

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

На правах рукописи



ЧЕПЦОВ ВЛАДИМИР СЕРГЕЕВИЧ

**ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ПРИРОДНЫХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ
В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПАРАМЕТРОВ
ИНОПЛАНЕТНЫХ ГРУНТОВ И ОТКРЫТОГО КОСМОСА**

03.02.03 – Микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

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

**Москва
2019**

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

Научный руководитель: **Манучарова Наталия Александровна,**
доктор биологических наук, доцент, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», факультет почвоведения, кафедра биологии почв, профессор

Официальные оппоненты: **Петрова Майя Александровна,**
доктор биологических наук, ФГБУН «Институт молекулярной генетики РАН», сектор анализа и хранения микроорганизмов, заведующая сектором

Терехова Лариса Петровна,
доктор биологических наук, профессор, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе», отдел микробиологии, научный руководитель отдела

Щербакова Виктория Артуровна,
доктор биологических наук, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», лаборатория анаэробных микроорганизмов, ведущий научный сотрудник

Защита диссертации состоится «29» октября 2019 года в 15 ч 30 мин на заседании диссертационного совета МГУ.03.13 при ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» по адресу: 119234, Москва, Ленинские горы, МГУ, д. 1, стр. 12, биологический факультет, аудитория М-1. Тел: 8(495)-939-35-46, электронная почта: nvkostina@mail.ru
С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский проспект, д. 27) и на сайте ИАС «ИСТИНА» <https://istina.msu.ru/dissertations/234818430/>.

Автореферат разослан «25» сентября 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета, к.б.н.



Костина Н.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Определение пределов устойчивости земных микроорганизмов к воздействию факторов внеземного пространства является одним из приоритетных направлений современных астробиологических исследований (Cockell et al., 2017; Horneck et al., 2016; Rummel, Conley, 2018). Большое внимание уделяется ионизирующей радиации (Moeller et al., 2017; Musilova et al., 2015) как одному из основных факторов, способных препятствовать сохранению и распространению жизни за пределами Земли.

Доказано, что условия, при которых происходит воздействие облучения (температура, давление, и др.), существенно корректируют радиационные эффекты (Baumstark-Khan, Facius, 2002; Dartnell et al., 2010). Микроорганизмы, развивающиеся в природных гетерофазных минеральных средах (почвы, породы) хорошо защищены от стрессового воздействия физико-химических факторов. Опубликовано уже немало данных о повышенной устойчивости микроорганизмов к стрессу в составе биопленок или микробных сообществ *in situ* в среде обитания в сравнении с чистыми культурами (Vorobyova et al. 1996, 1997; Decho, 2000; El-Registan et al., 2006; Froesler et al., 2017). Следовательно, для корректной оценки устойчивости микроорганизмов земного типа в составе инопланетного грунта или другой среды обитания необходимо наиболее полное воспроизведение комплекса соответствующих физико-химических факторов при сохранении естественной среды, к которой адаптированы микробные сообщества. При этом для проведения модельных экспериментов перспективно использование объектов, рассматриваемых в качестве аналогов гипотетических внеземных экосистем ввиду сходства ряда физико-химических факторов среды. Такими природными объектами являются древние мерзлые осадочные породы Арктики и Антарктики, почвы и породы пустынь, термальные местообитания и др. (Smith, McKay, 2005; Wierzchos et al., 2012; DiRuggiero et al., 2013; Parro et al., 2011). Выяснение предельных физико-химических воздействий, выявление наиболее устойчивых *in situ* микроорганизмов или их комплексов не только скорректирует задачи астробиологического поиска, но, несмотря на условность экстраполяции расчетов на реальные условия, позволит оценить саму целесообразность поиска жизни на том или ином космическом объекте. Исследования в этом направлении необходимы не только для решения астробиологических задач, но, несомненно, внесут свой вклад в решение ряда экологических и биотехнологических проблем.

Цель исследования: изучение воздействия ионизирующих излучений, ультрафиолетового излучения, температуры и низкого давления, как ключевых параметров инопланетных грунтов и открытого космоса, на естественные микробные сообщества и чистые культуры микроорганизмов.

Задачи исследования:

1. Исследование жизнеспособности и физиологического отклика микроорганизмов и микробных сообществ почв и древней мерзлоты Земли

при воздействии: высоких доз ионизирующих и ультрафиолетового излучений, низкого давления, низких температур, а также комплексного воздействия ультрафиолетового излучения и вакуума;

2. Определение предела устойчивости микробных сообществ к воздействию гамма-излучения, оценка зависимости повреждений от интенсивности и вида излучения, типа минеральной матрицы, исследование последствий радиации;

3. Оценка возможности функционирования микробных сообществ в условиях температурного режима, атмосферного давления и влажности поверхностного слоя марсианского реголита, а также времени сохранения потенциально жизнеспособных микроорганизмов на различных объектах Солнечной системы и в открытом космосе;

4. Создание коллекции устойчивых микроорганизмов.

Научная новизна. В ходе исследования впервые выявлены пределы устойчивости земных микроорганизмов при воздействии ряда наиболее существенных космических факторов. Исследование позволяет прогнозировать возможность формирования инопланетных биосфер земного типа и потенциальную продолжительность сохранения жизнеспособности микроорганизмов в инопланетных условиях и в открытом космосе, что вносит вклад в фундаментальные научные представления о возможностях появления жизни на планетах и ее распространении в космосе. Создана коллекция микроорганизмов, обладающих высокой устойчивостью к совокупному воздействию космических факторов.

Практическая значимость работы. Прогнозирование биологической эволюции планетных тел необходимо для планирования астробиологических миссий, выбора мест для посадочных модулей, создания и выбора необходимого оборудования. Коллекция микроорганизмов устойчивых к условиям космоса и инопланетной среде имеет ценность как для разработки протоколов космического карантина, так и для развития биотехнологий, в том числе космических. Результаты исследования могут быть применены также при прогнозировании отклика естественных микробных биосистем в случае техногенного радиационного загрязнения окружающей среды.

Положения, выносимые на защиту.

1. Впервые показано, что естественные микробные сообщества экстремальных местообитаний Земли способны выдерживать воздействие ионизирующей радиации в сверхвысоких дозах: при нормальных условиях – не менее 430 кГр, а в условиях низкого давления и низкой температуры - не менее 1 МГр. При воздействии экстремальных факторов сохраняется высокая численность жизнеспособных клеток, метаболическая активность и высокое биоразнообразие при частичной перестройке таксономической структуры сообществ.

2. Показано, что бактерии имеют значительно более высокую радиорезистентность *in situ* в естественной среде обитания по сравнению с их устойчивостью в чистой культуре. Благодаря протекторным свойствам

природной среды и внутри- и межпопуляционным взаимодействиям даже радиочувствительные микроорганизмы, находясь в составе природных микробных сообществ, способны выдерживать воздействие высоких доз ионизирующей радиации.

3. Впервые показано, что природные микробные сообщества без существенных потерь выдерживают воздействие ионизирующего излучения в сочетании с низкими температурами и низким давлением в дозах, обеспечивающих потенциальную возможность выживания экосистем земного типа в поверхностном слое марсианского реголита в течение не менее 13 млн. лет и в течение не менее 200 млн. лет на глубине 5 м, в открытом космосе в составе метеоритов в течение не менее 4 млн. лет, во льду спутника Юпитера Европы на глубине 10 см в течение не менее ~ 2 тыс. лет.

4. Естественные микробные сообщества экстремальных местообитаний Земли способны выдерживать длительное воздействие низкого давления, в том числе, в сочетании с воздействием ультрафиолетового излучения, сохраняя высокую численность живых клеток и биоразнообразие. Показано, что низкое давление воздействует на природные биосистемы, вызывая в них активный метаболический отклик и адаптивную реакцию.

5. Сублимация подповерхностного льда может являться источником жидкой воды в верхнем слое марсианского реголита и обеспечивать возможность нормального функционирования сообществ земного типа.

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

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы были доложены на следующих всероссийских и международных конференциях: 1-ая Всероссийская конференция "Астробиология: от Происхождения Жизни к Жизни во Вселенной" (Пушино, Московская обл., 2012), The Fourth Moscow Solar System Symposium (Москва, 2013), 13th European Workshop on Astrobiology - EANA'13 (Шецин, Польша, 2013), Международная Конференция «Криология Земли: XXI век» (Пушино, Московская обл., 2013), Биология – наука XXI века: 17-я Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых (Пушино, Московская обл., 2013), XX Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов-2013" (Москва, 2013), XVII Докучаевские молодежные чтения «Новые вехи в развитии почвоведения: современные технологии как средства познания» (Санкт-Петербург, 2014), Круглый стол "Актуальные проблемы общей и космической радиобиологии и астробиологии" (Дубна, Московская обл., 2014), The Fifth Moscow Solar System Symposium (Москва, 2014), EXTREMOPHILES 2014: 10th International Congress on Extremophiles (Санкт-Петербург, 2014), 40th COSPAR Scientific

Assembly (Москва, 2014), Современные направления в радиобиологии и астробиологии. Молекулярные, генетические, клеточные и тканевые эффекты (Дубна, Московская обл., 2015), The Sixth Moscow Solar System Symposium (Москва, 2015), Permafrost in XXI century: basic and applied researches (Пушино, Московская обл., 2015), Современные аспекты сельскохозяйственной микробиологии (Москва, 2016), Земля на ранних этапах развития Солнечной системы (Москва, 2016), Микробные сообщества в эволюции биосферы с древнейших времен до наших дней (Москва, 2016), Актуальные проблемы радиобиологии и астробиологии. Генетические и эпигенетические эффекты ионизирующих излучений (Дубна, Московская обл., 2016), XI Международная школа-конференция с международным участием "Актуальные аспекты современной микробиологии" (Москва, 2016), The Seventh Moscow Solar System Symposium (Москва, 2016), 2-я Всероссийская конференция по астробиологии: «Жизнь во Вселенной: физические, химические и биологические аспекты» (Пушино, Московская обл., 2016), The Eighth Moscow Solar System Symposium (Москва, 2017), EANA 2017 European Astrobiology Network Association (Орхус, Дания, 2017), Earth's Cryosphere: Past, Present and Future (Пушино, Московская обл., 2017), Вторая открытая конференция молодых ученых Почвенного института имени В.В. Докучаева «Почвоведение: горизонты будущего. 2018» (Москва, 2018).

Публикации. По материалам диссертации опубликована 51 работа: 10 статей в рецензируемых научных изданиях, индексируемых базами данных Web of Science, Scopus и RSCI, 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК для публикации результатов диссертационных работ, 1 глава в коллективной монографии, 1 статья в сборнике, 37 публикаций в сборниках материалов и тезисах докладов на российских и международных научных конференциях.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из 7 разделов: введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 249 страницах машинописного текста, содержит 69 рисунков, 20 таблиц и 4 приложения. Список литературы включает 332 источника, из них 50 на русском и 282 на иностранных языках.

Благодарности. Автор глубоко признателен своему первому научному руководителю Воробьевой Е.А. за выбор тематики исследований, определивший научный путь автора, а также за помощь и поддержку на всех этапах работы. Автор благодарен своим научным руководителям Манучаровой Н.А и Звягинцеву Д.Г. за ценные советы и содействие в работе. Автор выражает благодарность Булату С.А. за неоценимую помощь в проведении молекулярно-биологических анализов, за обучение ряду молекулярно-биологических методов, за ценные советы о дизайне экспериментов и публикации научных результатов. Автор признателен Павлову А.К. за создание уникального оборудования, без которого выполнение основных экспериментов было бы невозможно; Белову А.А. – за постоянную поддержку и помощь в работе; Осипову Г.А. – за помощь в

проведении ГХ-МС анализа липидов; Горленко М.В. – за помощь в проведении мультисубстратного тестирования; Полянской Л.М. – за обучение эпифлуоресцентной микроскопии; Коцюрбенко О.Р, Конраду Р., Климиной К.М., Дениэлу Р. и Наке Х. – за помощь в проведении высокопроизводительного секвенирования и анализе данных; Ломасову В.Н. – за содействие в проведении ряда экспериментов по облучению; Розановой М.С. – за проведение химического анализа исследованных образцов. Автор глубоко признателен коллегам, друзьям и близким за неоценимую помощь и поддержку на всем протяжении работы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе описаны физические условия околоземного пространства, открытого космоса и реголита Марса. Дан обзор исследований устойчивости микроорганизмов и микробных сообществ к воздействию ряда астробиологических факторов: ионизирующей радиации, ультрафиолетового излучения, температуры, вакуума и др. Обсуждены результаты исследований комплексного воздействия условий внеземного пространства на жизнеспособность микроорганизмов, а также модификация эффектов различных факторов при их совместном воздействии. Выявлены недостатки существующих методологических подходов в астробиологических исследованиях и определен круг вопросов, требующих дополнительного изучения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования являлись образцы почв и осадочных пород из различных климатических областей Земли, которые характеризуются экстремальными физико-химическими условиями (древние мерзлые осадочные породы Антарктиды и Арктики, почвы горной пустыни Марокко, пустынные почвы Израиля), дерново-подзолистая почва (Московская область), а также чистые культуры бактерий, выделенные из указанных образцов. Выбор объектов обусловлен тем, что микробные сообщества экстремальных местообитаний рассматриваются как аналоги гипотетических внеземных экосистем ввиду сходства ряда физико-химических факторов среды (Smith, McKay, 2005; Wierzbos et al., 2012; Parro et al., 2011; Preston, Dartnell, 2014). В некоторых образцах почв и пород проводилась реактивация микробных сообществ (с помощью увлажнения и инкубации при +28°C в течение 10 суток) перед проведением экспериментов. Чистые культуры бактерий для проведения экспериментов иммобилизовали в стерильном монтмориллоните или каолините, а также на ряде аналогов реголита Марса и Луны.

Проведены несколько серий экспериментов, моделирующих воздействие ряда экстремальных факторов в различных их комбинациях на микробные сообщества и чистые культуры микроорганизмов:

1) Облучение гамма-излучением при давлении 1 торр и температуре -50°C проводили на гамма-установках К-120000 и К-120000М с источниками ^{60}Co при интенсивности излучения от 0.5 до 16 кГр/ч в градиенте доз 1 Гр, 1 кГр, 10 кГр, 40 кГр, 100 кГр, 1 МГр в специально сконструированной климатической камере (рис. 1), позволяющей поддерживать указанные значения давления и температуры в течение всего времени облучения. Также были проведены контрольные эксперименты по экспонированию образцов при тех же значениях температуры и давления без облучения.

2) Облучение почв гамма-излучением при нормальном атмосферном давлении и температуре около $+16^{\circ}\text{C}$ проводили на гамма-установке «Исследователь» с источниками ^{60}Co при интенсивности излучения от 3.44 до 10 кГр/ч в градиенте доз 148 кГр, 320 кГр, 430 кГр, 692 кГр, 930 кГр и 1.25 МГр. Несколько штаммов бактерий, иммобилизованных в каолините, были облучены при интенсивности излучения 7.2 кГр/ч и температуре $+37^{\circ}\text{C}$ дозами 4.7, 9.3, 14, 18.6, 28, 37.2, 46.5 кГр.

3) Облучение ускоренными электронами (~ 1 МэВ) при давлении 0.01 торр и температуре -130°C проводили с помощью ускорителя электронов РТЭ-1Б при интенсивности излучения 0.28 кГр/с и 2.8 кГр/с при облучении дозами 10 кГр и 100 кГр соответственно. Образцы распределялись тонким слоем (< 1 мм) и облучались в специально сконструированной климатической камере; при этом образцы были отделены от источника излучения лишь алюминиевой фольгой толщиной 100 мкм, что позволяло избегать экранирования образцов. Также были проведены контрольные эксперименты по экспонированию образцов при тех же значениях температуры и давления без облучения.

4) Моделирование температурного цикла поверхности Марса и процесса сублимации подповерхностного льда. В климатическую камеру, упомянутую в п. 1, помещали водяной лед, покрытый сверху слоем образца толщиной 1-1.5 см (рис. 1), и откачивали камеру до давления около 0.1 торр. Затем в течение трех суток трижды проводили прогрев поверхности образца до постоянной температуры 280–300 К длительностью 4–5 часов и охлаждение образца до 200 К в течение 19–20 часов. Также был проведен контрольный эксперимент, в ходе которого воспроизводился аналогичный температурный цикл и давление, но без внесения льда в камеру.

5) Экспонирование образцов при давлении 1.4 Па (~ 0.01 торр) в течение 75 суток проводили в вакуумной камере при комнатной температуре.

6) Облучение ультрафиолетовым излучением при низком давлении. Образцы помещали в кварцевые пробирки и распределяли слоем < 1 мм, затем помещали в вакуумную камеру, в которую предварительно были установлены ртутные ультрафиолетовые лампы, и экспонировали в течение 7 суток при давлении 1.4 Па. Затем понижали давление до 10^{-3} Па ($\sim 10^{-5}$ торр), включали ультрафиолетовые лампы и проводили облучение в течение 15 ч 20 мин. при интенсивности излучения около 25 Вт/м^2 (90 кДж/м^2). Далее повышали давление до 1.4 Па и экспонировали образцы еще в течение 7

суток, затем образцы вынимали из камеры. Также был проведен контрольный эксперимент, в ходе которого образцы аналогичным образом экспонировались в условиях низкого давления, но без облучения ультрафиолетом.

При проведении указанных экспериментов особое внимание уделялось контролю возможной контаминации образцов. В частности, для контроля контаминации вместе с объектами исследования аналогичным образом облучались, экспонировались, транспортировались, хранились и анализировались образцы стерильных (прокаленных при 600°C) глинистых минералов.

При исследовании состояния микробных сообществ и чистых культур бактерий применяли методы культивирования на плотных питательных средах (глюкозо-пептонно-дрожжевая, R2A, среда Чапека), эпифлуоресцентной микроскопии (ЭФМ) с акридином оранжевым, флуоресценции *in situ* гибридизации (FISH), мультисубстратного тестирования (МСТ), газо-хромато масс-спектрометрии (ГХ-МС) липидов, МАЛДИ-ТОФ масс-спектрометрии, молекулярного клонирования, рестрикционного анализа генов 16S рНК, высокопроизводительного секвенирования генов 16S рНК на платформе Illumina и др.

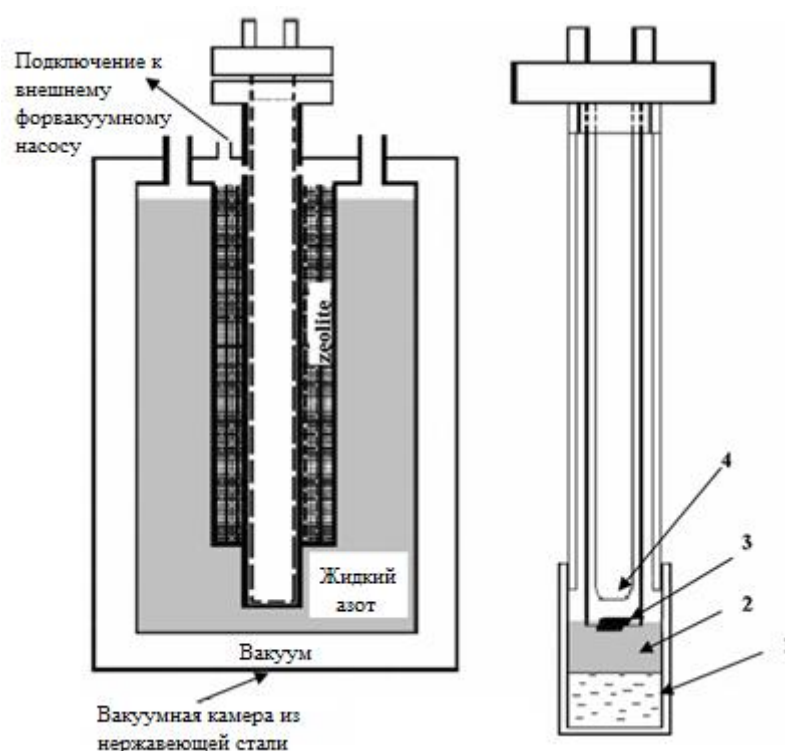


Рисунок 1. Климатическая камера для облучения образцов гамма-излучением и моделирования процесса сублимации льда: 1 – лед (при необходимости); 2 – образец; 3 – термопарный датчик температуры; 4 – нагреватель.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Облучение гамма-излучением при давлении 1 торр и температуре -50°C.

В образцах аридных почв и мерзлых пород после облучения гамма-излучением дозами вплоть до 1 МГр число культивируемых клеток снижалось на 2-3 порядка (рис. 1). В то же время численность клеток прокариот *in situ*, определенная методами ЭФМ и FISH, была близка к контрольным значениям. Предполагается, что часть популяций перешла в некультивируемое состояние.

С помощью МСТ установлено, что микробные сообщества сохраняют высокую потенциальную метаболическую активность и функциональное разнообразие. Методами ГХ-МС липидов, молекулярного клонирования и высокопроизводительного секвенирования показано, что таксономическая структура и биоразнообразие микробных сообществ после облучения в целом сохраняется (рис. 2). Как правило, происходит некоторое угнетение отдельных доминантных и субдоминантных популяций. Наибольшую устойчивость проявили бактерии родов *Deinococcus*, *Clostridium*, *Methylococcus* и *Arthrobacter* (рис. 2, 3).

Чистые культуры бактерий, иммобилизованные в каолините, также продемонстрировали высокую устойчивость к воздействию гамма-излучения в условиях низкого давления и низкой температуры (рис. 4). Наибольшую устойчивость проявил штамм *Kocuria rosea* SN_T60, после воздействия дозы 10 кГр снижавший плотность популяции лишь в 5 раз. Также отмечен стимулирующий эффект экспонирования при низком давлении и низкой температуре (без облучения) на рост бактерий.

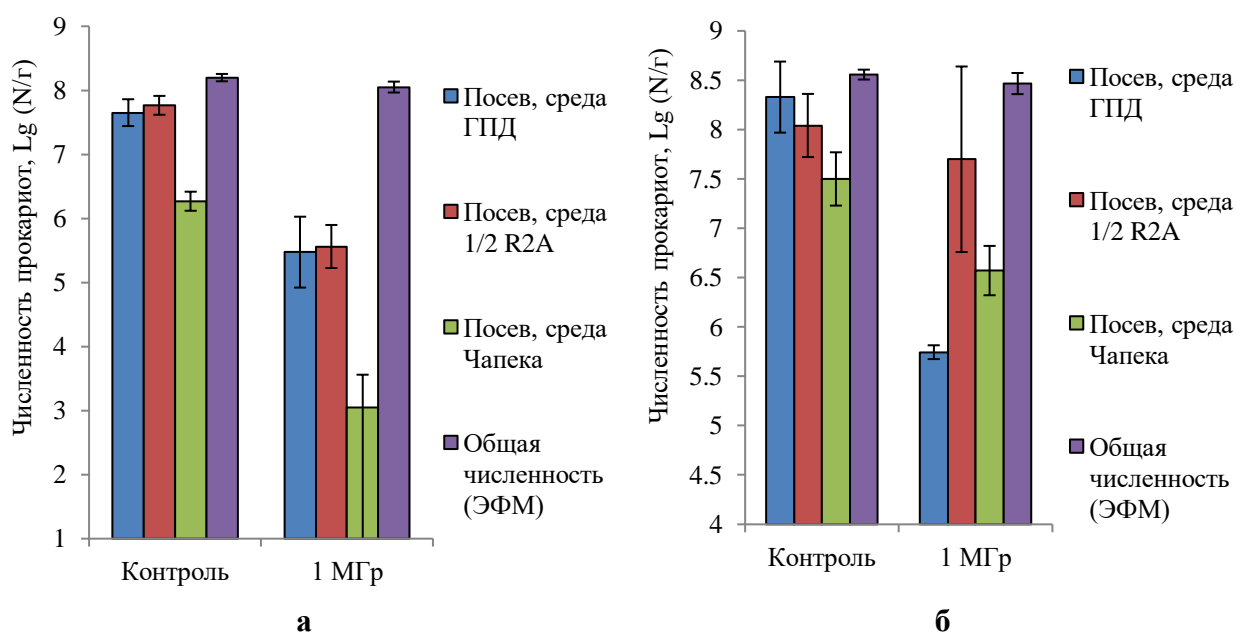


Рисунок 1. Влияние гамма-излучения (1 МГр), низкой температуры (-50 °C) и низкого давления (1 торр) на численность бактерий в образце: а) S1, горная серо-коричневая почва, Марокко б) M-1/91, древняя мерзлая порода, Арктика, Колымская низменность. Планки погрешности обозначают доверительный интервал при $p < 0.05$.

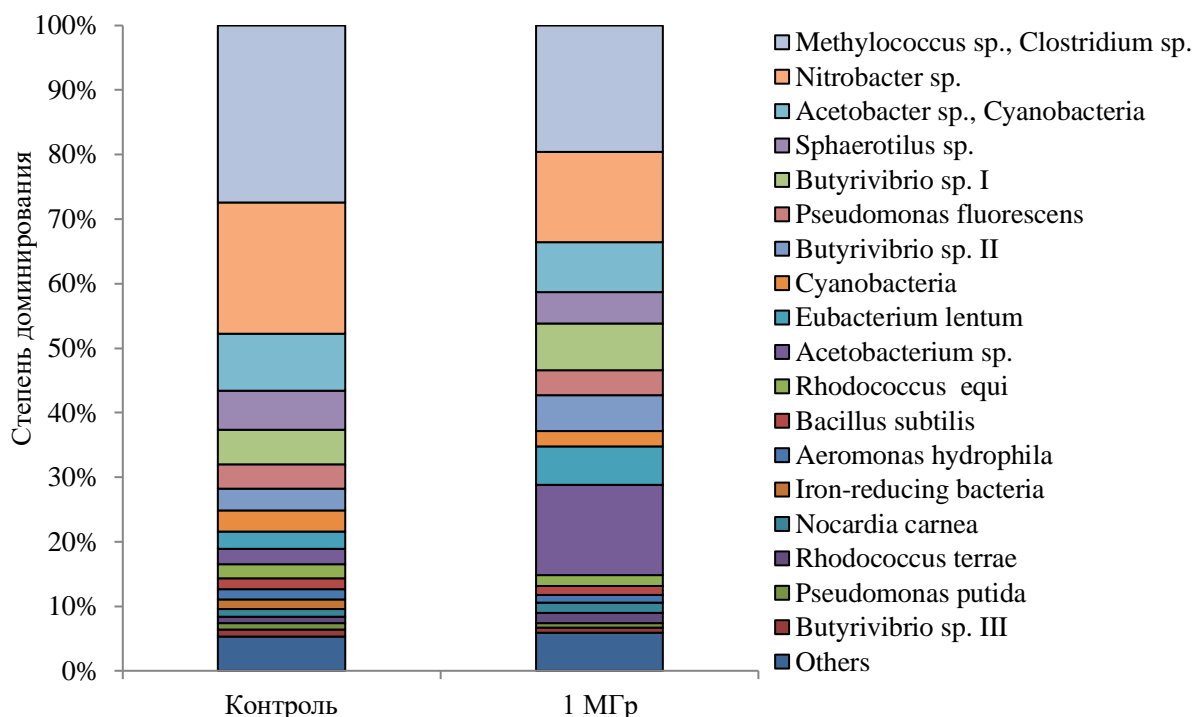


Рисунок 2. Воздействие гамма-излучения (1 МГр), низкого давления (1 торр) и низкой температуры (-50°C) на структуру микробного сообщества арктической мерзлой осадочной породы (образец М-1/91); ГХ-МС липидов.

На сегодняшний день дозы ионизирующей радиации около 20-25 кГр считаются стерилизующими для микробных сообществ почв, пород, а также для чистых культур микроорганизмов (Cox, Battista, 2005; Rainey et al., 2005; McNamara et al., 2003; 2007; Musilova et al., 2015). В то же время есть сведения о сохранении жизнеспособных бактерий в почвах при облучении дозами до 75 кГр. Установлено, что при облучении в условиях низкой температуры радиорезистентность микроорганизмов возрастает, и бактерии способны выдерживать воздействие доз до 80 кГр (Dartnell et al., 2010). Однако сведения о выживании бактерий при облучении дозами свыше 80 кГр отсутствуют. В наших же экспериментах сохранилась не только высокая численность живых клеток, но и высокое бактериальное разнообразие. Это может быть связано как с гетерогенностью почвенной среды и протекторными свойствами минеральных частиц и органических веществ (в том числе микробных метаболитов) в образцах (McNamara et al., 2003; El-Registan et al., 2005; 2006; El-Sayed, Ghanem, 2009; Dieser et al., 2010; Jacobs et al., 2005; Pacelli et al., 2018; Звягинцев, 2005), так и с условиями облучения (Baumstark-Khan, Facius, 2002; Dartnell et al., 2010). В частности, понижение температуры при облучении снижает количество повреждений, вызываемых свободными радикалами, а понижение давления приводит к высушиванию образца и снижению концентрации воды, являющейся одним из основных источников свободных радикалов. Полученные результаты указывают, что радиорезистентность природных микробных сообществ существенно недооценена.

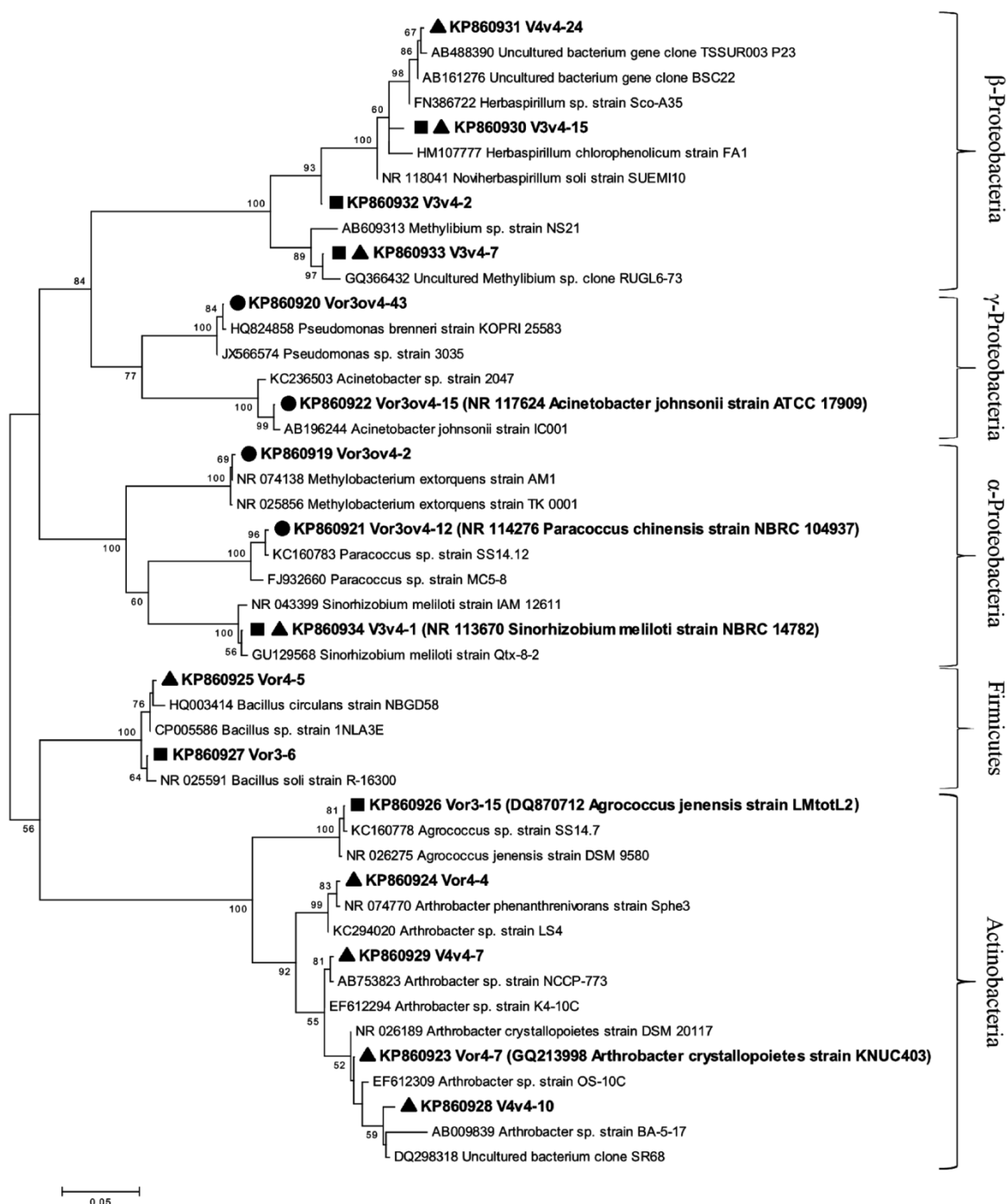


Рисунок 3. Филогенетический анализ последовательностей генов 16S рРНК бактериальных филофитов, выявленных в оригинальном, реактивированном и облученном дозой 100 кГр образцах арктической древней мерзлой осадочной породы (образец М-1/91) методом молекулярного клонирования. Дерево построено методом «maximum likelihood». Для построения дерева использовали наиболее близкие родственные последовательности в GenBank. Количество таксонов - 46. Количество значимых признаков - 536. Количество bootstrap реплик - 500. Значения достоверности ветвления приведены для случаев 50% и выше. Кругами, квадратами и треугольниками отмечены филофиты, обнаруженные в оригинальном, реактивированном и облученном образцах, соответственно. Шкала под деревом - количество филогенетически значимых замен нуклеотидов.

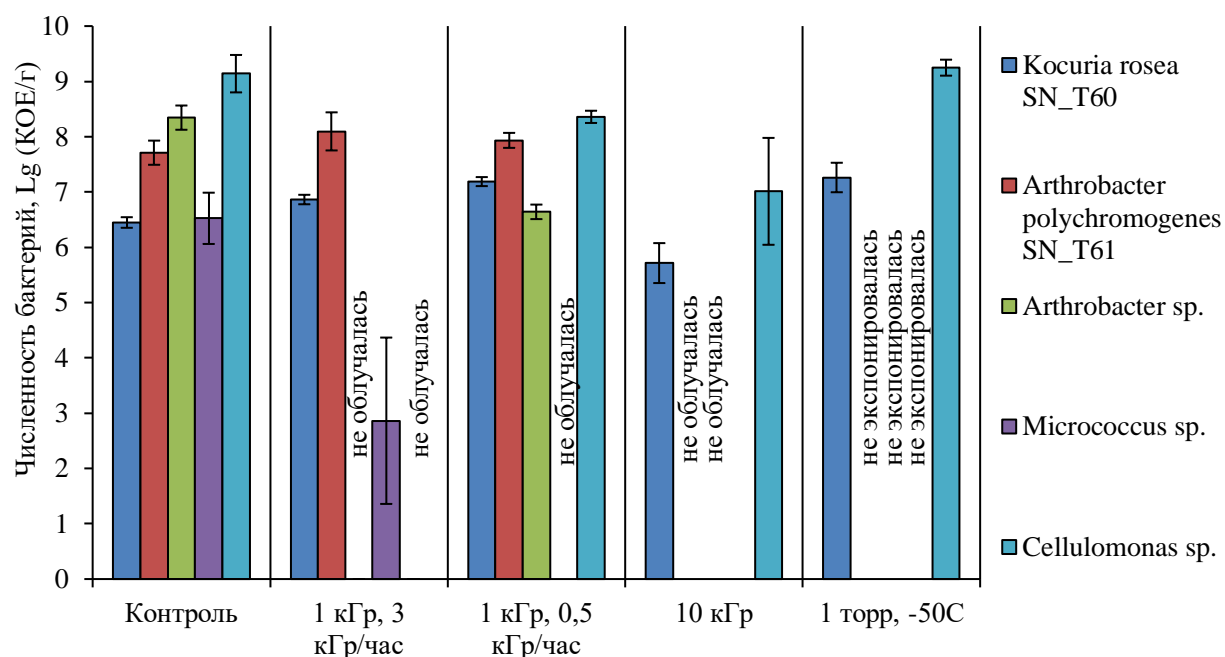


Рисунок 4. Влияние гамма-излучения, температуры и низкого давления на численность культивируемых клеток бактерий. Планки погрешности обозначают доверительный интервал при $p < 0.05$.

Облучение гамма-излучением при нормальном атмосферном давлении и температуре +16°C и +37°C.

В образцах дерново-подзолистой почвы культивируемые бактерии были обнаружены после воздействия дозы 148 кГр, в образцах серозема пустыни Негев – после облучения дозами до 430 кГр включительно. Методом ЭФМ клетки обнаруживались в образцах дерново-подзолистой почвы и серозема, облученных дозами 320 кГр и 692 кГр соответственно. Воздействие гамма-излучения в дозах 148 кГр и выше вызвало резкое снижение численности, потенциальной метаболической активности и функционального разнообразия микробных сообществ. В то же время в облученных дозой 148 кГр образцах обнаружены биомаркеры (липиды), свидетельствующие о сохранении высокого таксономического разнообразия и большого количества микробной биомассы. Микробные сообщества экстремальных местообитаний проявили значительно более высокую радиорезистентность, чем бактерии дерново-подзолистой почвы. Вероятно, это связано с высокой устойчивостью к множественному стрессу микроорганизмов, адаптированных к экстремально ксерофитным местообитаниям. Среди наиболее резистентных штаммов бактерий, выделенных из облученных образцов, обнаружены представители родов *Kocuria*, *Acinetobacter*, *Microbacterium*, *Brevundimonas*, *Sphingomonas*, *Hymenobacter*, *Micrococcus*, *Nocardioides*. Полученные данные подтверждают, что устойчивость почвенных микробных сообществ к воздействию ионизирующей радиации значительно превосходит существующие представления.

С целью изучения постэффектов действия радиации и возможности восстановления облученного сообщества был проведен повторный анализ образца древней мерзлой арктической породы 380-3/92, облученного в 2005 г. дозой гамма-излучения 150 кГр при атмосферном давлении и температуре +25 °С (Свириденко, 2005; Vorobyova et al., 2007). Сразу после облучения в образце наблюдали снижение общей численности клеток прокариот и падение числа культивируемых бактерий, перестройку структуры бактериального сообщества с сохранением доминант, снижение функционального разнообразия и потенциальной метаболической активности. Установлено, что после хранения в течение 8 лет при температуре -18С показатели потенциальной метаболической активности и функционального разнообразия микробного сообщества вернулись к контрольному уровню, при перестройке структуры сообщества таксономическое разнообразие сохранилось и было сравнимо с контролем (рис. 5).

В эксперименте по облучению чистых культур бактерий при температуре +37°С из 10 исследованных штаммов видов *Cryobacterium* sp., *Microbacterium* sp., *Bacillus* sp., *Planomicrobium* sp., *Arthrobacter* sp., *Microvirga* sp., *Microbacterium* sp., *Kocuria rosea*, *Arthrobacter polychromogenes* и *Deinococcus radiodurans* только три (*Bacillus* sp. KBP.AS.347, *Planomicrobium* sp. KBP.AS.301 и *Deinococcus radiodurans* VKM B-1422T) пережили облучение минимальной дозой 4.7 кГр, и только *D. radiodurans* выдержал воздействие более высоких доз до 28 кГр включительно (рис. 6).

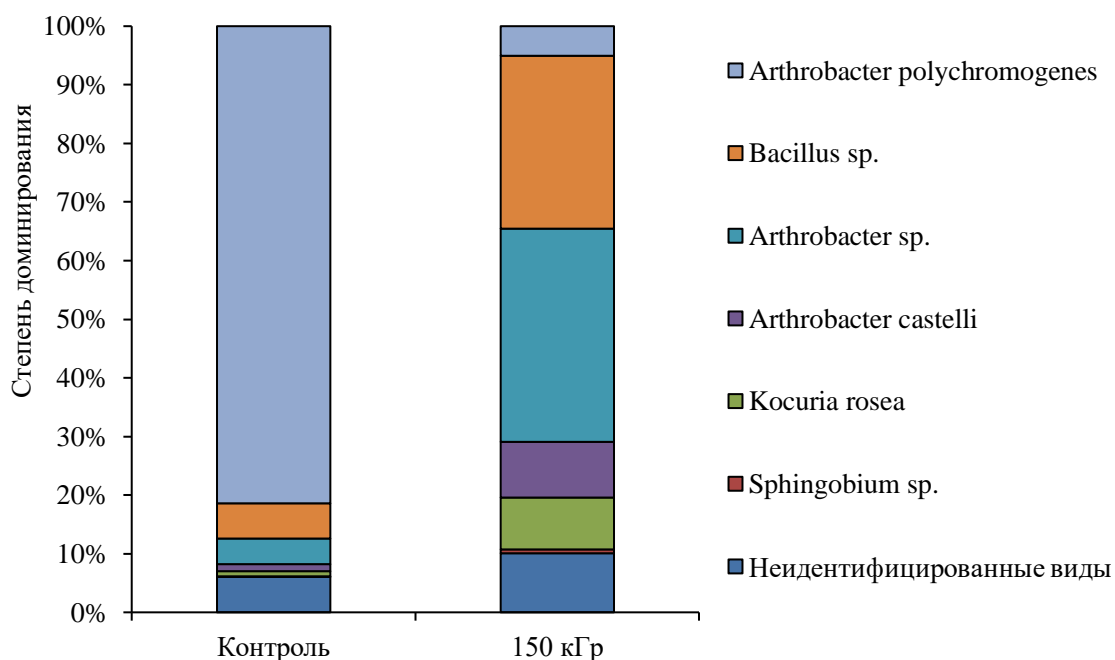


Рисунок 5. Структура культивируемого бактериального сообщества арктической древней мерзлой породы (образец 380-3/92) после облучения дозой гамма-излучения 150 кГр и 8 лет хранения при -18°С.

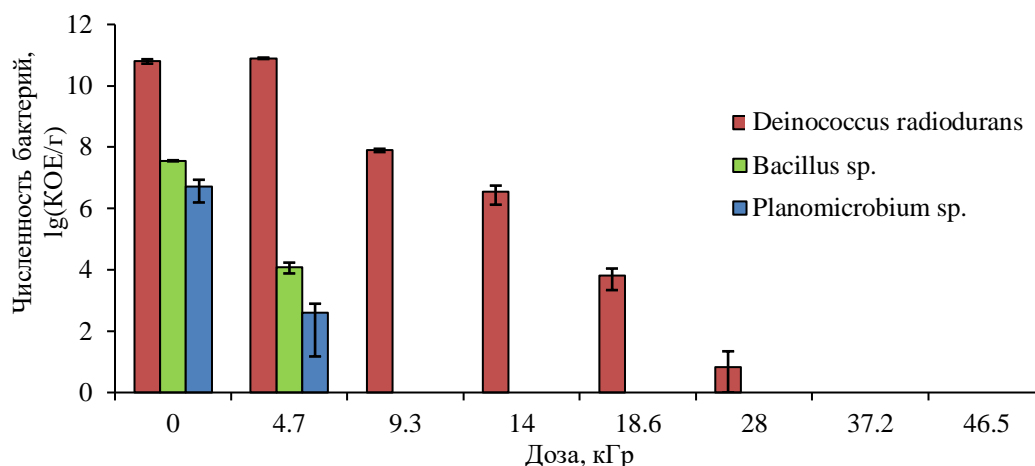


Рисунок 6. Влияние гамма-излучения на число КОЕ чистых культур бактерий. Штаммы, не выдержавшие облучение даже минимальной дозой, не показаны. Планки погрешности обозначают доверительный интервал при $p < 0.05$.

Облучение ускоренными электронами (~1 МэВ) при давлении 0.01 торр и температуре -130°C.

Облучение в дозах 10 кГр и 100 кГр не стерилизовало образцы аридных почв и мерзлых пород. Число культивируемых клеток снижалось на 1-3 порядка, общая численность прокариот, определяемая методом ЭФМ - не более чем на порядок. Облучение даже дозой 10 кГр резко ингибировало потенциальную метаболическую активность микробных сообществ. Воздействие экстремальных факторов существенно повлияло на таксономический состав культивируемых микробных сообществ, однако в целом сохранилось видовое разнообразие, сравнимое с контролем. Из образцов, облученных дозой 100 кГр, выделены представители родов *Arthrobacter*, *Microvirga*, *Pontibacter*, *Rufibacter*, *Spirosoma*, *Brevundimonas*, *Microbacterium* и *Stenotrophomonas*.

При облучении бактерий в чистой культуре ускоренными электронами дозой 10 кГр число живых клеток снижалось на 3-4 порядка. После облучения дозой 100 кГр культивируемых клеток не обнаружено. Чистые культуры продемонстрировали существенно меньшую устойчивость к облучению ускоренными электронами в сравнении с микробными сообществами *in situ*.

Облучение ускоренными электронами привело к большему повреждению микробных сообществ, чем облучение теми же дозами гамма-излучения в сходных условиях. Это выражалось в снижении общей численности прокариот в естественных образцах грунтов, а также в резком угнетении потенциальной метаболической активности. Данный результат подтвержден и на чистых культурах бактерий. Штаммы *Arthrobacter polychromogenes* SN_T61 и *Kocuria rosea* SN_T60 были способны выдерживать облучение гамма-излучением в условиях низкого давления и низкой температуры дозами не менее 10 кГр без существенного снижения численности клеток. Облучение электронами дозой 10 кГр вело к снижению численности на 3-4 порядка. Необходимо исследование эффектов всего

спектра излучений, а также исследование воздействия более высоких доз излучений для более точного прогнозирования длительности сохранения микроорганизмов и биомаркеров на различных объектах Солнечной системы.

Моделирование температурного цикла поверхности Марса и процесса сублимации подповерхностного льда через реголит.

Дефицит доступной для микроорганизмов воды считается одним из основных препятствий для существования гипотетической биосферы на Марсе. Однако показано присутствие большого количества водяного льда под поверхностью реголита. Максимальные летние температуры на поверхности Марса в экваториальных областях поднимаются вплоть до 280–290 К, и при нагреве может происходить достаточно интенсивная сублимация грунтового льда. Водяной пар, диффундируя сквозь грунт, может сорбироваться, что приводит к образованию тонких пленок жидкой воды с температурой выше 273 К. Предполагается, что подобный «влажный» слой реголита может быть пригоден для существования потенциальной марсианской биосферы.

В ходе эксперимента произошло увеличение влажности образца с 1.2% до 7.2%. Увеличения общей численности клеток в ходе эксперимента обнаружено не было, однако наблюдалось повышение потенциальной метаболической активности микробного комплекса и изменения его функционального состояния, свидетельствующие об увеличении стабильности сообщества. Произошла перестройка структуры культивируемого блока микроорганизмов со сменой доминант. Вероятно, в ходе эксперимента произошла сукцессия и формирование бактериального сообщества, более адаптированного к существованию в условиях опыта, что дает основания предполагать возможность периодической активизации потенциально существующей биоты в марсианском реголите.

Экспонирование образцов при давлении 1.4 Па (~0.01 торр) в течение 75 суток.

С целью изучения возможности космического переноса микроорганизмов (транспермия) исследовали длительное воздействие вакуума на естественные микробные сообщества почв и пород и на иммобилизованные на минеральной матрице культуры микроорганизмов

Содержание культивируемых клеток в образцах чистых культур, иммобилизованных на различных аналогах лунного реголита, снизилось менее чем на порядок.

Изменения численности бактерий в образцах почв и пород после экспонирования при низком давлении не наблюдалось. Экспонирование при низком давлении существенно повлияло на метаболическую активность микробных сообществ. Расширился спектр потребляемых субстратов, возросла удельная метаболическая работа и индексы выравненности и разнообразия. Наиболее существенно возросло потребление аминокислот и легкодоступных сахаров. Результаты исследования функциональной

активности сообществ свидетельствуют об активизации метаболических процессов и готовности микроорганизмов *in situ* к адаптивным перестройкам.

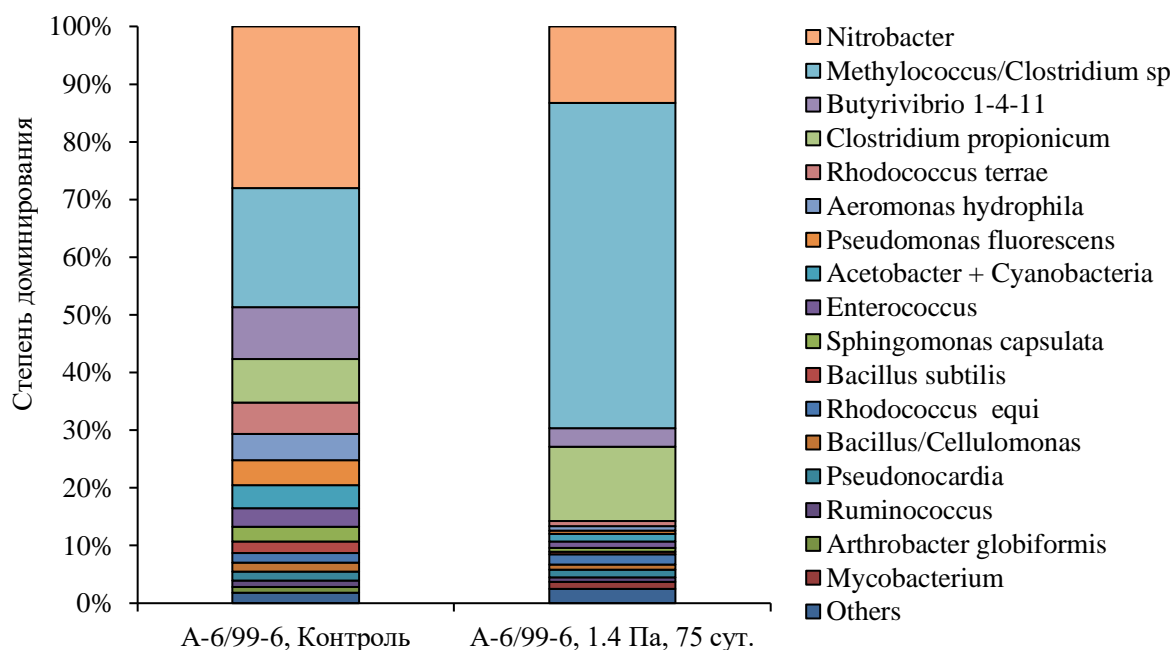


Рисунок 7. Воздействие низкого давления (1.4 Па, 75 сут.) на структуру микробного сообщества антарктической мерзлой осадочной породы (образец А-6/99-6); ГХ-МС липидов.

Разнообразие липидных маркеров, обнаруженных в образце аридной почвы после экспонирования при низком давлении, было идентично таковому в контроле, однако общая концентрация обнаруженных маркеров снизилась в 2.5 раз, и наибольшее снижение наблюдалось для доминантных групп микроорганизмов. В образце мерзлой породы суммарная концентрация всех обнаруженных липидных маркеров бактерий увеличилась более чем в 2 раза после воздействия низкого давления, и это увеличение было обусловлено в основном ростом концентрации липидов, характерных для группы *Methylococcus/Clostridium sp.* (рис. 7). Полученные данные не позволяют однозначно утверждать, что в ходе эксперимента произошло увеличение численности микробных клеток, так как соотношение различных липидов в составе клеточной стенки бактерий может изменяться в ответ на некоторые воздействия (Zhang, Rock, 2008; Mansilla et al., 2004). Однако результаты исследования указывают на сохранение метаболической активности некоторыми микроорганизмами в ходе эксперимента. На сегодняшний день показано, что некоторые бактерии способны расти и размножаться при давлении 700 Па (Schuerger et al., 2013; Nicholson et al., 2013) и 1-10 Па (Pavlov et al., 2010). Подтверждение сохранения метаболической активности микроорганизмами при примененных нами (и, возможно, более низких) значениях атмосферного давления требует дополнительных исследований.

Таким образом, показано, что низкое давление активно воздействует на природные биосистемы, вызывая в них метаболический отклик и адаптивную

реакцию. Предполагается, что при низком давлении минеральная матрица способствует удержанию микроорганизмами достаточного количества воды для осуществления внутренней метаболической работы, направленной не только на устойчивость и поддержание, но и на адаптивное изменение сообществ *in situ*.

Облучение ультрафиолетовым излучением (25 Вт/м², ~15 ч.) при низком давлении (10⁻³ Па).

При исследовании совместного воздействия низкого давления и ультрафиолетового излучения численность культивируемых клеток *Kocuria rosea* SN_T61, иммобилизованных на аналогах марсианского и лунного реголита, практически не изменилась.

В образцах аридной почвы (серозема) и древней мерзлой породы общая численность прокариот *in situ* и численность культивируемых клеток также сохранились на уровне контрольных значений как после экспонирования при низком давлении, так и после совокупного воздействия низкого давления и УФ-излучения. Для микробных сообществ отмечено расширение разнообразия потребляемых субстратов как после воздействия низкого давления, так и после совокупного воздействия вакуума и ультрафиолета. По данным ГХ-МС липидов, облучение при низком давлении привело к гибели некоторых минорных групп микроорганизмов, однако в то же время концентрация маркеров, характерных для некоторых групп микроорганизмов увеличилась после облучения, как в сравнении с контролем, так и относительно воздействия вакуума без облучения. Наиболее существенно увеличились концентрации маркеров родов *Desulfovibrio*, *Carboxydotermus*, *Aeromonas*, *Clostridium*, *Rhodococcus*, а также железоредуцирующих бактерий. После комплексного воздействия УФ-излучения и низкого давления в образцах доминировали анаэробные, факультативно-анаэробные и микроаэрофильные бактерии (рис. 8).

Исследованные микробные сообщества и микроорганизмы продемонстрировали высокую устойчивость к воздействию низкого давления и УФ-излучения в высоких дозах, соответствующих пребыванию на околоземной орбите в течение 67.5 ч (West et al., 2005), на поверхности Марса – в течение 30.5 ч (Rummel et al., 2014), в межзвездном пространстве – около 3 лет (Weber, Greenberg, 1985). Сохранилась высокая численность живых клеток, потенциальная метаболическая активность и биоразнообразие после экстремальных воздействий. Полученные результаты хорошо согласуются с вышеизложенными данными и свидетельствуют о возможности сохранения в минеральной среде метаболической активности некоторыми микроорганизмами при давлении 1.4 Па. Полученные данные убеждают в том, что воздействие УФ-излучения не должно являться фактором, лимитирующим жизнеспособность микробных сообществ в условиях открытого космоса, если микроорганизмы находятся в метеоритах (обломках породы) диаметром >2 мм. Результаты исследования также подтверждают, что слоя реголита толщиной менее 1 мм достаточно для

защиты микроорганизмов от ультрафиолета на поверхности Марса. Важно, что в настоящем эксперименте продемонстрировано выживание не отдельных устойчивых видов микроорганизмов, а широкого спектра прокариот.

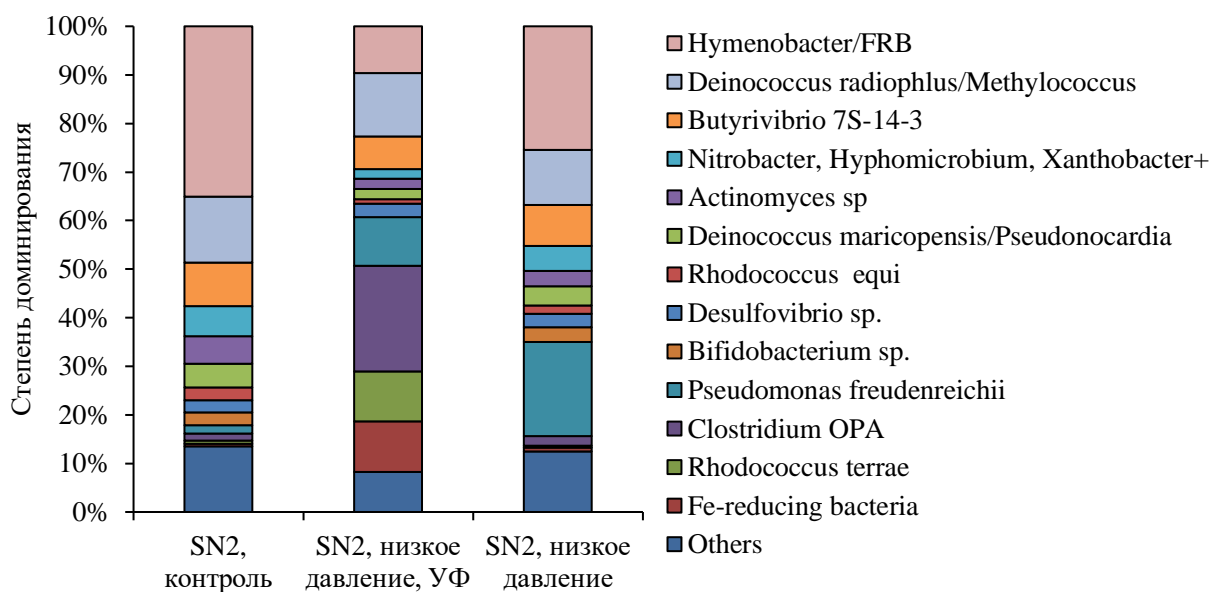


Рисунок 8. Воздействие низкого давления и УФ-излучения на структуру микробного сообщества серозема (образец SN2); ГХ-МС липидов.

Расчет возможной длительности криоконсервации жизнеспособных микроорганизмов на различных телах Солнечной системы.

Основным фактором, ограничивающим сохранение гипотетических микроорганизмов на криогенных телах Солнечной системы (Марс, ледовые спутники Юпитера и Сатурна, метеориты) является ионизирующее излучение (Pavlov et al., 2002; Dartnell et al., 2010). В условиях низких температур микроорганизмы лишены возможности репарации радиационных повреждений, либо восстановительные процессы замедлены и протекают в геологическом масштабе времени, в связи с чем происходит накопление повреждений.

Ориентировочно оценку возможной длительности сохранения микроорганизмов в составе криогенных объектов можно дать на основании известных данных о радиорезистентности земных организмов. Однако, как отмечено выше, необходимо учитывать, что физические условия, в которых происходит воздействие излучения, способны значительно изменять количество радиационных повреждений.

Интенсивность ионизирующего излучения на поверхности современного Марса – около 0.076 Гр/год (Hassler et al., 2014). Доза излучения 1 МГр аккумулируется в поверхностном слое реголита в течение 13 млн. лет. Это позволяет предполагать, что микроорганизмы в современных холодных условиях Марса (при отсутствии возможности активно репарировать радиационные повреждения) способны сохранять жизнеспособность в течение этого срока. На глубине 5 м при интенсивности

излучения около 5 мГр/год доза 1 МГр накапливается в течение 200 млн. лет (Dartnell et al., 2007). Полученные данные также позволяют предполагать сохранение жизнеспособных микроорганизмов во льду Европы в течение не менее 2000 лет на глубине 10 см с учетом данных об интенсивности излучения на этом спутнике Юпитера (Baumstark-Khan, Facius, 2002). Однако в этом случае следует учитывать, что в нашем эксперименте образцы были высушены, в то время как присутствие воды может существенно влиять на радиорезистентность (Baumstark-Khan, Facius, 2002; Halliwell, Gutteridge, 2015). Воздействие ионизирующей радиации также является лимитирующим фактором для панспермии (Baumstark-Khan, Facius, 2002; Mileikowsky et al., 2002). При длительном путешествии метеоритов в космическом пространстве гипотетические микроорганизмы, находящиеся внутри метеоритов, должны аккумулировать высокие дозы излучения. Известно, что большинство марсианских метеоритов достигает Земли после тысяч и миллионов лет полета в открытом космосе (Mileikowsky et al., 2002). Основываясь на интенсивности излучения внутри метеоритов (Baumstark-Khan, Facius, 2002), результаты нашего исследования позволяют предполагать выживание микроорганизмов в течение не менее 4 млн. лет в открытом космосе. Эти данные могут быть применены для оценки вероятности межпланетного транспорта жизни.

Возраст марсианских мерзлых отложений составляет более 3 млрд. лет (Fairén et al., 2010). Это означает, что сохранения жизнеспособности клетками после облучения дозами, накапливающимися в течение первых сотен миллионов лет недостаточно для криоконсервации гипотетической древней биосферы до настоящего времени в жизнеспособном состоянии. При современном уровне ионизирующего излучения криоконсервированные клетки должны аккумулировать дозы около 230 МГр и около 15 МГр в поверхностном слое реголита и на глубине 5 м, соответственно. Вероятно, что ранний Марс имел плотную атмосферу, которая могла защищать клетки от космической радиации (Dartnell et al., 2007). Хотя величину атмосферного давления на раннем Марсе и скорость потери атмосферы сложно оценить, марсианская атмосфера могла защищать гипотетическую биосферу в течение длительного времени. Кроме того, необходимо отметить, что исследованные нами дозы излучения не были стерилизующими, и стерилизующие дозы могут быть существенно выше. Несмотря на это, криоконсервация гипотетической древней биосферы в жизнеспособном состоянии в течение 3 млрд. лет при отсутствии размножения и метаболизма клеток (т.е. без восстановления радиационных повреждений) представляется маловероятной. Однако есть ряд свидетельств существования более мягкого климата и наличия жидкой воды в недавнем прошлом Марса – сотни тысяч и несколько миллионов лет назад (Murray et al., 2005; Mustard et al., 2001; Madeleine et al., 2014; Johnsson et al., 2014). Микроорганизмы должны выживать в мерзлоте такого возраста даже на небольших глубинах.

Приведенные выше расчеты не учитывают возможности восстановления повреждений клетками при низких температурах. Известно, что микроорганизмы способны размножаться при температурах до $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ и сохраняют метаболическую активность при $-33\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Rummel et al., 2014; Dieser et al., 2013). Принимая во внимание эти данные, можно предполагать еще более долгую криоконсервацию живых клеток. В некоторых регионах Марса возможно повышение температур выше $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ и образование жидкой воды (Rummel et al., 2014; Martín-Torres et al., 2015; Jones, 2018; Jones et al., 2011; Pavlov et al., 2010). В этом случае возможна быстрая репарация повреждений и репродукция клеток с последующим сохранением в покое состоянии до наступления следующего периода с благоприятными условиями (Westall et al., 2013). На сегодняшний день показано, что микроорганизмы способны расти в условиях низкого давления и низкой температуры в бескислородной атмосфере (Nicholson et al., 2013), хорошо выдерживают воздействие солей и сильных окислителей (Nicholson et al., 2012; Beblo-Vranesevic et al., 2017a; 2017b; Al Soudi et al., 2017), выживают в холодных рассолах (Nuding et al., 2017; Heinz et al., 2018). Если подходящие условия для микробного роста и размножения создаются чаще, чем каждые 200 млн. лет, длительность сохранения живых клеток в реголите Марса может быть практически неограниченной.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Принято считать, что микроорганизмы, за исключением некоторых резистентных видов, неустойчивы к воздействию ряда таких экстремальных факторов, как ионизирующее излучение, УФ-излучение, низкое давление. Однако исследования последних лет пополняют список устойчивых видов. При этом до сих пор остаются невыясненными пределы устойчивости естественных микробных сообществ, но становится очевидно, что природная среда обладает протекторными свойствами по отношению к населяющим ее микроорганизмам.

В настоящей работе исследовано воздействие различных видов ионизирующей радиации, низких температур, низкого давления и ультрафиолетового излучения на естественные сообщества микроорганизмов, населяющих экстремальные, но различные по физико-химическим условиям местообитания. Установлено, что во всех исследованных экотопах реакция микробных сообществ на облучение ионизирующей радиацией сходна: часть популяций переходит в некультивируемое (возможно, покоящееся) состояние, другие, напротив, активизируются. Следствием этих процессов является перестройка таксономической структуры сообществ. При этом, как правило, происходит некоторое угнетение отдельных доминантных и субдоминантных популяций, что создает условия для роста минорных видов. Однако в целом структура сообществ и их биоразнообразие сохранялись. Наибольшую устойчивость и активность проявили бактерии родов *Deinococcus*, *Methylococcus*, *Clostridium*

и *Arthrobacter*. В работе показано, что после экстремальных нагрузок микробные сообщества сохранили высокое функциональное разнообразие и метаболическую активность.

Показано, что устойчивость микробных сообществ к воздействию гамма-излучения существенно повышается в условиях низкого давления и низкой температуры. В частности, облучение дозой 1 МГр в условиях низкого давления и низкой температуры не снижало общей численности прокариот в образцах, в то время как облучение дозой 148 кГр в нормальных условиях снижало численность клеток на порядок. Сравнение стерилизующих доз не представляется возможным, так как максимальная доза, примененная в условиях низкого давления и низкой температуры (1 МГр) оказалась недостаточной для стерилизации.

Воздействие ускоренных электронов имело больший ингибирующий эффект, чем гамма-облучение теми же дозами, что выражалось в резком угнетении потенциальной метаболической активности микробных сообществ и снижении численности прокариот *in situ*.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что радиорезистентность природных микробных сообществ существенно недооценена. Показано, что устойчивость микроорганизмов в естественной гетерогенной органоминеральной среде значительно превосходит устойчивость в чистой культуре, что может быть связано как с взаимодействием клетки с окружающей ее органоминеральной средой, так и с внутри- и межпопуляционными взаимодействиями.

В исследовании показано, что природные микробные сообщества способны сохранять высокую численность живых клеток, потенциальную метаболическую активность и биоразнообразие при длительном воздействии низких давлений, в том числе, в сочетании с облучением ультрафиолетом. Предполагается возможность сохранения метаболической активности *in situ* некоторыми микробными популяциями при давлении 1.4 Па. Показано, что слоя реголита толщиной 1 мм достаточно для защиты гипотетических микробных сообществ от УФ-излучения на поверхности Марса. При транспорте микроорганизмов в открытом космосе в составе метеоритов (обломков пород) диаметром более 2 мм воздействие УФ-излучения не должно лимитировать длительность сохранения жизнеспособности микроорганизмами.

Экстраполяция доз ионизирующего излучения, примененных в эксперименте, на интенсивность излучения в поверхностном слое марсианского реголита и в открытом космосе позволяет предполагать возможность сохранения потенциальных внеземных микробных сообществ в анабиотическом состоянии в течение не менее 13 млн. лет в поверхностном слое реголита Марса, в течение 200 млн. лет на глубине 5 м и в течение не менее 4 млн. лет в космических условиях в составе метеоритов. Такой результат дает экспериментально подтвержденные основания для расширенного анализа гипотезы транспермии (длительное путешествие

метеоритов, несущих жизнь, в пределах Солнечной системы), а также более оптимистичного анализа потенциального существования биосфер на целом ряде объектов Солнечной системы. Настоящее исследование расширяет существующие представления о пределах устойчивости биосистем и подтверждает важность роли естественной среды для обеспечения выживания микроорганизмов при экстремальных нагрузках. Следует отметить, что большинство экстремальных воздействий, изученных в ходе исследования, не привели к стерилизации образцов, и выяснение пределов устойчивости микробных сообществ является следующим этапом работы.

Результаты исследования могут быть применены при планировании астробиологических миссий (выбор мест высадки посадочных модулей), при разработке приборов для автоматических космических аппаратов и для развития карантинных мер в планетных исследованиях с учетом диапазона устойчивости микробных сообществ земного типа к экстремальным воздействиям. Выделенные штаммы устойчивых бактерий перспективны для биотехнологических исследований.

ВЫВОДЫ

1) Впервые показано, что естественные микробные сообщества экстремальных местообитаний Земли способны выдерживать воздействие ионизирующей радиации в сверхвысоких дозах при нормальных условиях – не менее 430 кГр, а в условиях низкого давления и низкой температуры – не менее 1 МГр, что существенно превосходит современные представления о радиорезистентности микроорганизмов. При воздействии экстремальных факторов сохраняется высокая численность жизнеспособных клеток, метаболическая активность и высокое биоразнообразие при частичной перестройке таксономической структуры сообществ и переходе части микробных популяций в некультивируемое состояние. Наибольшую устойчивость и активность *in situ* проявили бактерии родов *Deinococcus*, *Methylococcus*, *Clostridium* и *Arthrobacter*;

2) Показано, что бактерии имеют значительно более высокую радиорезистентность *in situ* в естественной среде обитания по сравнению с их устойчивостью в чистой культуре. При облучении в естественной среде в условиях низкого давления и низкой температуры радиорезистентность повышается более чем в 20 раз в сравнении с облучением в чистой культуре при нормальных условиях. Благодаря протекторным свойствам природной среды и внутри- и межпопуляционным взаимодействиям даже радиочувствительные микроорганизмы, находясь в составе природных микробных сообществ, способны выдерживать воздействие очень высоких доз ионизирующей радиации;

3) Впервые показано, что природные микробные сообщества без существенных потерь выдерживают воздействие ионизирующего излучения в сочетании с низкими температурами и низким давлением в дозах, обеспечивающих потенциальную возможность выживания экосистем

земного типа в поверхностном слое марсианского реголита (защищенном от УФ-излучения) в течение не менее 13 млн. лет и в течение не менее 200 млн. лет на глубине 5 м, в открытом космосе в составе метеоритов в течение не менее 4 млн. лет, во льду Европы на глубине 10 см в течение не менее ~ 2 тыс. лет;

4) Природные микробные сообщества *in situ* способны сохранять высокую численность живых клеток, потенциальную метаболическую активность и биоразнообразие при длительном воздействии низких давлений, в том числе в сочетании с облучением ультрафиолетом. Предполагается сохранение метаболической активности *in situ* некоторыми микробными популяциями при давлении 1.4 Па;

5) Показано, что слоя реголита толщиной 1 мм достаточно для защиты гипотетических микробных сообществ от УФ-излучения на поверхности Марса. При транспорте микроорганизмов в открытом космосе в составе метеоритов (обломков пород) диаметром более 2 мм должна обеспечиваться достаточная защита микробных клеток от ультрафиолета, то есть воздействие УФ-излучения не должно лимитировать длительность сохранения жизнеспособности микроорганизмами;

6) Сублимация подповерхностного льда может являться источником жидкой воды и обеспечивать возможность функционирования сообществ земного типа в верхнем слое марсианского реголита.

7) Более 300 штаммов бактерий, выделенных из экстремальных местообитаний и/или после экстремальных воздействий, депонированы в Астробиологическую коллекцию микроорганизмов факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова и доступны для дальнейшего изучения.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

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

1) **Cheptsov V. S.**, Vorobyova E.A., Manucharova N.A., Gorlenko M.V., Pavlov A.K., Vdovina M.A., Lomasov V.N., Bulat S.A. 100 kGy gamma-affected microbial communities within the ancient arctic permafrost under simulated Martian conditions // *Extremophiles*. — 2017. — Vol. 21, no. 6. — P. 1057–1067. DOI: 10.1007/s00792-017-0966-7. IF WoS – 2.046.

2) **Cheptsov V.**, Vorobyova E., Belov A., Pavlov A., Tsurkov D., Lomasov V., Bulat S. Survivability of soil and permafrost microbial communities after irradiation with accelerated electrons under simulated Martian and open space conditions // *Geosciences*. — 2018. — Vol. 8, no. 8. — P. 298. DOI: 10.3390/geosciences8080298. CiteScore Scopus – 1.82.

3) **Cheptsov V.S.**, Vorobyova E.A., Osipov G.A., Manucharova N.A., Polyanskaya L.M., Gorlenko M.V., Pavlov A.K., Rosanova M.S., Lomasov V.N. Microbial activity in martian analog soils after ionizing radiation: implications for the preservation of subsurface life on mars // *AIMS Microbiology*. — 2018. — Vol. 4, no. 3. — P. 541–562. DOI: 10.3934/microbiol.2018.3.541. IF WoS – N/A.

- 4) **Cheptsov V.S.**, Vorobyova E.A., Gorlenko M.V., Manucharova N.A., Pavlov A.K., Lomasov V.N. Effect of gamma radiation on viability of a soil microbial community under conditions of Mars // *Paleontological Journal*. — 2018. — Vol. 52, no. 10. — P. 118–124. DOI: 10.1134/S0031030118100088. IF WoS – 0.716.
- 5) Vorobyova E.A., **Cheptsov V.S.**, Osipov G.A., Kotsyurbenko O.R., Soina, V.S. Gamma-IR resistance of bacteria in soil and permafrost // *Paleontological Journal*. — 2018. — Vol. 52, no. 10. — P. 1204–1216. DOI: 10.1134/S0031030118100167. IF WoS – 0.716.
- 6) Pavlov A., **Cheptsov V.**, Tsurkov D., Lomasov V., Frolov D., Vasiliev G. Survival of radioresistant bacteria on Europa's surface after pulse ejection of subsurface ocean water // *Geosciences*. — 2019. — Vol. 9, no. 1. — P. 9. DOI: 10.3390/geosciences9010009. CiteScore Scopus – 1.82
- 7) **Cheptsov V.**, Belov A., Vorobyova E., Osipov G., Bulat S. Viability of the soddy–podzolic soil microbial community after 148–1250 kGy gamma irradiation // *Planetary and Space Science*. — 2019. — Vol. 172. — P. 8–13. DOI: 10.1016/j.pss.2019.04.008. IF WoS – 1.815.
- 8) Воробьева Е.А., Белов А.А., **Чепцов В.С.**, Соина В.С., Крючкова М.О., Караевская Е.С., Иванова А.Е. Устойчивость микроорганизмов экстремальных ксерофитных экотопов к воздействию инактивирующих факторов // *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. — 2018. — № 4. — С. 111–127. DOI: 10.26897/0021-342X-2018-4-111-127. ИФ РИНЦ – 0.514.
- 9) Григорьев А.В., Воробьева Е.А., **Чепцов В.С.** Применение НПВО-спектроскопии в астробиологических исследованиях на планетных посадочных аппаратах // *Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение*. — 2017. — № 3. — С. 51–56. DOI: 10.3103/S0147687417030048. ИФ РИНЦ – 0.415.
- 10) **Чепцов В.С.**, Воробьева Е.А., Полянская Л.М., Горленко М.В., Павлов А.К., Ломасов В.Н. Устойчивость микробных экосистем экстремальных местообитаний к комплексному воздействию физических факторов реголита Марса // *Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение*. — 2018. — № 3. — С. 30–35. DOI: 10.3103/S0147687418030043. ИФ РИНЦ – 0.415.

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

- 11) **Чепцов В.С.**, Воробьева Е.А., Горленко М.В., Манучарова Н.А., Павлов А. К., Вдовина М. А., Ломасов В.Н., Звягинцев Д. Г. Воздействие гамма-излучения, низкого давления и низкой температуры на жизнеспособность микробного сообщества серозема как аналитическая модель марсианского реголита // *Современные проблемы науки и образования*. — 2015. — № 3. ИФ РИНЦ – 0.351.
- 12) **Чепцов В.С.**, Воробьева Е.А., Тамбиев А.Х., Павлов А.К., Вдовина М.А., Ломасов В.Н., Звягинцев Д.Г. Влияние гамма-излучения, низкого давления и низкой температуры на активность каталазы и реакционную способность экзометаболитов *Kocuria rosea* и *Arthrobacter polychromogenes* // *Современные проблемы науки и образования*. — 2016. — № 5. ИФ РИНЦ – 0.351.

Некоторые из публикаций в прочих научных изданиях:

13) **Чепцов В.С.**, Воробьева Е.А. Устойчивость сообществ земных микроорганизмов к воздействию физических условий подповерхностных слоев реголита Марса // Жизнь и Вселенная / Под ред. В. Н. Обридко, М. В. Рагульская. — Санкт-Петербург: ВВМ, 2017. — С. 273–282.

14) **Чепцов В.С.**, Воробьева Е.А., Горленко М.В., Манучарова Н.А., Павлов А.К., Ломасов В.Н. Устойчивость почвенного микробного сообщества к воздействию физических факторов поверхностного слоя марсианского реголита // Микробные сообщества в эволюции биосферы. — Гео-биологические системы в прошлом. — М: ПИН РАН, 2017. — С. 181–193.

15) Solovyova O.A., **Cheptsov V.S.**, Vorobyova E.A., Gorlenko M.V., Polyanskaya L.M., Lpygina E.V., Pavlov A.K., Vdovina M.A., Lomasov V.N. Survival of soil and permafrost microbial communities in simulated space and martian conditions // 13th European Workshop on Astrobiology - EANA'13. — Vol. 22. — Szczecin, Poland, 2013. — P. 67–68.

16) Vorobyova E.A., **Cheptsov V.S.**, Pavlov A.K., Vdovina M.A., Lomasov V.N. The viability of native microbial communities in Martian environment (model) // 40th Scientific Assembly, COSPAR, Moscow, 2014: Book of abstracts. — Life Sciences as Related to Space (F) Life in Extreme Environments - Model Systems for Astrobiology (F3.3). — Moscow, 2014.

17) Vorobyova E.A., **Cheptsov V.S.**, Pavlov A.K., Vdovina M.A., Gorlenko M.V., Lpygina E.V., Lomasov V.N. Subsurface ice sublimation - the source of water in regolith of Mars available to microorganisms // Book of Abstracts of 10th International Congress on Extremophiles - EXTREMOPHILES 2014. — Saint Petersburg, 2014.

18) **Cheptsov V.S.**, Vorobyova E.A., Osipov G.A., Gorlenko M.V., Shashkova I.A., Kuznetsov I.A., Zakharov A.V., Dolnikov G.G. Long-term impact of low pressure on bacterial biodiversity and activity in soil and sediments // The Sixth Moscow Solar System Symposium. — Space Research Institute, Moscow, 2015. — P. 235–ab.

19) **Cheptsov V.S.**, Vorobyova E.A., Pavlov A.K., Bulat S.A., Kotsyurbenko O.R., Conrad R., Osipov G.A., Gorlenko M.V., Lomasov V.N. Duration of microorganisms survival in cryopreserved state in Martian regolith // EANA 2017 European Astrobiology Network Association. — Denmark, 2017. — P. 86–86.

20) **Cheptsov V.S.**, Vorobyova E.A., Pavlov A.K., Kotsyurbenko O.R., Conrad R., Osipov G.A., Gorlenko M.V., Nacke H., Klimina K.M., Daniel R., Lomasov V.N. Viability of the soil and permafrost microbial communities after irradiation with gamma radiation and accelerated electrons under simulated Martian and open space conditions // EANA 2018 European Astrobiology Network Association. — Berlin, 2018. — P. 165–165.