

На правах рукописи

КУДИНОВА АЛИНА ГРАНИТОВНА

**ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОКАРИОТНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПОЧВ
ВОСТОЧНОЙ АНТАРКТИКИ**

Специальность 03.02.03 – микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата
биологических наук

Москва-2017

Диссертационная работа выполнена на кафедре биологии почв факультета почвоведения Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Научный руководитель: **Лысак Людмила Вячеславовна**, доктор биологических наук, профессор кафедры биологии почв факультета почвоведения ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Официальные оппоненты: **Васильева Лина Васильевна**, доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории реликтовых микробных сообществ Института микробиологии имени С.Н. Виноградского ФГУ ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН.

Ванькова Анна Андреевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии и иммунологии факультета почвоведения, агрохимии и экологии ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

Ведущее учреждение: ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской академии наук

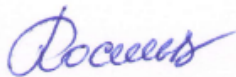
Защита состоится «__» _____ 2017 года в __ ч __ мин аудитории М-2 на заседании диссертационного совета Д 501.002.13 при ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» по адресу: 119991, ГСП-1, Москва, Ленинские горы д. 1, стр. 12, факультет почвоведения.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке МГУ имени М.В. Ломоносова и на сайтах <http://istina.msu.ru/dissertations/50621250/> и <http://soil.msu.ru/nauka/uchenyj-sovet>.

Автореферат разослан «__» _____ 2017 г.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах, заверенные печатью организации, просьба направлять по адресу: 119991, ГСП-1, Москва, Ленинские горы, МГУ имени М.В. Ломоносова, д. 1, стр. 12, факультет почвоведения, Учёный совет.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Костина Наталья Викторовна

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы

Интерес к полярным областям планеты со стороны научного и экономического сообщества неуклонно растет, что связано с тем, что полярные области являются важными климатообразующими регионами планеты и источниками многих полезных ископаемых. Актуальной задачей является проведение в Антарктике комплексных научных исследований и мониторинга состояния компонентов природной среды. В 2010 году была принята государственная долгосрочная программа «Стратегия развития деятельности Российской Федерации в Антарктиде на период до 2020 года и на более отдаленную перспективу». Изучение живых организмов на территории Антарктиды является одним из приоритетных направлений полярных исследований.

Исследования почвообразовательных процессов в Антарктиде проводилось в основном в районе Сухих Долин, станции Мак-Мердо и Трансантарктических гор, а также на Антарктическом полуострове и прилегающих островах (Cameron et. al., 1970; Friedmann, 1982; Vishniac, 1993).

Данные по численности отдельных эколого-трофических групп и разнообразию микроорганизмов в антарктических почвах, полученные традиционными микробиологическими и молекулярно-биологическими методами, обобщены в работах зарубежных авторов и относятся, в основном, к территориям Западной Антарктики (Amann et. al., 1995; Friedman et. al., 1996; Gilichinsky et. al., 2007; Yergeau et. al., 2007; Zeng et. al., 2010).

Сравнительно недавно началось систематическое изучение почв и почвоподобных тел в районах российских антарктических станций, в том числе неисследованных ранее оазисов береговой части Восточной Антарктики (Gilichinsky et al., 2010; Абакумов, 2011; Горячкин и др., 2012; Мергелов и др., 2012). В оазисах Восточной Антарктики полностью отсутствуют такие мощные почвенные преобразователи как сосудистые растения с корневыми системами. Доминирование мхов, лишайников и цианобактерий создают уникальные экониши для развития микроорганизмов.

Очевидно, что изучение микробных комплексов почв Восточной Антарктиды важно не только с точки зрения понимания изменения минеральных субстратов при длительном воздействии факторов с низким почвообразующим потенциалом, но и в

качестве современных аналогов почвенных тел, существовавших на планете до появления высших растений с корневыми системами, что и определяет актуальность проводимой работы.

Целью настоящей работы было охарактеризовать прокариотные комплексы почв Восточной Антарктиды (оазисы Холмы Ларсеманн и Холмы Тала) для получения знаний о структуре и функционировании этих сообществ.

Задачи исследования:

1. Определить показатели общей численности, биомассы и потенциальной жизнеспособности прокариот в образцах почв Восточной Антарктиды;
2. Определить показатели численности и потенциальной жизнеспособности фильтрующихся форм прокариот (ФФП). Изучить морфологию ФФП при помощи просвечивающей электронной микроскопии;
3. Охарактеризовать особенности изменения почвенных прокариотных комплексов по ходу сукцессии при фиксированной влажности и двух температурах (+5°C и +20°C);
4. Охарактеризовать таксономическую структуру прокариотных комплексов почв при помощи классических и молекулярно-биологических методов;
5. Оценить биологическую активность исследуемых почв с использованием методов газовой хроматографии (продуцирование CO₂, активность азотфиксации, денитрификации и метаногенеза).

Научная новизна

Впервые исследовано распределение биомассы прокариот по почвенным микропрофилям оазисов Восточной Антарктиды и оценена потенциальная жизнеспособность клеток прокариот.

Впервые установлено, что численность и содержание фильтрующихся форм прокариот (ФФП) в образцах антарктических почв были высоки, численность составила от десятков до сотен миллионов клеток в 1 г почвы, доля колебалась от 5 до 90% от общей численности, что значительно больше, чем в почвах умеренной зоны (Лысак и др., 2010).

С помощью метода FISH (*fluorescence in situ hybridization*) среди бактерий обычного размера и среди ФФП обнаружены те же филогенетические группы, что

подтверждает предположение о нанотрансформации бактерий в условиях воздействия неблагоприятных факторов среды.

Впервые оценена потенциальная биологическая активность антарктических почв с использованием газохроматографических методов.

Практическая значимость работы

Полученные в ходе работы данные могут быть использованы в планировании и осуществлении будущих микробиологических исследований в Антарктике и Арктике.

Изучение прокариотных сообществ в суровых для большинства живых организмов биотопов позволяет лучше понять способы сохранения жизнеспособности и разнообразия прокариот в экстремальных местообитаниях. Коллекция бактерий, сформированная в процессе работы, может быть использована в биотехнологии, а также в учебных целях. Результаты проведенного исследования используются при чтении лекций по курсам «Биология почв», «Общая экология» и «Экология бактерий».

Основные положения, выносимые на защиту

1. Показатели общей численности бактерий в исследованных почвах оазисов значительно ниже (на 1-2 порядка), чем обычно регистрируются в почвах умеренных широт и значительно варьируют по профилю. Максимальная численность бактерий выявлена в органогенных горизонтах (обрастания водорослями, моховая подстилка, горизонт с торфянистыми включениями), а также в почвенных горизонтах, формирующихся под каменной мостовой.

2. Полученные данные об общей численности, жизнеспособности, метаболической активности ФФП, позволяют предположить, что они являются в исследованных почвах пулом клеток бактерий, который позволяет им сохраняться в неблагоприятных условиях внешней среды.

3. С помощью метода FISH показано, что в исследованных почвах присутствуют основные филогенетические группы, обычно обнаруживаемые в почвах природных зон умеренного пояса.

4. Показатели биологической активности, определенные газохроматографическими методами, значительно ниже, чем обычно регистрируется в почвах умеренной зоны.

Апробация работы

Результаты работы представлены и обсуждались на Международной научной конференции «Ломоносов» (Москва, 2012, 2015), Международной научной конференции «Докучаевские молодежные чтения» (Санкт-Петербург, 2013, 2014), на Всероссийской научной конференции «Биоразнообразие экосистем Крайнего Севера: инвентаризация, мониторинг, охрана» (Сыктывкар, 2013), на Международном конгрессе по экстремофилам (Санкт-Петербург, 2014), на Всероссийском симпозиуме с международным участием «Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов» (Москва, 2014), на Научной конференции с международным участием «Почвы холодных областей: генезис, география, экология» (Улан-Удэ, 2015), на 2-ой Всероссийской конференции по астробиологии: «Жизнь во Вселенной: физические, химические и биологические аспекты» (Пушино, 2016), на Международной конференции «Современные аспекты сельскохозяйственной микробиологии» (Москва, 2016).

Публикации

По результатам исследования опубликовано 12 печатных работ, из них 2 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации результатов диссертационных работ.

Личный вклад автора

Диссертационная работа является результатом исследований автора за период с 2012 по 2016 гг. Автор принимал участие в проведении лабораторных работ, обработке полученных данных, интерпретации полученных результатов, написании текста диссертации.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, а также выводов, благодарностей и списка литературы, который включает 141 источник, из которых 83 на английском языке. Работа изложена на 111 страницах, содержит 21 рисунок и 11 таблиц.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №16-04-01776а

Благодарности

Автор выражает глубокую благодарность и признательность научному руководителю д.б.н. Лысак Л. В., к.г.н. Мергелову Н. С., к.г.н. Долгих А. В., д.б.н. Абакумову Е. В. за предоставленные образцы антарктических почв, к.б.н. Соиной В. С. за помощь в работе методом электронной микроскопии, д.б.н. Манучаровой Н. А. за помощь в освоении метода FISH, к.б.н. Костиной Н. В. за помощь в освоении методов газовой хроматографии, д.б.н. Петровой М. А. за освоение современных молекулярно-биологических методов, к.б.н. Лапыгиной Е. В. за содействие в люминисцентно-микроскопических исследованиях и моральную поддержку.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

В трех разделах главы рассмотрены история почвенных исследований в Антарктиде и современные представления о почвах Антарктиды. Изложены современные представления о разнообразии микроорганизмов в почвах Антарктиды, обсуждены основные механизмы выживания микроорганизмов в экстремально холодных условиях.

Глава 2. Объекты и методы исследования

2.1. Объекты исследования

Объектами исследования служили образцы почв, отобранные и описанные участниками 55-58-й Российских антарктических экспедиций к.г.н. Мергеловым Н.С. и к.г.н. Долгих А.В. (Институт географии РАН) в оазисах Холмы Ларсеманн (станция “Прогресс”), Холмы Тала (станция “Молодежная”). Всего было проанализировано 57 образцов. Согласно международной классификации изученные почвы преимущественно относятся к *Aquic Haploturbels*, *Typic Haploturbels*, *Typic Haploorthels*, *Lithic Haploorthels* (Soil Survey Staff. Keys to Soil Taxonomy (11th edit.), 2010). В настоящей работе объекты рассматриваются по группам первичных продуцентов основного пула органического вещества в ландшафтах оазисов и их локализации в почвенном профиле: I. Почвы с гиполитными органогенными горизонтами, первичными продуцентами являются цианобактерии и зеленые водоросли (21 образец); II. Почвы с поверхностными (эпиэдафическими) органогенными горизонтами (моховые и лишайниковые подстилки - 8 образцов);

III. Почвы с поверхностными органогенными горизонтами в виде альго-бактериальных матов (9 образцов); IV. Почвы без макроскопических органогенных горизонтов (почвоподобные тела - 2 образца); V. Эндолитные почвоподобные тела (формирующиеся на поверхности скальных пород (2 образца)). Почвы субантарктических островов (остров Галиндез, около станции Академик Вернадский, острове Кинг-Джордж, около станции Артцовски), отобраны Абакумовым Е. В. (д.б.н., профессор, заведующий кафедрой прикладной экологии СПбГУ), по международной классификации почвы отнесены к Ornithosol и Leptosol (Soil Survey Staff. Keys to Soil Taxonomy (11th edit.), 2010).

Подробное описание исследованных почв и условий отбора и хранения приведено в тексте диссертации.

2.2. Методы исследования

Определение общей численности прокариот проводили прямым люминесцентно-микроскопическим методом с применением красителя акридина оранжевого (Методы почвенной микробиологии и биохимии, 1991). Определение потенциальной жизнеспособности прокариот и фильтрующихся форм прокариот (ФФП) проводили прямым люминесцентно-микроскопическим методом с применением красителя L7012 (LIVE/DEAD) (Molecular Probes, 1994). Расчеты бактериальной биомассы проводили, учитывая, что масса одной клетки объемом 0.1 мкм^3 равна $2 \times 10^{-14} \text{ г}$ (Полянская, Звягинцев, 2003), а углерод клеток микроорганизмов (мкг С/г почвы) составляет 50% ее сухой массы (Bolter, 1995; Ball, Virginia, 2014). Содержание микробной биомассы рассчитывали на грамм абсолютно сухой почвы.

Фильтрующиеся формы прокариот (ФФП) выявляли с помощью фильтрации почвенной суспензии через ядерные мембранные фильтры (GP Millipore Express PLUS Membrane) с размерами пор 0.22 мкм . Изучение морфологии ФФП проводили с помощью просвечивающего электронного микроскопа JEM-1011 фирмы JEOL.

Численность и таксономическую структуру сапротрофного бактериального комплекса исследовали методом посева почвенной суспензии на глюкозо-пептонно-дрожжевую среду (ГПД) с нистатином (Лысак и др., 2003).

Подробное описание постановки опыта по изучению сукцессии бактерий при фиксированной влажности и двух температурах ($+5^\circ\text{C}$ и $+20^\circ\text{C}$) представлено в тексте диссертации.

Идентификация выделенных сапротрофных бактерий проводилась на основании изучения культуральных, микроморфологических и некоторых физиолого-биохимических признаков. Видовая принадлежность протеобактерий была определена с помощью метода секвенирования последовательностей гена 16S рРНК. (Maniatis et al., 1982; Lane, 1991).

Численность отдельных филогенетических групп прокариот оценивались с помощью метода FISH (fluorescence *in situ* hybridization) (Манучарова, 2008). В ходе работы использованы зонды, специфичные для домена *Archaea* (ARCH915) и *Bacteria* (*Alphaproteobacteria* (ALF1b), *Betaproteobacteria* (BET42a), *Gammaproteobacteria* (GAM42a), *Actinobacteria* (HGC69a), *Planctomycetes* (PLA886), *Acidobacteria* (ACIDO228).

Определение потенциальной биологической активности почв проводили с помощью газохроматографических методов (Методы почвенной микробиологии и биохимии, 1991; Степанов, Лысак, 2002). Продуцирование CO₂ определяли на газовом хроматографе Московского опытного завода "Хроматограф" – модель 3700/4, активности азотфиксации, денитрификации и метаногенеза определяли на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором "Кристалл-2000".

Для выявления статистически достоверных различий средних значений численности подсчитывали доверительный интервал с уровнем вероятности 0.95. Статистический анализ полученных результатов проведен с помощью пакета STATISTICA 10 и Excel.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1.Определение общей численности прокариот

Общая численность прокариот в исследованных почвенных профилях вблизи станции «Прогресс» (оазис Ларсеманн) варьировала от 30 до 1460 млн клеток в 1 г почвы (табл.1). Максимальная общая численность прокариот зафиксирована в образце песчаной подушки под каменной мостовой (M1, горизонт B), обильно пронизанной мертвой и живой биомассой одноклеточных зеленых водорослей и цианобактерий. Минимальная численность прокариот отмечена в минеральных горизонтах, B₂ для профиля 10-06 и B₅ для профиля M2 - 60 и 50 млн клеток в 1 г почвы соответственно. Следует отметить, что для горизонтов без признаков

макробиоты, наблюдается низкая численность прокариот по сравнению с горизонтами, где визуально обнаруживался рост цианобактерий, водорослей и мхов.

Для разрезов с хорошо сформированными профилями (10-15L1 и 10-15P1), наблюдается постепенное уменьшение численности клеток прокариот с глубиной. В обоих исследуемых профилях почв максимум численности прокариот, приходится на песчаные подушки каменных мостовых, что в случае почвы в микроложбине (10-15L1) совпадает с максимальным развитием зеленых водорослей и цианобактерий, наблюдаемыми визуально.

Для разреза 10-06 также характерно значительное снижение показателя численности прокариот вниз по профилю: в горизонтах GP/Balgae и T/Ah он был максимальным, в минеральных горизонтах B₁ и B₂ резко снижался.

Во многих почвах умеренных широт наблюдается постепенное уменьшение численности клеток прокариот вниз по профилю, как показали результаты нашего исследования, та же закономерность характерна и для примитивных антарктических почв с гиполитными органогенными горизонтами. В почвах с поверхностными органогенными горизонтами и эндолитных почвоподобных телах подобная закономерность не выявлена (табл.1).

Ближние закономерности наблюдались при изучении профильного распределения показателей общей численности прокариот в образцах, отобранных вблизи станции «Молодежная» (Холмы Тала). Максимальная численность прокариот была зарегистрирована в верхних органогенных горизонтах профилей (моховая подстилка, обрастания водорослями) и составляла 230-730 млн клеток в 1г (табл.2), что сравнимо с показателями численности прокариот в образцах, отобранных на территории оазиса Ларсеманн (табл. 1). Наблюдалось также снижение общей численности прокариот вниз по профилю (разрезы AD 58-44 и AD 58-48), особенно четко эта закономерность выражена в разрезе AD 58-48, где происходило снижение численности прокариот более, чем в три раза. Иная закономерность выявлена в почве разреза AD 58-40 (почва без видимых признаков биоты). Численность бактерий в горизонтах GP и B, была примерно одинаковой и составляла 230-280 млн клеток в 1 г (табл.2).

Таблица 1.

Общая численность прокариот, биомасса и доля прокариот в общей биомассе, численность и доля ФФП (оазис Холмы Ларсеманн)

№ разреза	Гор-т, глубина в см	Общ. числ-ть прокариот, млн кл./г почвы	Биомасса прокариот, мкг С/г почвы	Доля прокариот в общей биом-се, %	ФФП	
					Числ-ть, млн кл/г почвы	Доля, %
I. Почвы с гиполитными органогенными горизонтами GP/Balgae						
10-15L1	GP/Balgae, 0-1	580±30	6.7±0.3	6.6	130±10	22
	B ₁ , 1-3	380±20	4.4±0.2	3.6	300±20	79
	B ₂ , 3-10	120±10	1.1±0.1	3.6	70±5	58
10-06	GP/Balgae, 0-2	290±20	3.2±0.2	4.1	260±20	90
	T/Ah, 2-4	230±20	2.8±0.2	0.9	60±5	26
	B ₁ , 4-10	30±20	0.5±0.02	0.4	80±10	25
	B ₂ , 10-20	80±10	1.0±0.1	1.1	50±10	63
M1	GP/Balgae, 0-1	1460±73	14.6±0.7	11.7	90±5	6
	B, 1-4	1500±75	15.4±0.7	9.9	70±4	5
10-15P1	GP, 0-2	400±20	4.1±0.2	4.4	170±10	43
	B ₁ , 2-10	180±20	2.1±0.2	1.9	150±15	83
	B ₂ , 10-20	110±10	1.2±0.1	1.7	70±7	64
M2	GP/Balga e, 0-1	60±10	0.5±0.1	-	50±10	83
	B ₁ , 1-10	410±20	3.7±0.2	-	120±10	29
	B ₂ , 10-20	500±20	4.5±0.2	-	80±10	16
	B ₃ , 20-30	440±20	3.9±0.2	-	140±10	32
	B ₄ , 30-40	340±20	3.1±0.2	-	90±10	26
	B ₅ , 40-50	50±10	0.4±0.1	-	30±5	60
II. Почвы с поверхностными органогенными горизонтами (O)						
M3	O, 0-1	280±10	3.4±0.1	1.8	50±10	18
	B, 1-2	280±10	3.2±0.01	2.7	170±20	61
V. Эндолитные почвоподобные тела						
10-45	W, 0-1	500±30	4.5±0.3	-	80±10	16
NSM10-36	W, 0-1	1020±51	9.2±0.5	-	170±9	16

«-» – не определяли

Таблица 2.

Общая численность прокариот, биомасса и доля прокариот в общей биомассе, численность и доля ФФП (оазис Холмы Тала)

№ Разреза	Гор-нт, глубина в см	Общ. числ- ть прокариот, млн кл./г почвы	Биомасса прокариот, мкг С/г почвы	Доля прокариот в общей биом-се, %	ФФП	
					Числ- ть, млн кл/г почвы	Доля в % от общ. числ. прокариот
I. Почвы с гиполитными органогенными горизонтами GP/Balgae						
AD 58-48	GP algae, 0-1	730±100	6.6±0.9	-	59±10	8
	B, 4-7	295±30	2.6±0.3	-	29±5	10
	BC, 20-25	146±15	1.3±0.1	-	24±5	16
II. Почвы с поверхностными органогенными горизонтами O (подстилки)						
AD 58-44	O, 0-2	191±20	1.9±0.21	1.3	25±5	13
	B ₁ , 3-5	178±20	1.8±0.20	1.1	28±5	16
	B ₂ , 7-10	127±10	1.2±0.10	0.6	21±5	17
III. Почвы (почвоподобные тела) без макроскопических органогенных горизонтов						
AD 58-40	GP, 0-1	233±20	2.3±0.24	3.7	25±3	10
	B, 5-10	280±30	2.8±0.30	4.2	35±5	13

«-» – не определяли

Проведенное сравнение прокариотных комплексов антарктических почв (Холмы Ларсеманн и Холмы Тала) и почв субантарктических островов (о. Галиндез и о. Кинг-Джордж), формирующихся в более мягком климате, показало, что общая численности бактерий в образцах этих почв варьировали от 223 до 3950 млн клеток в 1г почвы, что больше, чем в почвах Восточной Антарктиды почти на порядок (табл. 3). Максимальная численность прокариот зафиксирована в верхнем горизонте почвы, которая формируется под воздействием привноса органического вещества из мест массового скопления птиц (G1).

Таким образом, показатели общей численности прокариот в почвах Восточной Антарктиды (Холмы Ларсеманн и Холмы Тала) были значительно ниже (на 1-2 порядка), чем обычно регистрируются в почвах умеренных широт (Головченко и др. 2002, 2007; Фомичева и др. 2006). Значения показателей численности были выше в органогенных горизонтах, а также в почвенных горизонтах, формирующихся под каменной мостовой, которая, видимо, создает для бактерий своеобразный «тепличный эффект».

Таблица 3.

Общая численность прокариот, биомасса и доля прокариот в общей биомассе, численность и доля ФФП (о. Галиндез, о. Кинг-Джордж)

№ Обра зца	Общ. числ-ть прокариот, млн кл./г почвы	Биомасса прокариот, мкг С/г почвы	Доля прокариот в общей биомассе, %	ФФП	
				Числ-ть, млн кл/г почвы	Доля в % от общ. числ. прокариот
о. Галиндез, Ornithosol					
G1	3950±806	35.5±7.3	-	134±25	3.4
о. Галиндез, Leptosol					
G2	597±178	5.4±1.6	1.8	60±4	10.2
G3	495±198	4.5±1.8	1.7	40±17	8.2
G4	320±188	2.9±1.7	1.9	7±1	2.2
G5	223±93	2.0±0.8	1.7	13±4	6.0
G6	324±130	2.9±1.2	1.6	2±0,8	0.6
G7	747±261	6.7±2.4	0.8	13±4	1.7
G9	946±283	8.5±2.5	2.0	16±5	1.7
о. Кинг-Джордж, Leptosol					
A1	548±220	4.9±1.9	-	74±30	13.5
A3	923±420	8.3±3.8	-	66±25	7.2
A4	1103±460	9.9±4.1	-	30±12	2.7
A5	455±190	4.1±1.7	-	40±16	8.8
о. Кинг-Джордж, свежая не заросшая морена					
A6	1411±470	12.7±4.2	-	117±48	8.3

«-» – не определяли

3.2. Распределение биомассы прокариот по профилям исследованных почв

В образцах оазиса Холмы Ларсеманн величина биомассы прокариот варьировала от 0.5 до 15.4 мкг С/г почвы. Она максимальна в верхних органогенных горизонтах, покрытых мхами и альго-бактериальными матами, а минимальна - в подповерхностных горизонтах (3 - 15 и 1 - 2 мкг С/г соответственно) (табл.1).

Аналогичные закономерности выявлены при изучении образцов, отобранных на территории Холмов Тала. Биомасса прокариот в этих образцах составляла от 1.2 до 2.8 мкг С/г почвы (табл.2), что, в целом, меньше, чем в оазисе Холмы Ларсеманн. Снижение биомассы прокариот вниз по профилю было незначительным.

Доля прокариот в общей микробной биомассе исследованных почв варьировала от 0.4 до 11.7% (табл. 1, 2). В большинстве почв наблюдали снижение содержания бактериальной биомассы вниз по профилю.

Развитие альго-бактериальных матов, мхов и лишайников на поверхности почвы оказывало существенное влияние на величину бактериальной биомассы (рис. 1). Максимальные показатели зафиксированы в органогенных горизонтах, минимальные, минимальные в верхних горизонтах без водорослей и мхов и минеральных горизонтах.

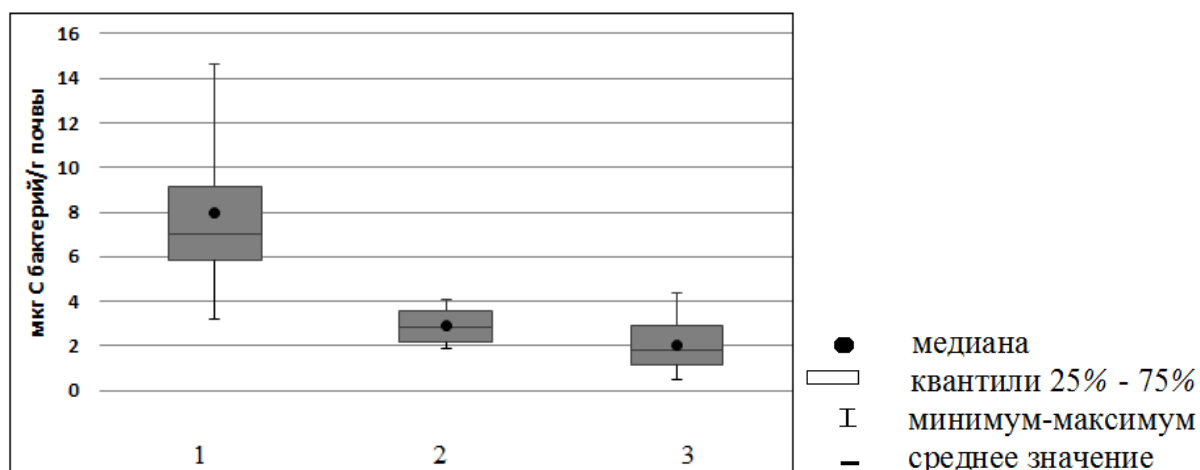


Рис.1. Влияние цианобактерий и водорослей на биомассу бактерий. 1 – гиполитные органогенные горизонты с цианобактериями и зелеными водорослями; 2 – верхние горизонты почв без разрастаний цианобактерий и водорослей; 3 – минеральные горизонты

3.3. Определение потенциальной жизнеспособности прокариотных клеток

Изучение потенциальной жизнеспособности прокариотных клеток в исследованных образцах антарктических почв было проведено при помощи красителя L7012 (LIVE/DEAD). Были проанализированы образцы почв из оазиса Холмы Ларсеманн (всего исследовано 22 образца). Общая численность прокариот во всех образцах варьировала в пределах от 60 до 1930 млн клеток в 1 г почвы, что коррелирует с данными полученным при окрашивании почвенной суспензии красителем акридином оранжевым. Максимальная численность бактерий отмечена в верхних горизонтах, минимальная в нижних горизонтах.

Обращает на себя внимание высокая доля жизнеспособных клеток в исследованных образцах почв (выше 60 % в 11 из 22 исследованных образцов) (рис.2). Полученные показатели близки к ранее полученным данным о содержании потенциально жизнеспособных клеток прокариот в некоторых зональных почвах (Лысак и др., 2010).

Практически во всех исследованных почвах, отмечается уменьшение количества

жизнеспособных клеток вниз по профилю. Исключением является разрез 10-15P1, в верхнем горизонте которого (каменная мостовая) лишь 47 % клеток с неповрежденной мембраной, в нижнем горизонте (B2) их доля составляет 93% (рис.2.), что может быть связано защитной ролью каменной мостовой.

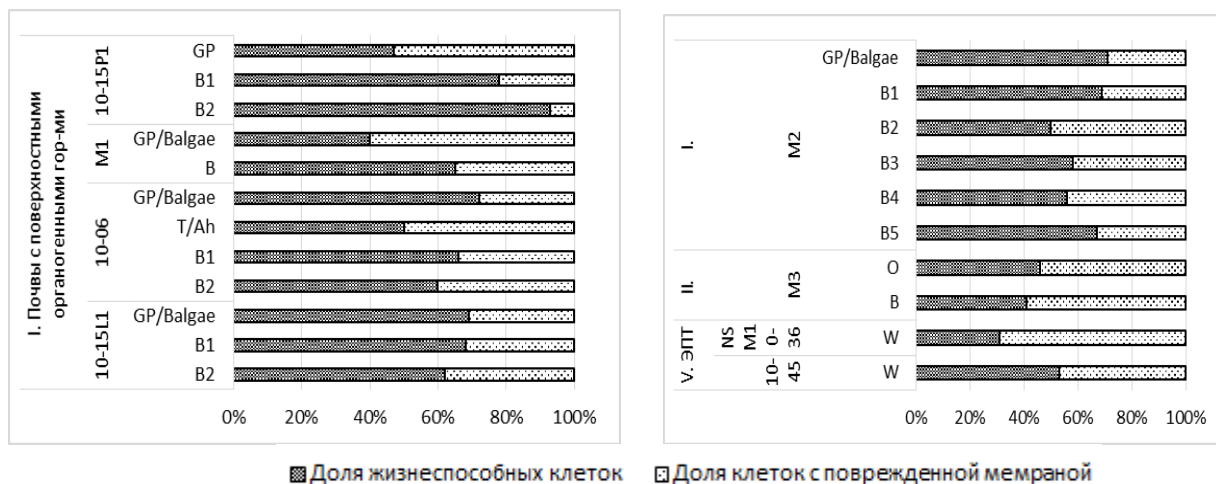


Рис.2. Доля потенциально жизнеспособных клеток (оазис Холмы Ларсеманн) А) Профили почв I группы (почвы с гиполитными органогенными горизонтами) Б) Профили почв групп I, II (почвы с поверхностными органогенными горизонтами), V ЭПТ.

4.1. Определение общей численности фильтрующихся форм прокариот

Одной из форм переживания бактерий в экстремальных природных условиях многие исследователи считают мелкие формы бактерий: фильтрующиеся формы прокариот (ФФП), «карликовые» клетки», нанобактерии, наноформы бактерий, размеры которых, как правило, не превышают 200 нм (Дуда и др., 2012; Panikov, 2005).

Во всех исследованных образцах антарктических почв были обнаружены мелкие формы бактерий, проходящие через мембранные ядерные фильтры с размером пор 0.22 мкм. В образцах почв из оазиса Холмы Ларсеманн численность ФФП варьировала от 21 до 300 млн в 1 г почвы. Доля ФФП была достаточно высока во всех исследованных образцах и составляла в среднем от 10 до 90% от общего числа клеток бактерий (табл.1) и была значительно больше, чем в ранее исследованных образцах зональных почв, где не превышала 5-7% (Лысак и др., 2010). Максимальная доля ФФП зафиксирована в образце, в котором отмечалась высокая численность ФФП - каменная мостовая с разрастаниями одноклеточных зеленых водорослей и цианобактерий (разр. 10-06), меньше она была в образцах почв из минеральных горизонтов.

В образцах почв из оазиса Холмы Тала численность ФФП варьировала от 21 до 59 млн в 1 г почвы, что несколько ниже, чем в почвах оазиса Холмы Ларсеманн. Доля ФФП здесь составляла от 8 до 17% от общего числа клеток бактерий (табл.2), что также больше, чем в ранее исследованных образцах зональных почв. Наблюдалось увеличение доли ФФП вниз по профилю, во всех исследованных почвах из оазиса Холмы Тала.

Доля ФФП в образцах субантарктических почв (о. Галиндез и о. Кинг-Джордж) колебалась от 0.6 до 13.5 % от общего числа клеток (табл.3), что меньше, чем в антарктических почвах. Максимальная общая численность прокариот и доля ФФП отмечались для почв, относящихся к петроземам.

Окраска клеток ФФП красителем L7012 выявила их высокую жизнеспособность, доля жизнеспособных клеток среди них доходила до 90 %. Следует отметить, что эти результаты согласуются с ранее полученными данными о высокой жизнеспособности клеток ФФП (наноформ бактерий) в зональных почвах России (Лысак и др., 2010).

Полученные данные о высокой жизнеспособности ФФП, позволяют предположить, что именно они могут быть в исследованных почвах тем пулом клеток бактерий, который позволяет им сохраняться в неблагоприятных условиях внешней среды.

4.2. Изучение морфологии ФФП при помощи просвечивающей электронной микроскопии

Морфология клеток ФФП была изучена в просвечивающем электронном микроскопе. Клетки ФФП имели разнообразную форму, диаметр их не превышал 200 нм, что позволяет отнести исследуемые объекты к наноформам бактерий. Выявлено значительное морфологическое разнообразие клеток: помимо кокковидных и овальных клеток, наблюдались палочки разного диаметра и длины (рис.3). Некоторые клетки имели форму перекрученных спиралей, напоминающие по форме клетки микоплазм. Кокковидные клетки часто присутствуют в виде конгломератов, в то время как овальные и палочковидные клетки на препаратах, как правило, наблюдались в виде одиночных клеток (рис.3).

На рисунках хорошо видны утолщенные внешние покровы клеток, которые сходны с капсулярными слоями, характерными для бактерий, наблюдаемыми *in situ* в почве и подпочвенных слоях (Соина и др., 2012).

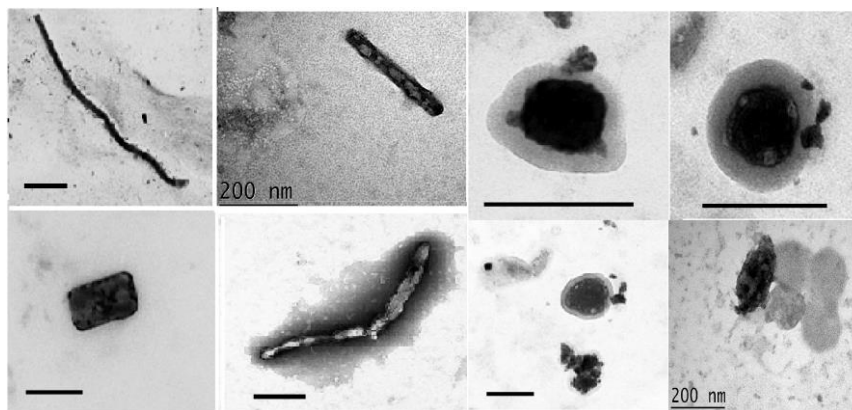


Рис. 3. ФФП в просвечивающем электронном микроскопе. Размер масштабной метки 200 нм

5. Изменения прокариотного комплекса по ходу сукцессии при двух температурах (+5°C и +20°C)

Изменения показателей общей численности прокариот, доли ФФП по ходу сукцессии инициированной увлажнением были изучены в двух образцах почвы, отличающихся содержанием органического углерода и наличием разрастаний водорослей в горизонте. Первый образец (I) - горизонт B1 с низким содержанием С орг. (0.14%) из профиля почвы с гиполитными горизонтами (разрез 10-15P1) второй (II) – гор. V с более высоким содержанием Сорг. (0.41%) за счет присутствия пленок водорослей (разрез NSM10-04). Образцы инкубировали при двух температурах (+5°C и +20°C) и постоянной влажности (20%).

5.1. Изменения показателей общей численности прокариот и численности ФФП по ходу сукцессии

Максимальные показатели общей численности прокариот для обоих образцов были отмечены на 14 сутки сукцессии и составляли 2.74 млрд клеток в 1г почвы для минерального горизонта (I образец) (рис4. А) и 5.62 млрд клеток в 1г почвы для образца с пленками водорослей (II образец) (рис.4 Б). Минимальные показатели общей численности прокариот наблюдались в начальной (нулевой) точке. С 30-ых суток и до конца опыта (на 60-е и 160-е сутки) общая численность прокариот постепенно снижалась и почти достигала значений, отмеченных в начале опыта (рис.4). Для образца с более высоким содержанием С орг. на 160-е сутки наблюдается небольшое увеличение общей численности, бактерий (рис.4 Б). Следует отметить, что для образца с более низким содержанием Сорг. и более низкой начальной численностью прокариот наблюдался больший отклик на увлажнение и культивирование при положительных температурах, общая численность для данного

образца на 14 сутки увеличилась почти в 20 раз, тогда как для образца с пленками водорослей в 10 раз.

Максимальная доля ФФП отмечалась в начальной точке сукцессии и постепенно уменьшалась по ходу сукцессии, минимальные значения были отмечены на 14 сутки, на этой стадии сукцессии общая численность клеток обычного размера достигала максимума.

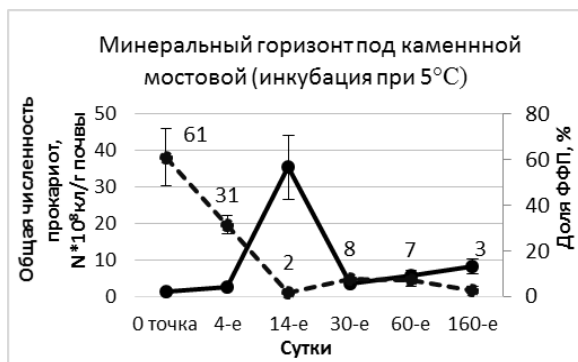
Таким образом, можно предположить, что клетки ФФП представляют собой фракцию покоящихся клеток прокариот, которые при наступлении благоприятных условий переходят в активное состояние.

5.2. Изменения численности и структуры сапротрофного бактериального комплекса по ходу сукцессии

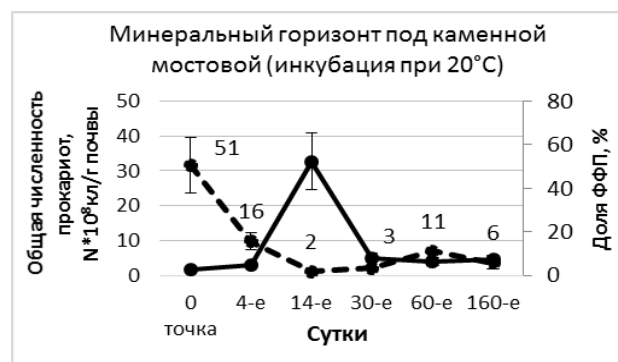
Максимальная численность сапротрофных бактерий в образце минерального горизонта (I) на 7 и 14 сутки при обоих режимах инкубации и составила 54.8 и 16.4 млн КОЕ/г почвы, соответственно. Следует отметить, что для этого образца температура инкубации почвы не влияла на численность сапротрофных бактерий. На всех стадиях сукцессии доминировал род *Arthrobacter*.

Для образца почвы из органогенного горизонта с пленками водорослей отмечалось низкая численность сапротрофных бактерий в начальной стадии сукцессии и некоторое увеличение этого показателя по ходу сукцессии. Более существенное увеличение численности сапротрофных бактерий отмечено при инкубации почвы при +20°C. На начальных этапах сукцессии в образце доминировали грамотрицательные бактерии, на поздних стадиях доминировали представители рода *Arthrobacter*. Большинство выросших на среде ГПД колоний грамотрицательных бактерий, были бинарными.

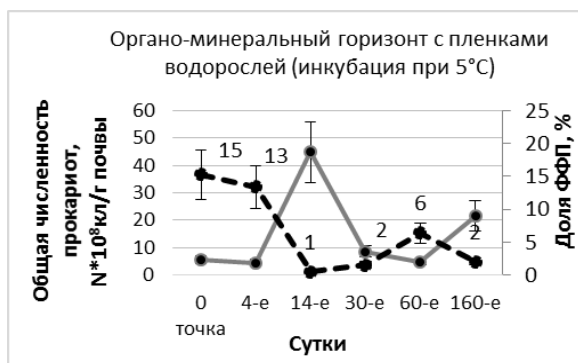
Длительная инкубация почвы при постоянных уровнях влажности и температуры позволила выделить разнообразные представителей разных родов грамотрицательных бактерий, которые были идентифицированы до вида с помощью метода секвенирования последовательностей гена 16S рРНК и отнесены к филуму протеобактерий (табл.4).



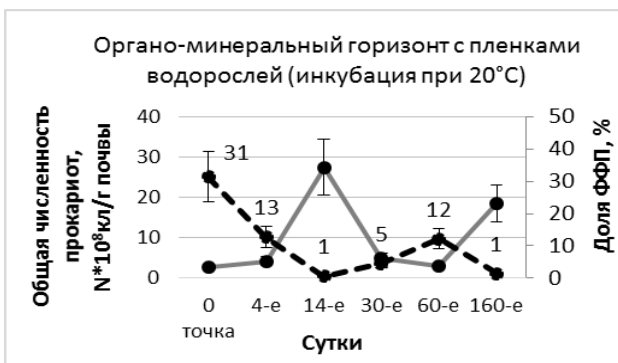
А.1



А.2



Б.1



Б.2

Рис.4. Динамика общей численности прокариот и доли ФФП по ходу сукцессии А) образец (I) - горизонт В1 с низким содержанием С орг. (0.14%); Б) образец (II) – горизонт V с более высоким содержанием С орг. (0.41%). Вариант 1 – температура инкубации + 5°C; Вариант 2 – температура инкубации + 20°C

Таблица 4.

Штаммы культивируемых грамотрицательных бактерий, идентифицированные с использованием метода секвенирования последовательностей гена 16S рРНК

Alphaproteobacteria	Betaproteobacteria	Gammaproteobacteria
<i>Sphingopyxis bauzanensis</i>	<i>Ralstonia</i> sp. (3 штамма)	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
<i>Bosea thiooxidans</i> (3 штамма)	<i>Ralstonia picketti</i> (2 штамма)	<i>Pseudomonas</i> sp. (2 штамма)
<i>Sphingomonas</i> sp. (8 шт.)	<i>Delftia acidovorans</i>	<i>Pseudomonas vancouverensis</i>
<i>Bosea</i> sp.	<i>Variovorax</i> sp. (2 штамма)	<i>Acinetobacter</i> sp.
<i>Brevundimonas</i> sp.		

6. Исследования разнообразия прокариот на уровне филумов при помощи метода FISH

Метод *in situ* гибридизации с рРНК-специфичными флуоресцентно-мечеными олигонуклеотидными пробами (FISH) совмещает возможности идентификации, визуализации, а также определения численности метаболически активных клеток отдельных филогенетических групп архей и бактерий (Манучарова, 2008; Amann, Ludwig, 2000).

Изучение разнообразия прокариот среди бактерий обычного размера и ФФП на уровне филумов было проведено в двух профилях антарктических почв с гиполитными органогенными горизонтами (10-15L1) и (10-06), а также в образце эндолитного почвоподобного тела (ЭПТ) (10-45). Полностью результаты проведенного филогенетического анализа представлены в тексте диссертации. Во всех исследованных образцах были выявлены представители доменов *Bacteria* и *Archaea*. Численность метаболически активных клеток прокариот в ЭПТ(10-45) составило 42.1 млн клеток в 1г почвы и 3.0 млн клеток в 1г почвы для клеток обычного размера и ФФП соответственно. В разрезе 10-15L1 численность метаболически активных клеток прокариот значительно варьировала по профилю: 10.35 млн клеток в 1г почвы в горизонте GP, 182.8 млн клеток в 1г почвы в горизонте B1 и 10.6 млн клеток в 1г почвы в горизонте B2 (рис.5). В разрезе 10-06, численность метаболически активных клеток также значительно варьировала по профилю.

Численность метаболически активных клеток ФФП также была подвержена значительным колебаниям. В профиле разреза 10-15L1 этот показатель составлял от 1.0 до 2.3 млн клеток в 1г почвы, а в разрезе 10-06 от 1.1 до 4.5 млн клеток в 1г почвы (рис.5).

Следует отметить, что по сравнению с показателями численности прокариот, полученными с помощью метода окраски почвенной суспензии акридином оранжевым, численность метаболически активных клеток (метод FISH) ниже на порядок, что позволяет предположить, что значительная часть клеток в почве находится в жизнеспособном некультивируемом состоянии.

Во всех образцах почвы, проанализированных методом FISH, доминировали представители домена *Bacteria* (74.4% и более), ниже было содержание представителей домена *Archaea* (не более 22%). Максимальная доля архей (22%), зафиксирована в горизонте с примесью торфяного материала (разрез 10-06) (рис.6), что может быть связано с присутствием в этом горизонте значительного количества метаногенов (филум *Euryarchaeota*), что отмечалось ранее рядом авторов (Панкратов и др., 2005; Dedysh et al., 2007). Более низкая доля домена *Archaea* обнаружена в верхних (поверхностных) горизонтах (рис.6).

Среди домена *Bacteria*, при помощи специфичных зондов выявлены представители филумов *Proteobacteria* (альфа-, бета- и гамма- протеобактерии),

Actinobacteria, *Planctomycetes*, *Acidobacteria*. В большинстве исследованных образцов содержание протеобактерий составило более половины от числа идентифицированных клеток бактерий, ниже было содержание филумов *Actinobacteria* (8–28%), *Planctomycetes* (8–24%) и *Acidobacteria* (1–8%). Среди филума *Proteobacteria* содержание представителей отдельных классов была различна, доля альфапротеобактерий варьировала от 11 до 28%, бетапротеобактерий – от 7 до 28%, гаммапротеобактерий – от 4 до 38%.

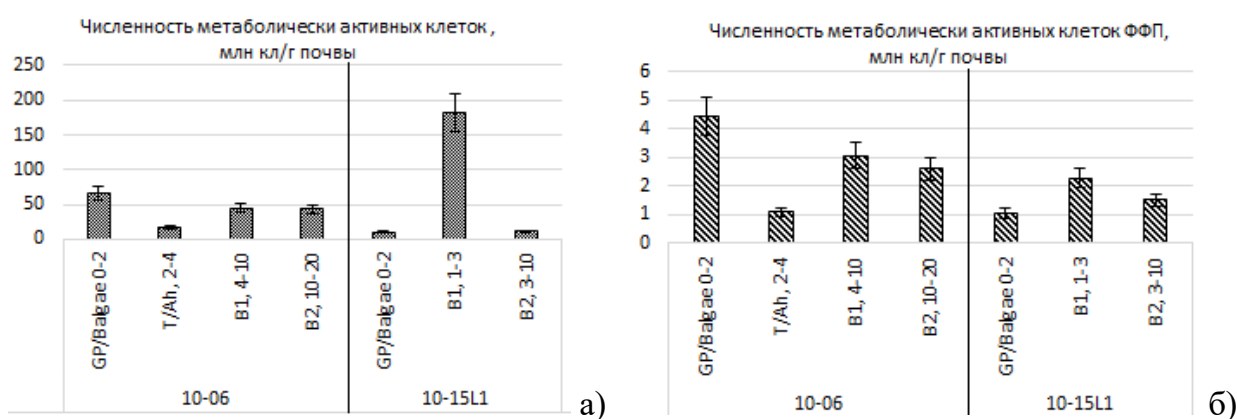
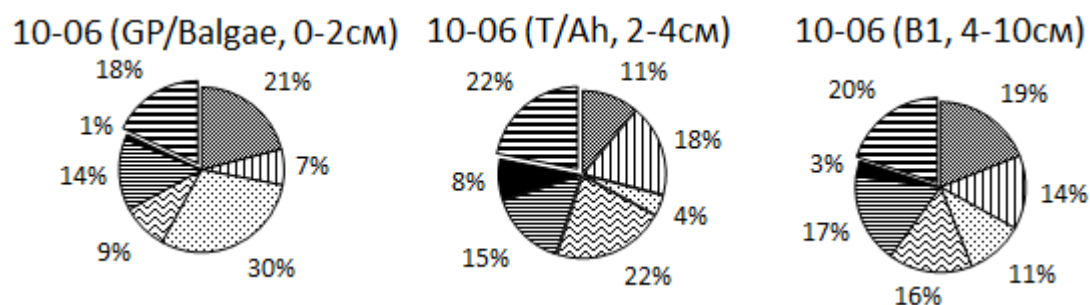


Рис. 5. Численность метаболически активных клеток прокариот обычного размера (а) и ФФП (б) в млн кл./г почвы (метод FISH)

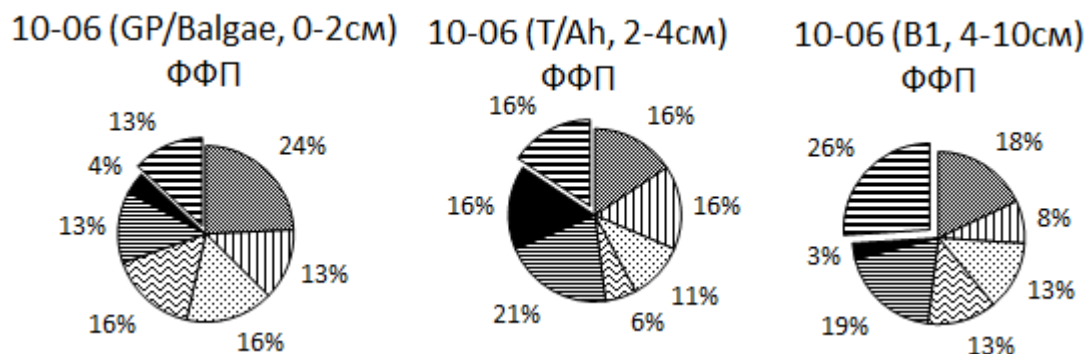
Обращает на себя внимание, что соотношение отдельных таксонов в разных горизонтах изученных разрезов различалось незначительно. Вниз по профилю доля протеобактерий снижалась от 58 до 44%. Доля альфапротеобактерий и гаммапротеобактерий снижалась вниз по профилю, тогда как доля бетапротеобактерий и планктомицетов постепенно увеличивалась. Доля актинобактерий увеличивалась вниз по профилю, но максимальное значение было зафиксировано в торфянистом горизонте (22%) (рис.6).

Максимальное содержание ацидобактерий, типичных обитателей сфагновых болот (Dedysh, 2011) выявлено в горизонте с примесью торфянистого материала (8%), где кислотности среды ниже, чем в выше- и нижележащих горизонтах (рН 5.2–5.5).

Сопоставление данных о жизнеспособности клеток бактерий (50–72%) с высокой долей неидентифицированных клеток и высоким содержанием ФФП в исследованных почвах, позволяет предположить, что значительная часть прокариот представляет собой мелкие жизнеспособные клетки с низкой метаболической активностью, т. е. своеобразные покоящиеся формы.



А)



Б)

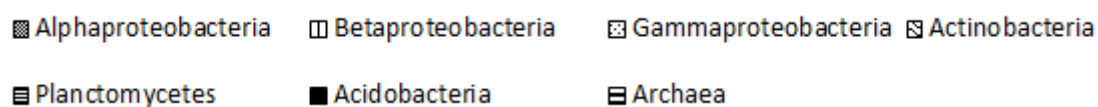


Рис. 6. Доля прокариот (в %) отдельных филогенетических групп в разрезе 10-06, (метод FISH) А) клетки обычного размера; Б) ФФП

7. Биологическая активность антарктических почв

Поскольку до сих пор вопрос об участии почвенной микробиоты в процессах трансформации углерода и азота в антарктических почвах остается мало изученным, нами проведена оценка показателей биологической активности микробных сообществ газохроматографическими методами в образцах оазиса Холмы Ларсеманн.

Потенциальное продуцирование метана (метаногенез) не превышало 7.2 нг/г почвы в сут., что значительно ниже, чем подобные показатели для почв умеренной зоны. Максимальные показатели зафиксированы в торфяном горизонте почвы с гиполитным органогенным горизонтом (разрез 10-06), где ранее с помощью метода FISH, было обнаружено значительное содержание домена *Archaea* – 22% (рис. приведен в тексте диссертации).

Интенсивность азотфиксации в изученных образцах низка (от 0.08 до 55.85 нг C_2H_4 /г почвы в сут.). Максимальной величины азотфиксация достигала в горизонте B₁

(разрез 10-15L1) (рис.7) с высоким содержанием бактериальной биомассы – 4.4 ± 0.21 мкг С/г почвы (см. табл.1 на стр. 11).

Интенсивность денитрификации (эмиссия N_2O) варьировала от 0.09 до 19.28 мкг N– N_2O /г почвы в сут. (рис.8). Ее максимальное значение зарегистрировано в оторфованном горизонте (T/Ah) разреза 10-06. Несколько меньшие показатели активности денитрификации (12.94 и 13.87 мкг N– N_2O /г почвы в сут.) отмечены для поверхностных гиполитных альго-бактериальных горизонтов каменных мостовых.

Продуцирование углекислого газа в разных почвах варьировало от 0.47 до 2.34 мкг С– CO_2 /г почвы в сут. (рис. 9). Интенсивность процесса снижалась вниз по профилю. Максимальные показатели зафиксированы в верхних горизонтах каменных мостовых с гиполитными альго-бактериальными сообществами, минимальные – в нижних минеральных горизонтах почв этой группы.

Итак, показатели биологической активности, определенные газохроматографическими методами, были значительно ниже, чем обычно регистрируется в почвах умеренной зоны. Полученные результаты позволяют предположить, что микробные сообщества примитивных почв Антарктиды могут в теплые периоды года вносить определенный вклад в формирование «пула» парниковых газов атмосферы.

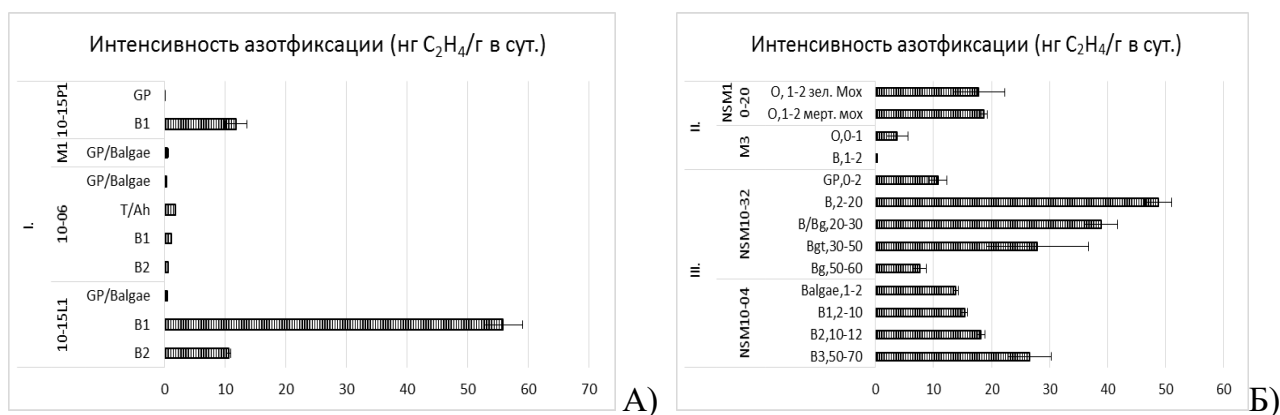


Рис. 7. Интенсивность азотфиксации (нг C_2H_4 /г в сут.). А) Профили почв I группы (почвы с гиполитными органогенными горизонтами); Б) Профили почв II группы (почвы с поверхностными органогенными горизонтами), III группы (почвы с поверхностными органогенными горизонтами - альго-бактериальные маты).

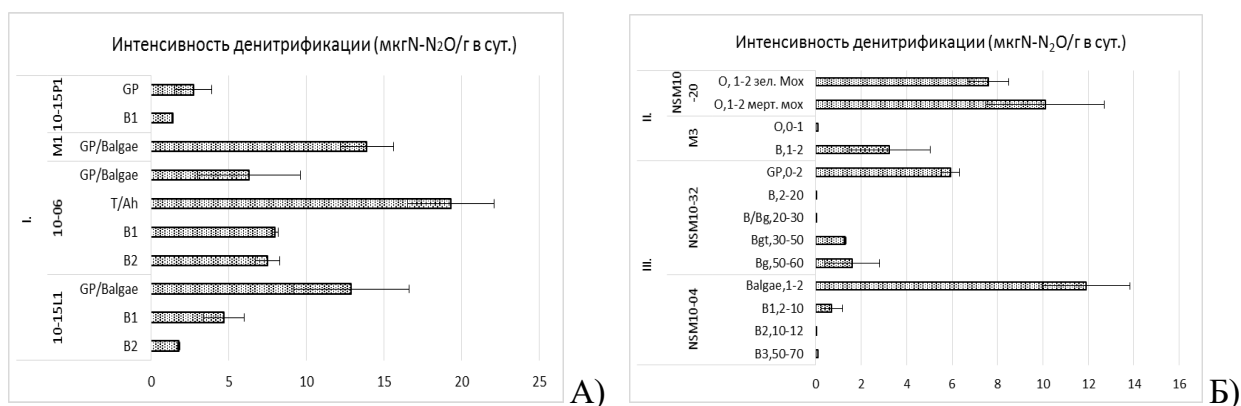


Рис. 8. Интенсивность денитрификации (мкг N-N₂O/г в сут.). А) Профили почв I группы; Б) Профили почв II и III групп

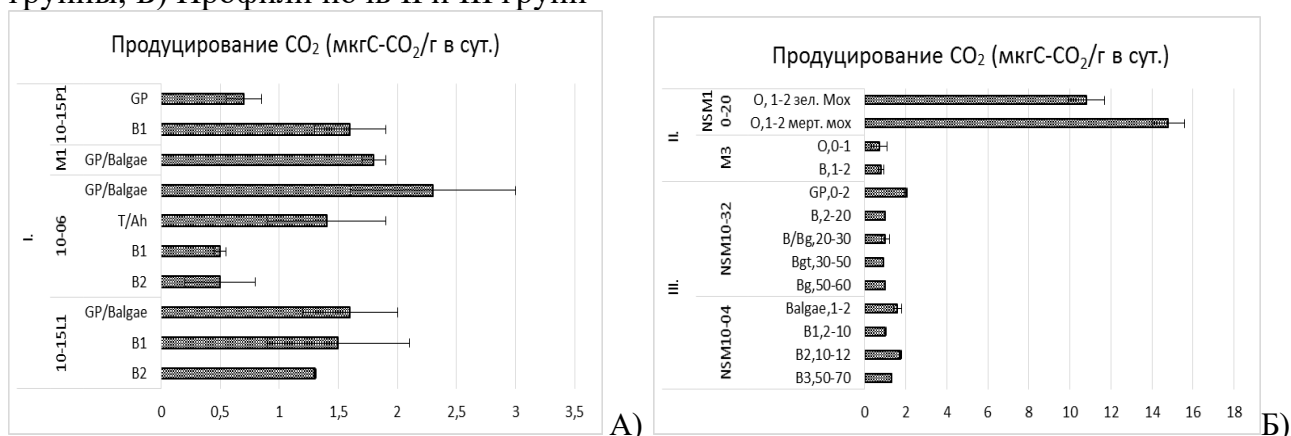


Рис. 9. Продуцирование CO₂ (мкг C-CO₂/г в сут.). А) Профили почв I группы; Б) Профили почв II и III групп

Заключение

Проведенное комплексное исследование почв Восточной Антарктики с гиполитными и поверхностными органогенными горизонтами, а также эндолитных почвоподобных тел позволило выявить некоторые особенности прокариотных комплексов. Исследованные почвы характеризовались невысокими показателями общей численности прокариот, не выше сотен млн клеток в 1 г почвы. Выявлено высокое содержание жизнеспособных клеток (60% и выше), что свидетельствует о высокой устойчивости бактерий к воздействию низких температур и смене режимов размораживания-оттаивания и высыхания почвы.

В почвах со сформировавшимся профилем было четко выражено уменьшение численности прокариот вниз по профилю. Выше численность прокариот была в органогенных горизонтах (обрастание водорослями и мхами), а также в горизонте под каменной мостовой, создающей своеобразный «тепличный эффект» для бактерий.

Особенностью прокариотных комплексов исследованных почв было значительное содержание фильтрующихся форм прокариот во всех образцах почв и

почвоподобных тел. Численность их достигала сотен млн клеток в 1 г почвы, а содержание в разных горизонтах исследованных почв колебалось от 15 до 90% от общей численности бактерий и было выше в образцах из местообитаний, наиболее подверженных воздействию низких температур и смене режимов размораживания-оттаивания. Эти результаты согласуются с данными о высокой доле клеток бактерий мелкого размера в вечномерзлых почвах, полученных методом дифференциального центрифугирования (Соина и др., 2012).

Полученные данные о значительной численности и содержании фильтрующихся форм бактерий в исследованных почвах, их высокой потенциальной жизнеспособности, морфологическом и филогенетическом разнообразии позволяют предположить, что именно они являются в исследованных почвах пулом клеток, который позволяет бактериям сохраняться в неблагоприятных условиях внешней среды (низкие температуры, постоянное замораживание-оттаивание, недостаток органических субстратов, высыхание почвы и т.п.).

Выводы:

1. Впервые показано, что численность прокариот в исследованных почвах Восточной Антарктики была значительно (на 1 - 2 порядка) ниже, чем в почвах умеренного пояса и не превышала 10^8 клеток в 1 г. Показатели численности значительно варьируют по профилю: максимальные показатели зарегистрированы в верхних органогенных горизонтах, минимальные – в нижних минеральных горизонтах почв.

2. Впервые показано, что значительная часть прокариот в исследованных почвах Антарктики представлена фильтрующимися формами, численность которых достигает 300 млн клеток в 1 г почвы, а содержание не ниже 50%. При помощи ПЭМ выявлено значительное морфологическое разнообразие ФФП.

3. Изучение таксономического разнообразия прокариотных комплексов исследованных почв на уровне филумов выявило преобладание домена *Bacteria* над доменом *Archaea*. Среди домена *Bacteria* доминирует филум *Proteobacteria*, ниже доля филумов *Actinobacteria*, *Planctomycetes*, *Acidobacteria*. ФФП были представлены теми же филумами.

4. По ходу сукцессии, инициированной увлажнением, минимальные показатели общей численности прокариот зарегистрированы в начальной (нулевой) точке, а максимальные показатели – на 14 сутки, далее (до 60 суток) происходило их плавное снижение. Максимальное содержание ФФП отмечено в начальной точке сукцессии, далее происходило снижение этого показателя, что сопровождалось увеличением содержания клеток более крупного размера.

5. Показатели потенциальной активности азотфиксации, денитрификации и продуцирования углекислого газа и метана в исследованных почвах Антарктики были ниже, чем в почвах умеренного пояса. Максимальных значений эти показатели достигали в верхних горизонтах с высокой численностью прокариот и обильным разрастанием водорослевых корочек.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендуемых ВАК РФ

1. **Кудинова А.Г.**, Лысак Л.В., Лапыгина Е.В., Соина В.С., Мергелов Н.С. Разнообразие и жизнеспособность прокариот в примитивных почвах оазиса Ларсеманн (Восточная Антарктида) // Известия РАН. Сер Биологическая. – 2015. – Т. 42. – №2. – С. 127-133.
2. **Кудинова А.Г.**, Лысак Л.В., Соина В.С., Мергелов Н.С., Долгих А.В., Шоркунов, И.Г. Бактериальные сообщества в почвах криптогамных пустошей Восточной Антарктиды (оазисы Ларсеманн и Холмы Тала) // Почвоведение. – 2015. – № 3. – С. 317-321.

Тезисы и материалы конференций

3. **Кудинова А.Г.** Бактериальные сообщества некоторых примитивных почв Антарктиды. Тезисы докладов XIX Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2012», секция «Почвоведение», Москва, С. 9-10.
4. **Кудинова А.Г.** Пространственная динамика почвенных микробных сообществ в условиях Антарктиды (оазис Холмы Ларсеманн) Материалы Международной научной конференции XVI Докучаевские молодежные чтения «Законы почвоведения: новые вызовы», Санкт-Петербург, 2013. С. 193-194.
5. **Кудинова А.Г.** Пространственное распределение основных таксонов прокариот в примитивных почвах Антарктиды. Материалы Международной научной конференции XVII Докучаевские молодежные чтения «Новые вехи в развитии почвоведения: современные технологии как средства познания», Санкт-Петербург, 2014, С. 92-94.
6. **Кудинова А.Г.**, Лысак Л.В., Соина В.С., Мергелов Н.С., Лыпыгина Е.В. Численность, потенциальная жизнеспособность и филогенетическое разнообразие прокариот в примитивных почвах Восточной Антарктиды. Материалы докладов II Всероссийской конференции «Биоразнообразие экосистем Крайнего Севера: инвентаризация, мониторинг, охрана», Сыктывкар, 2013. С. 459-462.
7. Vera Soina, **Kudinova A. G.**, Lysak L. V., Manucharova N. A., Mergelov N. S., Petrova M. A. Biological Activity and Diversity of Bacterial Complexes in East Antarctic Soils // 10th International Congress on Extremophiles. Abstracts. Saint Petersburg, 2014, P. 272.
8. **Кудинова А. Г.**, Лысак Л. В. Биологическая активность примитивных почв Восточной Антарктиды (Оазис Холмы Ларсеманн). Материалы Всероссийского симпозиума с международным участием. Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов. Москва, 2014, С.135.
9. **Кудинова А.Г.** Наночакры бактерий в почвах Антарктиды и острова Кубы. Тезисы докладов XXII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2015», секция «Почвоведение», Москва, С. 33.
10. **Кудинова А.Г.**, Лысак Л.В. Микробная трансформация соединений углерода и азота в примитивных почвах оазиса Холмы Ларсеманн (Восточная Антарктида). Материалы научной конференции с международным участием «Почвы холодных областей: генезис, география, экология», Улан-Удэ, 2015, С.72-73.
11. Соина В.С., Воробьева Е.А., Лысак Л.В., **Кудинова А.Г.**, Мергелов Н.С. Экстремальные условия антарктических почв и вечномерзлых осадков как модели сохранения жизнеспособных микроорганизмов. Материалы 2-ой Всероссийской конференции по астробиологии: «Жизнь во Вселенной: физические, химические и биологические аспекты», Пушкино, 2016, С. 63.
12. **Кудинова А.Г.** Изменения численности и структуры прокариотного комплекса почв Восточной Антарктиды по ходу сукцессии инициированной увлажнением. Материалы международной конференции «Современные аспекты сельскохозяйственной микробиологии», Москва, 2016, С.4