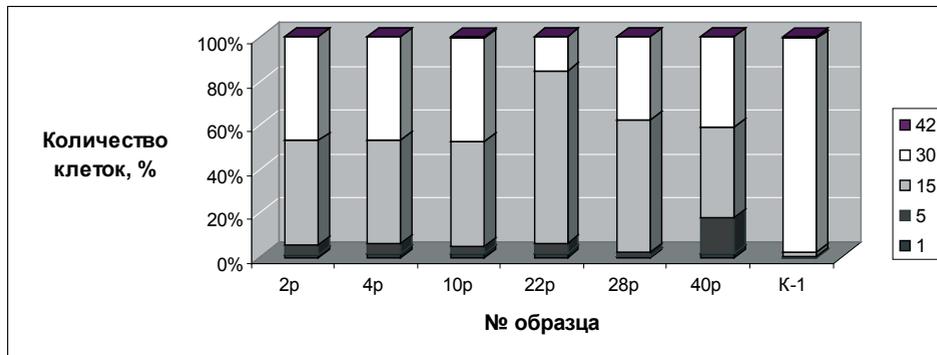


Рис. 1. Относительное содержание микроорганизмов (в % от их общего количества в каждом исследованном образце), выявленных в наземных биотопах Антарктики при различной температуре их культивирования (от 1 °C до 42 °C) на среде ГКА.

Примечание. В легенде указана температура культивирования, °C. Исследованные антарктические биотопы (о. Галиндез, 2010г): 2p – трава *Colobanthus* (Тр-10), 4p – трава *Deschampsia antarctica* (Тр-11), 10p – мох на дне скальной трещины (016), 22p – почва на берегу пресного водоёма, 28p – чёрный лишайник на вертикальной скале (Тек-1), 40p – биоплёнка обрастания на камнях (033). K1 – почва в регионе с умеренным климатом (Украина, Аскания Нова). В скобках приведены номера стационарных пунктов микробиологического мониторинга: Тр-10, Тр-11, 016, 033, Тек-1.

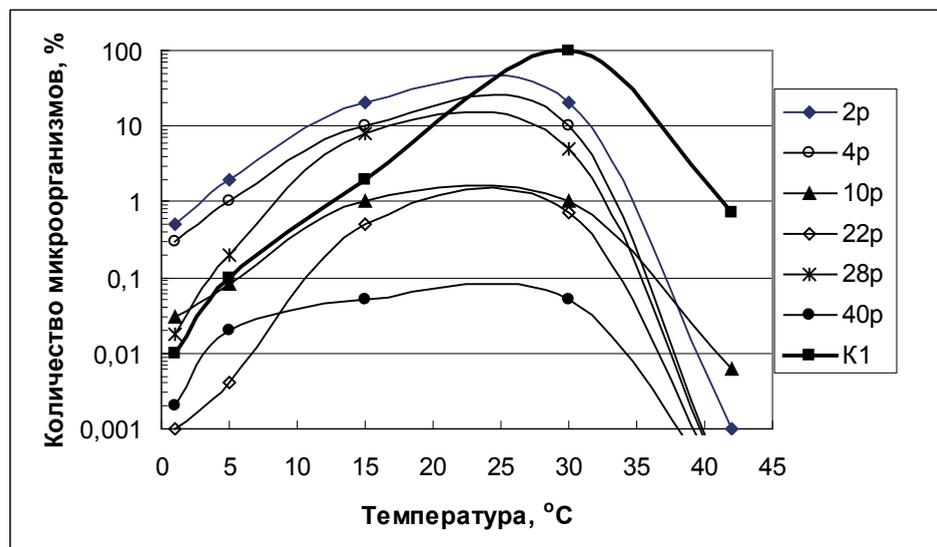


Рис. 2. Количество бактерий в наземных биотопах, выявленное при посеве образцов на среду ГКА, в зависимости от температуры их культивирования (от +1 °C до +42 °C).

Примечание. В легенде указаны номера образцов, их описание приведено на рис. 1. Количество бактерий выражено в % от максимального количества бактерий, которое было выявлено в данном эксперименте в образце K1 (Украина, Аскания Нова).

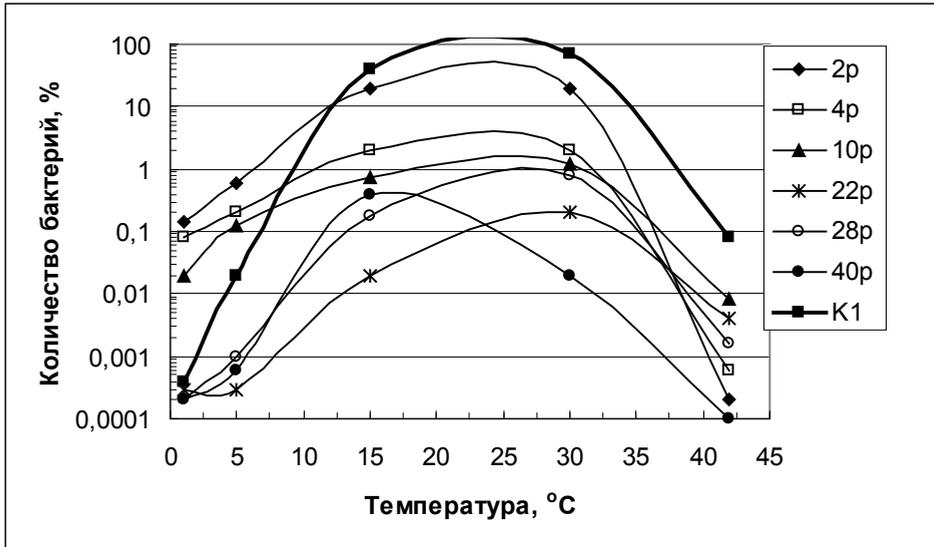


Рис. 3. Кількість бактерій в наземних біотопах, виявлене при посеві образців на среду МПА, в залежності від температури їх культивування (від +1 °C до +42 °C).

Примечание. В легенде указаны номера образцов, их описание приведено на рис. 1. Количество бактерий выражено в % от максимального количества бактерий, которое было выявлено в данном эксперименте в образце K1 (Украина, Аскания нова).

При сравнении результатов посева образцов (рис. 2 и 3) из различных климатических зон (Антарктика и Украина) следует отметить, что в антарктических биотопах по сравнению с биотопами зоны умеренного климата (1) общее количество микроорганизмов ниже, (2) более высокое количество психрофильных/психротолерантных бактерий, (3) меньшее количество мезофильных микроорганизмов, (4) в результате – доля психрофильных/психротолерантных микроорганизмов в общем микробном пуле значительно выше. В отличие от зоны умеренного климата (Украина), термотолерантные бактерии (рост при 42 °C) либо практически отсутствовали в антарктических образцах (рис. 2), либо выявлено их низкое содержание (рис. 3). Очевидно, что низкие температуры, а также суточные циклы заморозания и оттаивания – это факторы, которые ограничивают микробную колонизацию биотопов Антарктики. Выявленные закономерности идентичны при использовании различных питательных сред (МПА, ГКА или СА).

Романовська В.О., Таширєв О.Б., Шилін С.О., Гладка Г.В.,

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

РОЗПОВСЮДЖЕННЯ ПСИХРОФІЛЬНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ В НАЗЕМНИХ БІОТОПАХ АНТАРКТИКИ

Резюме

Показано, що в Антарктиці кількість аеробних хемоорганотрофних мікроорганізмів, виявлених при 1 °C і 5 °C, складала від 10⁴ до 10⁶ клітин/г рослинно-грунтового зразка біотопів: трава *Deschampsia antarctica*, трава *Colobanthus*, зелений мох, накипні чорні лишайники і біоплівка обростання на вертикальних скелях. У тих же антарктичних фітоценозах при 30 °C виявлено від 10⁶ до 10⁸ клітин/г зразка. При 42 °C термотолерантні бактерії або відсутні, або їх кількість була менше 10⁴ клітин/г зразка. Таким чином, доля (частина) антарктичних мікроорганізмів, які ростуть при різних температурах, варіювала: при 1-5 °C їх доля складала від 5 до 15 %, а при 30 °C – від 10 до 45 %. При 15-20 °C спостерігався ріст як психрофільних/психротолерантних мікроорганізмів, так і мезофільних мікроорганізмів. При порівнянні результатів посіву зразків із різних кліматичних зон (Антарктика і Україна) показано, що в антарктичних біотопах порівняно з біотопами зони помірного клімату (1) загальна кількість мікроорганізмів нижча, (2) вища кількість психрофільних/психротолерантних бактерій, (3) менша кількість мезофільних мікроорганізмів, (4) в результаті – доля психрофільних/психротолерантних мікроорганізмів у загальному мікроб-

ному пулі значно вища. Очевидно, низькі температури, а також добові цикли замерзання і відтаювання – це фактори, які обмежують мікробну колонізацію біотопів Антарктики.

Ключові слова: Психрофільні мікроорганізми, Антарктика, наземні біотопи.

V.O. Romanovskaya, O.B. Tashyrev, S.O. Shilin, G.V. Gladko

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

DISTRIBUTION OF PSYCHROPHILIC MICROORGANISMS IN TERRESTRIAL BIOTOPES OF THE ANTARCTIC REGION

S u m m a r y

It is shown that the total number of chemoorganotrophic aerobic microorganisms in the Antarctic Region revealed at 1 °C and 5 °C made from 10⁴ up to 10⁶ cells/g of plant-soil sample of biotopes: grass *Deschampsia antarctica*, grass *Colobanthus*, green mosses, crustose black lichens and a biofilm of accretion on vertical rocks. From 10⁶ up to 10⁸ cells/g of samples were revealed in the same Antarctic samples at 30 °C. At 42 °C thermotolerant bacteria were either absent, or their quantity was less than 10⁴ cells/g of samples. Thus the fraction (part) of the Antarctic microorganisms, which grow at different temperatures, varied: at 1-5 °C their part made from 5 to 15 %, and at 30 °C – from 10 to 45 %. At 15-20 °C the growth of both psychrophilic/psychrotolerant, and mesophilic microorganisms was observed. When comparing the results of plating of samples from different climatic zones (the Antarctic Region and Ukraine), it is shown that in the Antarctic biotopes in comparison with biotopes of the zone with temperate climate: (1) the total number of microorganisms is lower, (2) quantity of psychrophilic/psychrotolerant bacteria is higher, (3) quantity of mesophilic microorganisms is less, (4) as a result the part psychrophilic/psychrotolerant microorganisms in the total number of microorganisms is much higher. It is evident, that low temperatures, and also daily cycles of freezing and thawing are factors which limit microbial colonization of Antarctic biotopes.

The paper is presented in Russian.

К е у w o r d s: psychrophilic microorganisms, the Antarctic Region, terrestrial biotopes.

The a u t h o r s ' a d d r e s s: *Romanovska V.O.*, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.

1. *Жизнь микробов в экстремальных условиях* / Под ред. Д. Кашнера. – Москва: Мир, 1981. – 504 с.
2. *Заварзин Г.А., Колотилова Н.Н.* Введение в природоведческую микробиологию: Учеб. – Москва: Книжный дом «Университет», 2001. – 256 с.
3. *Карасев С.Г., Гурина Л.В., Гавериш Е.Ю., Аданин В.М., Галиччинский Д.А., Евтушенко Л.И.* Жизнеспособные актинобактерии из древних вечномерзлых отложений Сибири // Криосфера Земли. – 1998. – 2, № 2. – С. 69-75.
4. *Намсараев Б.Б., Абидуева Е.Ю., Лаврентьева Е.В.* Экология микроорганизмов экстремальных водных. – Улан-Удэ: Изд-во Бурятского госуниверситета, 2008. – 94 с.
5. *Романовская В.А., Таширев А.Б., Шилин С.О., Черная Н.А.* Устойчивость к УФ излучению микроорганизмов, изолированных из наскальных биотопов Антарктики. *Мікробіол. журнал.* – 2010. – 72, № 3. – С. 8-14.
6. *Таширев А.Б., Романовская В.А., Рокитко П.В., Шилин С.О., Черная Н.А., Таширева А.А.* Микробиологический анализ наземных биотопов Антарктики // *Мікробіол. журнал.* – 2010. – 72, № 2. – С. 4-11.
7. *Bowman J.P., McCammon S.A., Brown M.V., Nichols D.S., McMeekin T.A.* Diversity and association of psychrophilic bacteria in Antarctic sea ice // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1997. – 63, N 8. – P. 3068-3078.
8. *Bowman J.P.* *Pseudoalteromonas prydzensis* sp. nov., a psychrotrophic, halotolerant bacterium from Antarctic sea ice // *Int. J. Syst. Bacteriol.* – 1998. – 48, N 3. – P. 1037-1041.
9. *Bowman J.P., McCammon S.A., Brown J.L., McMeekin T.A.* *Glaciecocola punicea* gen. nov., sp. nov., and *Glaciecocola pallidula* gen. nov., sp. nov.: psychrophilic bacteria from Antarctic sea-ice habitats // *Int. J. Syst. Bacteriol.* – 1998. – 48, N 4 – P. 1213-1222.
10. *Brown M.V., Bowman J.P.* A molecular phylogenetic survey of sea-ice microbial communities (SIMCO) // *FEMS Microb. Ecol.* – 2001. – 35, N 3. – P. 267-275.

11. De los Rios A., Grube M., Sancho L.G., Ascaso C. Ultrastructural and genetic characteristics of endolithic cyanobacterial biofilms colonizing Antarctic granite rocks // FEMS Microbiol. Ecol. – 2007. – 59, N 2. – P. 386-395
12. Meynell G., Meynell E. Theory and Practice in Experimental Bacteriology. – Cambridge: At the University Press, 1965. – 471p.
13. Morita R.Y. Psychrophilic bacteria // Bacteriol. Rev. – 1975. – 39, N2 – P. 144-167.
14. Shivaji S., Reddy G.S.N., Suresh K., Gupta P., Chintalapati S., Schumann P., Stackebrandt E., Matsumoto, G.I. Psychrobacter vallis sp. nov. and Psychrobacter aquaticus sp. nov., from Antarctica // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2005. – 55, N 2. – P. 757-762.
15. Vorobyova E., Soina V. The deep cold biosphere: facts and hypothesis // FEMS Microbiology Rev. – 1997. – 20, N3/4. – P. 277-290.
16. Yergeau E, Bokhorst S, Huiskes AH, Boschker HT, Aerts R, Kowalchuk GA. Size and structure of bacterial, fungal and nematode communities along an Antarctic environmental gradient // FEMS Microbiol Ecol. – 2007. – 59, N 2. – P. 436-451.

Отримано 15.02.2011

УДК 57.083.1+57.082.13+576.8.095.38

Н.К. Коваленко, О.А. Полтавская, Л.Б. Зеленая

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

ВИДОВОЙ СОСТАВ БИФИДОБАКТЕРИЙ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА ЛЮДЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

*Изучен количественный и видовой состав бифидофлоры содержимого дистального отдела кишечника людей различных возрастных групп. Установлено, что доминирующими видами кишечной бифидофлоры людей разного возраста являются виды *B. longum subsp. infantis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. longum subsp. longum* и *B. dentium*. Выявлена зависимость видового состава бифидобактерий кишечного содержимого от возраста человека. У людей пожилого возраста наблюдается уменьшение видового разнообразия бифидобактерий.*

Ключевые слова: кишечная микрофлора, бифидобактерии, видовой состав.

Бифидобактерии занимают важное место в микробиоценозе пищеварительного тракта здорового человека. Это, в первую очередь, обусловлено особенностями их метаболизма. Бифидобактерии являются той физиологической основой, которая формирует нормальную микрофлору ребенка с первых дней его жизни. В процессе старения организма количество бифидофлоры может уменьшаться в связи с возрастными метаболическими изменениями.

Видовой состав бифидобактерий пищеварительного тракта, в частности, здоровых детей изучен достаточно полно. Вместе с тем, под влиянием различных факторов, в том числе, респираторных и кишечных инфекций, наблюдаются дисбиотические изменения в составе микрофлоры.

В доступной литературе практически не представлены сравнительные данные о видовом составе бифидобактерий в пищеварительном тракте людей различных возрастных групп. Имеющиеся сведения касаются в основном изучения возможности использования этих микроорганизмов в составе биопрепаратов и продуктов питания с целью нормализации микробиоценоза.

Целью данной работы было исследовать в сравнительном аспекте видовой состав бифидобактерий содержимого дистального отдела кишечника людей разных возрастных групп.

Материалы и методы. Объектом исследования были люди различных возрастных групп: здоровые и больные дети 2-3 лет (по 10 образцов), люди среднего возраста (30-35 лет) (10 образцов) и пожилого возраста (63-84 года) (15 образцов). Исследования проводили на базе Института геронтологии АМН Украины, а также Института педиатрии, акушерства и гинекологии АМН Украины, г. Киев.

© Н.К. Коваленко, О.А. Полтавская, Л.Б. Зеленая, 2012