

БИОХИМИЯ, ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

BIOCHEMISTRY, GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY

DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-6-994

EDN: FQUSQS

УДК 579.017.7



Научная статья

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МАТРИКСА БИОПЛЕНКИ *BACILLUS SUBTILIS* В СТАЦИОНАРНОЙ ФАЗЕ

*С.А. Петров, В.А. Мальчевский, А.М. Субботин,
А.С. Бажин, М.В. Нарушко*

Аннотация

Обоснование. Эколого-географические условия места обитания микроорганизмов (МО) могут влиять на ультраструктурную организацию матрикса их биопленки и накопление в ней различных биологических активных соединений. Знание подобной организации у арктических палеобактерий крайне важно для изучения, основанных на сложных генетических программах, механизмов биосинтеза и дисперсии образуемых ими биопленок.

Цель. Продемонстрировать возможности и показать основные технические достижения трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) в области изучения матрикса биопленки палеобактерии рода *Bacillus* sp. штамма В1М выделенного из обводненных дисперсных пород, перешедших в мерзлое состояние.

Материалы и методы. Объект исследования – МО рода *Bacillus* выделенный из обводненных дисперсных пород, перешедших в мерзлое состояние и задепонированный в DDBJ/EMBL/GeneBank (№ AB178889, идентификационный № 20040510203204.24251). Исследования ультраструктур клеток выполняли анализируя их ультратонкие срезы. Визуализация ультратонких

клеточных срезов осуществлялась на трансмиссионном электронном микроскопе JEM-1011 (“JEOL”, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ. Значения кортизолподобного стероида, серотонинподобного и дофаминподобного пептидов определяли при помощи технологии ИФА. Статистический анализ данных производился посредством использования программ «IBM SPSS Statistics 21» и Microsoft Excel.

Результаты. Выявлено, что структурная гетерогенность характерна для организации матрикса биопленки палеобактерий рода *Bacillus*. На клеточных срезах отмечаются контактирующие между собой образования, в виде длинных туннельных нанотрубок с внутренним каналом. Поверхность МО покрыта многочисленными цитоплазматическими микроворсинками. Установлено, что клеточная стенка относительно проницаема. Вокруг бактериальных клеток имеется множество круглых везикул, окруженных мембранами. МО активно продуцируют кортизолподобный стероид, серотонинподобный и дофаминподобный пептиды.

Заключение. Применение ТЭМ позволило выявить и проанализировать ультраструктурную организацию матрикса биопленки *Bacillus* sp. штамма В1М выделенного из обводненных дисперсных пород, перешедших в мерзлое состояние.

Ключевые слова: палеобактерии; ультраструктурная организация; матрикс биопленки; *Bacillus* sp.; трансмиссионная электронная микроскопия

Для цитирования. Петров С.А., Мальчевский В.А., Субботин А.М., Бажин А.С., Нарушко М.В. Ультраструктурная организация матрикса биопленки *Bacillus subtilis* в стационарной фазе // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. 2024. Т. 16, №6. С. 179-201. DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-6-994

Original article

ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION OF THE *BACILLUS SUBTILIS* BIOFILM MATRIX IN THE STATIONARY PHASE

*S.A. Petrov, V.A. Malchevskiy, A.M. Subbotin,
A.S. Bazhin, M.V. Narushko*

Abstract

Background. The ecological and geographical conditions of microorganisms (MO) can influence the ultrastructural organisation of their biofilm matrix and the accumulation of various bioactive compounds in it. Knowledge of such organisa-

tion in Arctic paleobacteria is extremely important for studying the mechanisms of biosynthesis and dispersion of biofilms formed by them, based on complex genetic programmes.

Purpose. Demonstrate the possibilities and show the main technical achievements of electron microscopy in the field of studying the biofilm matrix of palaeobacterium *Bacillus* sp. strain B1M isolated from waterlogged dispersed rocks that have passed into the frozen state.

Materials and methods. The object of the study was an MO of the genus *Bacillus* sp. isolated from water-wet dispersed rocks that had been frozen and deposited in DDBJ/EMBL/GeneBank (No. AB178889, identification No. 20040510203204.24251). Studies of cell ultrastructures were performed by analysing their ultrathin sections. Visualisation of ultrathin cell slices was carried out on electron microscope JEM-1011 ('JEOL', Japan) at accelerating voltage 80 kV. The values of cortisol-like steroid, serotonin-like and dopamine-like peptides were determined using ELISA technology. Statistical analysis of data was performed by using 'IBM SPSS Statistics 21' and Microsoft Excel programmes.

Results. It was revealed that structural heterogeneity is characteristic for the biofilm matrix organisation of *Bacillus* paleobacteria. On cell slices there are contacting formations in the form of long tunnelling nanotubes with an internal channel. The MO surface is covered with numerous cytoplasmic microvilli. The cell wall was found to be relatively permeable. There are numerous round vesicles surrounded by membranes around the bacterial cells. MOs actively produce cortisol-like steroid, serotonin-like and dopamine-like peptides.

Conclusion. The use of transmission electron microscopy (TEM) allowed us to identify and analyse the ultrastructural organisation of the matrix of *Bacillus* sp. strain B1M biofilm isolated from waterlogged dispersed rocks that have been frozen.

Keywords: paleobacteria; ultrastructural organisation; biofilm matrix; *Bacillus* sp.; transmission electron microscopy

For citation. Petrov S.A., Malchevskiy V.A., Subbotin A.M., Bazhin A.S., Narushko M.V. Ultrastructural Organization of the *Bacillus subtilis* Biofilm Matrix in the Stationary Phase. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, 2024, vol. 16, no. 6, pp. 179-201. DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-6-994

Введение

На протяжении десятилетий бактерии рассматривались как «хранилище» ферментов, лишённое органелл и значительных субклеточных структур. Это резко контрастировало с эукариотами, у которых внутриклеточная компартментализация была известна давно. Развитие технологий транс-

миссионной электронной микроскопии (ТЭМ) позволило доказать, что это не так. Было выявлено, что бактерии очень высокоорганизованы, а большинство их макромолекулярных компонентов имеет специфическое субклеточное расположение, которое может меняться в зависимости от физиологического состояния клетки [7; 22; 30]. Доказано, что многие процессы в бактериях управляются белками цитоскелета, которые полимеризованы в разнообразные суперструктуры [27]. Клеточные суперструктуры могут соединять отдельные белки, макромолекулярные сборки и даже две соседние клетки. Они выстраиваются с целью создать условия для деления клеток, сегрегации ДНК и обеспечения клеточной подвижности. Но, например до сих пор неясно с какой целью до начала споруляции в стационарной фазе цепочки *B. subtilis* разделяются на отдельные клетки и перестают делиться симметрично, а также какие структурные изменения это обеспечивают [12]. Изучение динамики процессов трансформации клеточных ультраструктур *in vivo* при различных функциональных состояниях клетки, возможно лишь при их визуализации в 3D макромолекулярном разрешении.

Развитие клеточной биологии в 20 веке обусловило большую потребность в получении изображений, с большим увеличением, позволяющих визуализировать ультраструктуры клеток, недоступных для световой микроскопии. Эта проблема была отчасти решена разработкой в 1931 г. технологии ТЭМ, которая стала технологическим прорывом в данном направлении. Технология ТЭМ основана на использовании ускоренных электронов в качестве источника освещения, что позволило исследовать более плотные объекты и улучшить увеличение ячеистых объектов более чем в 10^6 раз. Для предотвращения рассеяния электронов траекторию пучка внутри ТЭМ необходимо поддерживать только в условиях вакуума. Однако это создает проблему для визуализации биологических образцов, поскольку в таких условиях их внутриклеточная водная среда мгновенно испаряется. Для решения данной проблемы в 1950-х годах была разработана технология химической консервации биологических образцов для ТЭМ, которая основывается на их фиксации, обезвоживании, секционировании и окрашивании. Она делает пригодными биологические образцы для визуализации с помощью ТЭМ [11].

К сожалению, многочисленные манипуляции с биологическим образцом при подготовке к проведению ТЭМ могут привести к значительным изменениям и даже потере клеточной ультраструктуры. Необходимость визуально эффективно анализировать клетки в их естественном состоя-

нии, для специалистов занимающихся вопросами разработки технологических решений является драйвером, как по совершенствованию методов подготовки биологических образцов для визуализации, так самой технологии ТЭМ.

Возможности сочетания передовых технологических приемов визуализации с биохимическими и молекулярно-биологическими технологиями изучения открывают новые перспективные направления исследований в области физиологии и эволюции бактерий. Аппаратное обеспечение для обработки и анализа полученных изображений, программное обеспечение для автоматизации сбора изображений, а также инструменты машинного обучения создают новые возможности для визуализации биологических образцов при помощи ТЭМ. Но, целый ряд задач стоящих перед специалистами занимающимися проблемой визуализации биологических образцов при помощи ТЭМ, например, такая как проведение исследований в криогенных условиях, до сих пор остаются не решенными [24].

Согласно современной научной концепции социомикробиологии, популяции МО являются аналогом многоклеточного организма. МО в них реализуют свою способность различным формам коллективных действий (социальное поведение), обмену информацией (коммуникация), формированию ассоциаций из многих индивидов (биосоциальные системы) [29]. На сегодняшний день, считается, что биопленки – самая распространенная в природе форма биосоциальных структур МО. Они представляют собой ассоциации МО располагающиеся на органических и не органических поверхностях [15]. Считается, что координация поведения МО в составе микробных биосоциальных систем осуществляется за счет разных типов межклеточной коммуникации. Реализуется она посредством применения контактных, физических и химических взаимодействий, из которых наиболее изучены последние проходящие с участием сигнальных молекул [4; 5].

Учитывая современные реалии динамики климата на планете, важность изучения биосферных процессов в арктических широтах приобретает большую актуальность. Разработанная климатическая модель дает основание предполагать, что в среднем на планете потепление в XXI в. составит от 1,1 до 2,9°C [3]. В арктических широтах данный процесс протекает в несколько раз интенсивнее. Поэтому высоко активная деградация обводненных дисперсных пород, перешедших в мерзлое состояние процесс неизбежный. Они являются местом проживания и средой жизнедеятельности многочисленных видов микроорганизмов (МО), в

том числе и уникальных палеобактерий живущих в их глубине [2; 6; 14]. Деградация обводненных дисперсных пород, перешедших в мерзлое состояние в первую очередь по берегам водных объектов будет способствовать быстрому распространению жизнеспособных палеобактерий живших в их глубине в окружающую среду, а наши знания о них пока фрагментарны.

В связи с выше изложенным, актуальность демонстрации возможностей и основных технических достижений ТЭМ в области изучения матрикса биопленки палеобактерии рода *Bacillus sp. штамм В1М* выделенного из обводненных дисперсных пород, перешедших в мерзлое состояние несомнена.

Цель исследования – продемонстрировать возможности и показать основные технические достижения ТЭМ в области изучения матрикса биопленки палеобактерии рода *Bacillus sp. штамм В1М* выделенного из обводненных дисперсных пород, перешедших в мерзлое состояние.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлись жизнеспособные МО из обнажений древних обводненных дисперсных пород, перешедших в мерзлое состояние на Мамонтовой горе, на левом берегу Алдана в Центральной Якутии. Образцы, возрастом 3–3,5 млн. лет отбирались на 0,9–1 м глубже слоя сезонного оттаивания. Пробы мерзлых пород отбирали максимально стерильно для полевых условий. В отобранных образцах был выявлен слабоподвижный грамположительный МО, способный как к аэробному, так и анаэробному росту. Оптимальной температурой для его роста является +37°C. При визуализации при помощи микроскопических технологий было отмечено, что внешне МО имеет большую (1–1,5; 3–6 микрон) палочкообразную форму. В биопленке он обладает способностью соединяется в цепочки. При неблагоприятных внешних условиях может споры.

МО принадлежит роду *Bacillus*. Нуклеотидная последовательность 16S *rRNA* обнаруженной бактерии была депонирована в DDBJ/EMBL/ GeneBank (№ AB178889, идентификационный № 20040510203204.24251). Проведенный анализ показал, что это новый вид МО, ранее не известный науке (рис. 1).

У выявленной бактерии наибольшее видовое подобие отмечено с *Bacillus simplex*, *B. macroides*, гомология с 16S *rRNA* которых составляет 96–97 %. (Брушков с соавт., 2008). В качестве рабочего варианта ему было дано название *Bacillus sp. штамм В1М*.

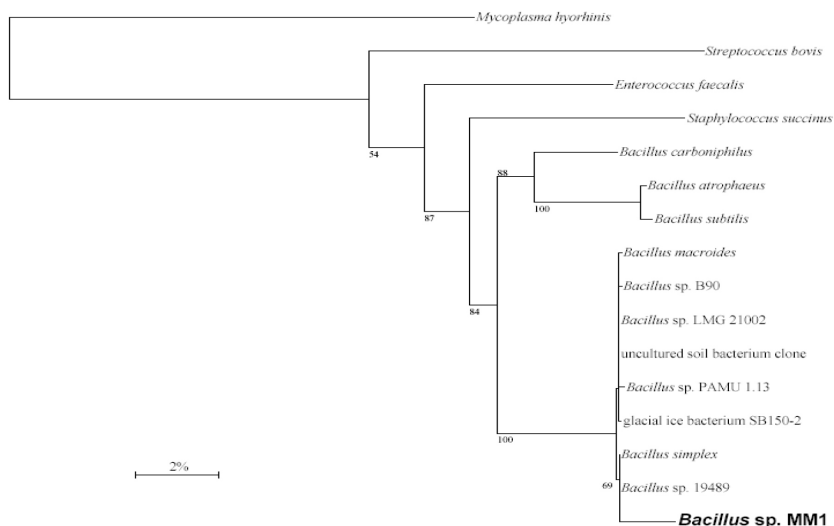


Рис. 1. Филогенетическое положение штамма на основе анализа нуклеотидной последовательности гена *16S rRNA* с применением метода присоединения ближайших соседей.

Определены основные биохимические характеристики штамма: Грамм (+) палочки, рост в аэробных и анаэробных условиях (+), температурный интервал роста +20+45°C, каталаза (+), гемолиз (+), арабиноза (-), ксилоза (-), лецитиназа (-), крахмал (+), уреазы (+), глюкоза (+), лактоза (+), сахароза (+), восстановление метиленового синего (+), восстановление нитратов (+), реакция VP (-), разжижение желатина (+). Исследование устойчивости к физическим факторам показало, что *Bacillus sp. штамм BIM* выдерживает кипячение на водяной бане в течение 4,5 часов и 15 циклов «замораживание-оттаивание» при температуре -180°C в жидком азоте. При переносе культуры с питательной среды в физиологический раствор через 3 часа 90% микроорганизмов переходят в состояние спор.

Нами методом получения ультратонких срезов клеток была изучена ультраструктурная организация матрикса биопленки МО обводненных дисперсных пород, перешедших в мерзлое состояние грамм (+) *Bacillus sp. штамм BIM*, выращенного на плотной агаризованной среде при + 37°C.

Ультратонкие срезы клеток получали по следующей технологии:

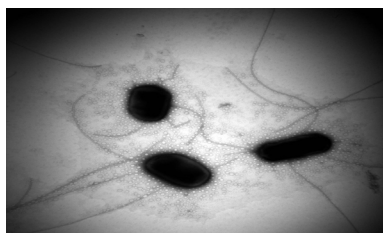
1. Клетки концентрировали центрифугированием (10000 g, 15 мин).

2. Полученную концентрированную суспензию фиксировали в 2% растворе глутарового альдегида в 0.05 М какодилатном буфере (pH 7.2) в течение 1 ч при 4°C.
3. Трижды промывали 0.05 М какодилатным буфером (pH 7.2).
4. Фиксировали 2% раствором OsO₄ 0.05 М в какодилатном буфере (pH 7.2) в течение 4 ч при 18–20°C.
5. Контрастирование полисахаридов капсул и клеточных стенок осуществляли путем глутар-осмиевой фиксации в присутствии рутениевого красного.
6. Обезвоженный материал в кусочках агара пропитывали в эпоксидной смоле Епон 812 в течение 24 ч и полимеризовали в термостате при 60°C в течение 72 ч.
7. Ультратонкие срезы получали на ультратоме Leica EM UC7.
8. Ультратонкие срезы монтировали на опорные сеточки, покрытые формваровой подложкой.
9. После монтажа их окрашивали 3% раствором уранилацетата в 70% спирте, с последующим контрастированием цитратом свинца по Рейнольдсу [28].
10. Полученные препараты помещали на сетки, покрытые формваровой пленкой, укрепленной углеродом.
11. Проводили негативное контрастирование полученных препаратов 1% водным раствором уранил ацетата.
12. Окрашивание МО алыциановым синим проводили в процессе фиксации.
13. Визуализировали полученные ультратонкие срезы на ТЭМ JEM-1011 (“JEOL”, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ.

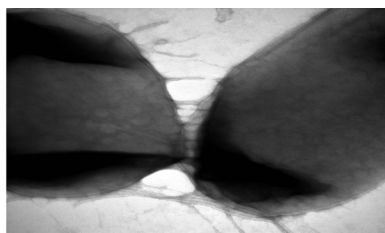
Полученные в ходе визуализации и анализа изображений количественные значения статистически обрабатывались программами «IBM SPSS Statistics 21» и Microsoft Excel. При нормальном распределении использовали следующие статистические параметры: среднее значение (среднее арифметическое значение), дисперсия и ее производное (среднее квадратическое отклонение). Выполнялось сравнение достоверности различий или сходства между статистическими характеристиками, полученными при исследовании сравниваемых выборок (по критерию Стьюдента).

Результаты исследования

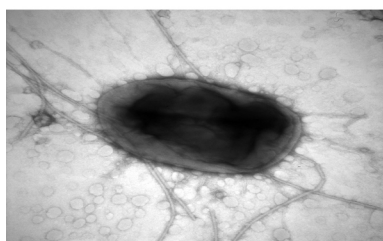
На полученных препаратах (фото 1-8) бактериальные клетки располагались по отдельности, их морфология типичная для грамм (+) бактерий (рис. 2).



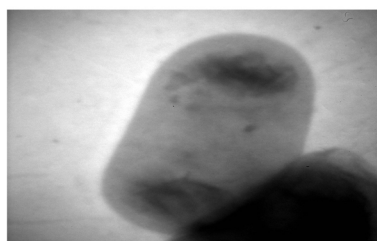
1)



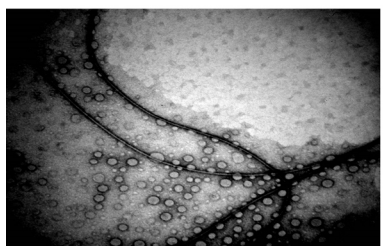
2)



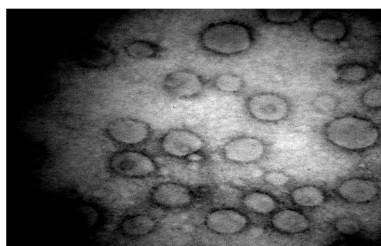
3)



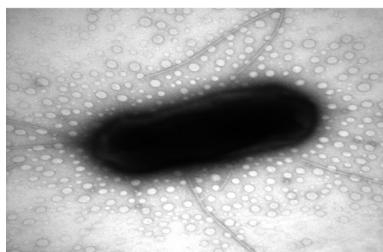
4)



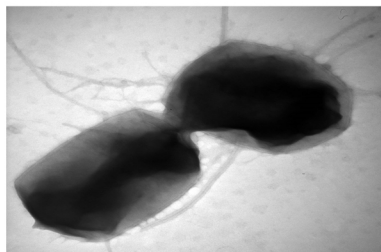
5)



6)



7)



8)

Рис. 2. Ультраструктурная организация *Bacillus sp.* штамм B1M

Лизированных клеток в препарате нами было не обнаружено. Форма бактериальных клеток палочковидная, слегка округлая в длину $880,88 \pm 117,18$ нм и ширину $624,03 \pm 54,57$ нм, что характерно бактерий рода *Bacillus*, находящихся в стационарной фазе. У всех их обнаруживаются тонкие длинные ультраструктурные образования в виде жгутиков количеством $5,0 \pm 1,09$ и диаметром $24,65 \pm 4,15$ нм, обеспечивающие, по-видимому, коммуникативные связи между МО (рис. 1). По-мнению А.В. Брушкова с соавт. (2016), данные образования могут быть нитчатыми видоспецифичными бактериофагами, расшифровка ультраструктуры которых требует проведения специальных дополнительных научных исследований [9].

На полученных изображениях *Bacillus sp. штамм В1М* отмечалась многослойная клеточная стенка толщиной $19,43 \pm 3,04$ нм (фото 3) и нерасширенное периплазматическое пространство. Зона нуклеоида *Bacillus sp. штамм В1М* занимает центральную часть клетки. Его цитоплазматическая мембрана хорошо визуализируется по всему периметру клетки. Внутриклеточное строение хорошо визуализировалось в цитоплазме клеток со средней электронной плотностью (фото 4). Было отмечено в нуклеотиде нитей ДНК и ее конденсированных участков. Хорошо просматриваются отдельные органеллы либо включения. Процесс деления клетки (фото 4) осуществлялся путем перетяжки, что является типичным для грамположительных бактерий.

При изучении ультраструктуры клеток штамма *В1М Bacillus sp.* вокруг групп МО было обнаружено электронно-прозрачное «облако» с чёткими очертаниями (фото 1, 3-7). Это изображение биопленки образованной колонией МО находящихся в стационарной фазе. Образование биопленки в лимитированных условиях представляет сложный и строго регулируемый процесс, в ходе которого происходит образование её матрикса. Изучение структуры матрикса биопленки является одним из актуальнейших направлений исследований в современной микробиологии [1].

Нами было выявлено, что внутри биопленки наблюдаются структуры, похожие на вакуоли диаметром $46,01 \pm 3,1$ нм. Они берут начало от клеточной поверхности МО и распространяющиеся в сторону соседних бактерий (особенно хорошо видно на фото 5, 6, 7). Эти «вакуоли» окружены электронно-плотной мембраной, внутри которых в свою очередь просматривается содержимое – частицы разной электронной плотности (фото 5 и 6). Похожие процессы наблюдаются в лизосомах фагоцитов при переваривании различных веществ. Картина напоминает «внешний процесс переваривания», вынесенный из клетки (внешнее переваривание, как

у насекомых), или процесс обработки информации об окружающей среде (хорошо видно на фото 8). Возможно, что этот отмеченный нами процесс обратимый, динамичный, возвратно-поступательный.

Конкуренция за питательные вещества и другие параметры роста, несомненно, является важной движущей силой развития структуры биопленки. Повышенная плотность клеток благоприятствует химическим сигналам для связи с реагирующими клетками для социальных взаимодействий в биопленках. Проживая сложных условиях бактерии извлекают выгоду из разделения труда, коллективных действий и других форм совместной деятельности со своими соседями [18-20].

При изучении *Bacillus sp. штамм В1М с* использованием ТЭМ мы отметили структурную гетерогенность у изучаемых микробных колоний и биопленок. Мы выявили контактирующие друг с другом длинные гибкие выросты (туннельные нанотрубки) с внутренним каналом. Диаметр трубчатых выростов составлял $24,65 \pm 4,15$ нм (табл. 1).

Таблица 1.

Морфометрические параметры бактерий штамма *Bacillus sp.*

№ п/п	Параметры	Среднее
1.	Длина <i>Bacillus sp.</i> , нм	$880,88 \pm 117,18$
2.	Ширина <i>Bacillus sp.</i> , нм	$624,03 \pm 54,57$
3.	Площадь <i>Bacillus sp.</i> , нм ²	$1819809,43 \pm 309433,27$
4.	Толщина клеточной стенки, нм	$19,43 \pm 3,04$
5.	Длина микроворсинок, нм	$36,57 \pm 5,22$
6.	Количество флагелл, шт	$5,0 \pm 1,09$
7.	Диаметр флагелл, нм	$24,65 \pm 4,15$
8.	Размеры везикул, нм	$46,01 \pm 3,1$

Выросты расположены перитрихально. Они находятся только на внешней стороне его оболочки и структурно связаны с оболочкой МО. Поверхность МО также покрыта многочисленными цитоплазматическими выростами – микроворсинками. Это более тонкие и короткие (длиной $36,57 \pm 5,22$ нм) нитевидные образования, чем выросты.

На наш взгляд, клеточная стенка МО относительно проницаема. Об этом свидетельствуют наличие вокруг МО множество круглых везикул размером $46,01 \pm 3,1$ нм, окруженных мембранами. Эти везикулы объединены в цепочки. Отмечен интересный факт, что размер везикул коррелирует с длиной ($r = 0,909$ при $p = 0,012$) и площадью ($r = 0,865$ при $p = 0,26$) МО (Табл. 1, Рис. 2).

Содержимое везикул может составлять сложная органика, фрагменты ДНК и РНК. Но, назначение и функция их самих не вполне понятна. Существуют различные догадки: удаление отходов из МО, пакетная передача данных через аутоиндукторы, горизонтальный перенос генов, подкормка бактерий-симбионтов и т.д. Известно, что между МО существует химическая коммуникация, организованная в quorum sensing системы (QS), которые регулируют различные процессы, определяют концентрации выделяемых клетками аутоиндукторов и контролируют соответствующий ответ. У грамположительных МО аутоиндукторами QS-систем выступают различные олигопептиды, в том числе *нейромедиаторы* [5].

Нами установлено наличие в везикулах стероидных и нейроподобных соединений. Выявлена зависимость между их значениями и глубиной залегания образцов из которых были выявлены данные МО (табл. 2). МО активно продуцируют кортизолподобный стероид, серотонинподобный и дофаминподобный пептиды. При этом уровень их продукции данными МО сопоставим с уровнем продукции современными и хорошо изученными микроорганизмами *Bacillus cereus* (штамм *IP 5832*) и эндофитным штаммом *Bacillus subtilis* 26Д. А при продукции серотонинподобного и дофаминподобного пептидов значительно и превышают: серотонинподобного пептида более чем в 2 раза; дофаминподобного пептида более чем в 20 раз.

Таблица 2.

Продукция аутоиндукторов МО из дисперсных пород, перешедших в мерзлое состояние, в зависимости от глубины их залегания

Пептиды	Глубина, м			Jp 5832 Бакти- суптил	Д 26 Фито- спорин	Рефе- рентные значе- ния	Уравнение тренда
	≤ 10, n = 4	10-20, n = 4	≥ 20, n = 2				
Кортизол, нмоль/л	451,56 ± 21,05	458,19 ± 29,4	497,75 ± 18,25	575,75 ± 88,63	467,25 ± 20,21	160 - 670	$y = 23,094x + 422,98$ $R^2 = 0,8551$
Серото- нин, нг/мл	70,19 ± 47,44	22,19 ± 1,51	21,12 ± 0,87	29,5 ± 6,85	24,25 ± 2,95	70 - 270	$y = -24,531x + 86,896$ $R^2 = 0,7662$
Дофамин, нг/мл	18,77 ± 11,03	50,16 ± 25,17	21,84 ± 8,9	2,45 ± 0,93	0,5 ± 0,38	< 87,0	$y = 1,5366x + 27,187$ $R^2 = 0,0079$

С увеличением глубины залегания в дисперсных породах, перешедших в мерзлое состояние, МО значительно больше в естественных условиях культи-

вирования при температуре +26°C вырабатывают кортизолподобный стероид ($y = 23,094x + 422,98$ при $R^2 = 0,8551$) и меньше серотонинподобный пептид ($y = -24,531x + 86,896$ при $R^2 = 0,7662$). Проведенный корреляционный анализ показал выраженную зависимость продукции исследуемых аутоиндукторов от физико-химических характеристик дисперсных пород (табл. 3).

Так, с увеличением глубины залегания продукция кортизолподобного стероида увеличивалась ($r = 0,92$ при $p = 0,008$), а серотонинподобного пептида уменьшалась ($r = -0,87$ при $p = 0,022$). При этом, на продукцию кортизолподобного стероида оказывало значимое отрицательное влияние влажность грунта ($r = -0,98$ при $p < 0,001$), а на продукцию серотонинподобного пептида – pH грунта и содержание в нем органики ($r = -0,98$ при $p < 0,001$ и $r = 0,95$ при $p = 0,003$ соответственно).

Таблица 3.

Показатели корреляционного анализа между продукцией аутоиндукторов МО и физико-химическими характеристиками дисперсных пород

Характеристики	кортизол		серотонин		Дофамин	
	г	р	г	р	г	р
Глубина, м	0,92	0,008	-0,87	0,022	0,09	0,867
Влажность грунта, %	-0,98	< 0,001	0,76	0,081	0,12	0,824
pH грунта	0,78	0,066	-0,98	0,001	0,36	0,479
Засоленность, %	-0,38	0,457	-0,48	0,331	0,996	< 0,001
Органика, %	-0,36	0,483	0,95	0,003	-0,78	0,065

В отношении продукции дофаминподобного пептида микроорганизмами из дисперсных пород, перешедших в мерзлое состояние, выявлено, что его уровень значимо прямо пропорционален уровню засоленности грунта ($r = 0,996$ при $p < 0,001$).

Обсуждение

Результаты наших исследований показали, что МО могут весьма длительно – несколько тысяч лет – сохранять свою жизнеспособность. Разнообразие жизнеспособных форм МО в дисперсных породах, перешедших в мерзлое состояние весьма значительно. Вероятно, они не просто находятся в анабиозе, сохраняя жизнеспособность, но и способны к жизнедеятельности (гипометаболизму), пусть даже замедленной, протекающей сотни и тысячи лет в экстремальных условиях.

На наш взгляд, наиболее подходящим модельным МО для научных исследований многообразия регуляторных путей стационарной фазы

из палеобактерий проживающих в дисперсных породах, перешедших в мерзлое состояние является *Bacillus subtilis*, способный к выживанию в экстремальных физико-химических условиях. Как и у других МО, в геноме *Bacillus subtilis* заложена генетическая информация о механизмах биосинтеза и дисперсии биопленок, основанная на пока неизвестных генетических программах, приводящих к созданию сложного микробного биосоциума, являющегося аналогом многоклеточных организмов.

Наличие сложного микробного биосоциума, где МО и их субпопуляции эффективно взаимодействуют между собой, позволяет его членам успешно реагировать на любые изменения внешней среды, адаптируясь к ним, обеспечивая биостабильность. Интенсивная секреция кортизолподобного стероида, а также серотонинподобного и дофаминподобного пептидов интересная функциональная особенность жизнедеятельности *Bacillus subtilis* в сложном микробном биосоциуме – биопленке. Она, возможно, обусловлена экстремальными особенностями его проживания относительно изолировано в глубине дисперсных пород, перешедших в мерзлое состояние. Процесс коммуникации между МО в микробном биосоциуме осуществляется через регуляторные каскады сигнальной трансдукции и происходит при участии мембранных микродоменов (везикул, ворсинок, микротрубочек и др.). У палеобактерий обводненных дисперсных пород, перешедших в мерзлое состояние ультраструктурная организация их микродоменов оказалась весьма сложной. А сложная структура обычно в биологии обуславливает разнообразие и многоуровневость выполняемых функций.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют об эволюционно-консервативном характере организации матрикса биопленок, по-видимому, возникших на заре эволюции жизни на нашей планете. Успешная жизнедеятельность микробного биосоциума не возможна без эффективной многоуровневой коммуникации между его образующими членами. Огромная роль в ней играют экзогенные биогенные амины. Поэтому, факт обнаружения у МО выделенных из дисперсных пород, перешедших в мерзлое состояние, таких аутоиндукторов как, кортизолподобный стероид, серотонинподобный и дофаминподобный нейропептиды имеет для науки важное значение. В то же время, без знаний о ультраструктурной клеточной и внеклеточной организации не возможно будет приступить к полномасштабным исследованиям микробного биосоциума и понять механизмы многоуровневой коммуникации его членов. Применение ТЭМ позволило выявить и проана-

лизировать ультраструктурную организацию матрикса биопленки *Bacillus* sp. штамма В1М выделенного из обводненных дисперсных пород, перешедших в мерзлое состояние.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация о спонсорстве. Исследования выполнялись в рамках госзадания на 2021-2030 годы (Пространственно-временные явления и процессы, происходящие в водах суши Сибири в условиях современного техногенеза и изменения климата (Приоритетное направление 1.5.11. Программа 1.5.11.1)).

Список литературы

1. Воробьева Л.И., Ходжаев Е.Ю., Новикова Т.М., Мулюкин А.Л., Чудинова Е.М., Козлова А.Н., Эль-Регистан Г.И. Стрессопротекторное и перекрестное действие внеклеточного реактивирующего фактора микроорганизмов доменов бактерий, архей и эукариот // Микробиология. 2013. Т. 82, № 5. С. 588–594.
2. Мельников В. П. К созданию цельного образа криосферы // Криосфера Земли. 2014. Т. 18, № 4. С. 3-12.
3. Мохов И. И., Елисеев А. В. Моделирование глобальных климатических изменений в XX—XXIII веках при сценариях антропогенных воздействий RCP // Докл. Акад. наук. 2012. Т. 443, № 6. С. 732-736.
4. Николаев Ю.А., Плакунов В.К. Биопленка – “город микробов” или аналог многоклеточного организма? // Микробиология. 2007. Т. 76. № 2. С. 148-163.
5. Олескин А.В., Эль-Регистан Г.И., Шендеров Б.А. Межмикробные химические взаимодействия и диалог микробиота-хозяин: роль нейромедиаторов // Микробиология. 2016. Т. 85, № 1. С. 3-25.
6. Складнев Д.А., Мулюкин А.Л., Филиппова С.Н. и др. Моделирование процесса распространения клеток микроорганизмов и фаговых частиц из мест вытаивания мерзлотных слоев // Микробиология. 2016. Т. 85, № 5. С. 580-587. <https://doi.org/10.7868/S0026365616050165>
7. Barry R., Gitai Z. Self-assembling enzymes and the origins of the cytoskeleton // Current Opinion in Microbiology. 2011. Vol. 14 (6). P. 704-711. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.09.015>
8. Blaud T.Z., Lerch G.K., Phoenix A.M., Osborn A.M. Arctic soil microbial diversity in a changing world // Research in Microbiology. 2015. Vol. 166. P. 796-813. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2015.07.013>

9. Brouchkov A., Melnikov V., Kalenova L., Fursova O., Pogorelko G., Potapov V. et al. Permafrost bacteria in biotechnology: Biomedical applications / Margesin R. (eds) // *Psychrophiles: From Biodiversity to Biotechnology*. Springer, Cham. 2017. 685 p. https://doi.org/10.1007/978-3-319-57057-0_23
10. Chu H., Fierer N., Lauber C.L., Caporaso J.G., Knight R., Grogan P. Soil bacterial diversity in the Arctic is not fundamentally different from that found in other biomes // *Environ Microbiol.* 2010. Vol. 12. P. 2998-3006. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02277.x>
11. Dalton A. J. A study of the Golgi material of hepatic and intestinal epithelial cells with the electron microscope // *Cell and Tissue Research*. 1952. Vol. 36. P. 522–540. <https://doi.org/10.1007/BF00347683>
12. Eswaramoorthy P. et al. Cellular architecture mediates DivIVA ultrastructure and regulates Min activity in *Bacillus subtilis* // *mBio*. 2011. Vol. 2(6). <https://doi.org/10.1128/mBio.00257-11>
13. Fierer N., Jackson R.B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006. Vol. 103. P. 626-631. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507535103>
14. Gilichinsky D.A., Vishnivetskaya T.A., Petrova M.A. et al. Bacteria in permafrost // *Psychrophiles: from biodiversity to biotechnology* / Eds. R. Margesin et al. Berlin: Rosa Springer, 2008. P. 83-102. https://doi.org/10.1007/978-3-540-74335-4_6
15. Hall-Stoodley L., Costerton J. W., Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases // *Nat. Rev. Microbiol.* 2004. Vol. 2. P. 95–108. <https://doi.org/10.1038/nrmicro821>
16. Kalenova L.F., Petrov S.A. and Sukhovei Y.G. Reparative and Immunomodulatory Potential of Low-Molecular-Weight Fractions of Secondary Metabolites of *Bacillus* sp. // *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2022. Vol. 172 (3). P. 332-335. <https://doi.org/10.1007/s10517-022-05387-5>
17. Kalenova L.F., Petrov S.A. and Bazhin A.S. Dose-Dependent Effect of *Bacillus* sp. Metabolites from Permafrost on Lymphocyte Differentiation in the Thymus // *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2016. Vol. 169 (1). P. 67-70. <https://doi.org/10.1007/s10517-020-04826-5>
18. Kolenbrander P.E., Andersen R.N., Blehert D.S., Eglund P.G., Foster J.S., Parmer R.J. Jr. Communication among oral bacteria // *Microbiol. Mol. Bio. Rev.* 2002. Vol. 66. P. 486–505. <https://doi.org/10.1128/mmbr.66.3.486-505.2002>
19. Kreft J.U. Biofilms promotes altruism // *Microbiology*. 2004. Vol. 150. P. 2751-2760. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26829-0>
20. Kuramitsu H.K., He X., Lux R., Anderson M.H., Shi W.Y. Interspecies interactions within oral microbial communities // *Microbiol. Mol. Rev.* 2007. Vol. 71. P. 653–670. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00024-07>

21. Kreth J., Merritt J., Shi W.J., Qi F.X. Competition and coexistence between *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* in the dental biofilm // *J. Bacteriol.* 2005. Vol. 187. P. 7193–7203. <https://doi.org/10.1128/JB.187.21.7193-7203.2005>
22. Lenz P., Sogaard-Andersen L. Temporal and spatial oscillations in bacteria // *Nature Reviews. Microbiology.* 2011. Vol. 9 (8). P. 565–577. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2612>
23. Malchevskiy V.A., Subbotin A.M., (...), Petrov S.A. Effect of Contamination with Perennial Permafrost Microorganisms on the Outcome of Closed Brain Neurotrauma // *Bulletin of experimental biology and medicine.* 2016. Vol. 161 (3). P. 388–390. <https://doi.org/10.1007/s10517-016-3421-3>
24. Mona Golmohammadzadeh, Danielle L. Sexton, Shweta Parmar, Elitza I. Tocheva Chapter One - Advanced imaging techniques: microscopy // *Advances in Applied Microbiology.* 2023. Vol. 122. P. 1–25. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2023.01.001>
25. Neufeld J.D., Mohn W.W. Unexpectedly high bacterial diversity in Arctic tundra relative to boreal forest soils, revealed by serial analysis of ribosomal sequence tags // *Appl Environ Microbiol.* 2005. Vol. 71. P. 5710–5718. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.10.5710-5718.2005>
26. Petrov S.A., Subbotin A.M., (...), Narushko M.V. Influence of the Microbiota of the Cryolithozone Paleoecosystems on the Behavioral Functions of the Nervous System of Chickens *Gallus gallus* // *Bulletin of experimental biology and medicine.* 2021. Vol. 171 (2). P. 234–237. <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05201-8>
27. Pilhofer M., Jensen G.J. The bacterial cytoskeleton: More than twisted filaments // *Current Opinion in Cell Biology.* 2013. Vol. 25 (1). P. 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2012.10.019>
28. Reynolds E. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy // *J. Cell Biol.* 1963. Vol. 17. P. 208–212. <https://doi.org/10.1083/jcb.17.1.208>
29. Sekowska A., Masson J.B., Celani A., Vergassola M. Repulsion and metabolic switches in the collective behavior of bacterial colonies // *Biophysical J.* 2009. Vol. 97. P. 688–697. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.04.018>
30. Thanbichler M., Shapiro L. Getting organized-How bacterial cells move proteins and DNA // *Nature Reviews Microbiology.* 2008. Vol. 6 (1). P. 28–40. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1795>
31. Webb J.S., Givskov M., Kjelleberg S. Bacterial biofilms: Prokaryotic adventures in multicellularity // *Curr. Opin. Microbiol.* 2003. Vol. 6. P. 578–585. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2003.10.014>

References

1. Vorobyeva L.I., Hodjaev E.Y., Novikova T.M., Mullukin A.L., Chudinova E.M., Kozlova A.N., El-Registan G.I. Stress-protective and cross-talk effect of extracellular reactivating factor of microbial domains of bacteria, archaea and eukaryotes. *Microbiology*, 2013, vol. 82, no. 5, pp. 588-594.
2. Melnikov V. P. Toward the Creation of a Whole Image of the Cryosphere. *Earth's Cryosphere*, 2014, vol. 18, no. 4, pp. 3-12.
3. Mokhov I.I., Eliseev A. V. Modeling of global climatic changes in the XX-XXIII centuries under scenarios of anthropogenic impacts RCP. *Dokl. Acad. of Sciences*, 2012, vol. 443, no. 6, pp. 732-736.
4. Nikolaev Yu.A., Plakunov V.K. Biofilm - a "city of microbes" or an analog of a multicellular organism? *Microbiology*, 2007, vol. 76, no. 2, pp. 148-163.
5. Oleskin A.V., El-Registan G.I., Shenderov B.A. Intermicrobial chemical interactions and microbiota-host dialog: the role of neurotransmitters. *Microbiology*, 2016, vol. 85, no. 1, pp. 3-25.
6. Skladnev D.A., Mullukin A.L., Filippova S.N. et al. Modeling of the process of microbial cells and phage particles spreading from permafrost layer thawing sites. *Microbiology*, 2016, vol. 85, no. 5, pp. 580-587. <https://doi.org/10.7868/S0026365616050165>
7. Barry R., Gitai Z. Self-assembling enzymes and the origins of the cytoskeleton. *Current Opinion in Microbiology*, 2011, vol. 14 (6), pp. 704-711. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.09.015>
8. Blaud T.Z., Lerch G.K., Phoenix A.M., Osborn A.M. Arctic soil microbial diversity in a changing world. *Research in Microbiology*, 2015, vol. 166, pp. 796-813. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2015.07.013>
9. Brouckov A., Melnikov V., Kalenova L., Fursova O., Pogorelko G., Potapov V. et al. Permafrost bacteria in biotechnology: Biomedical applications / Margesin R. (eds). *Psychrophiles: From Biodiversity to Biotechnology*. Springer, Cham. 2017, 685 p. https://doi.org/10.1007/978-3-319-57057-0_23
10. Chu H., Fierer N., Lauber C.L., Caporaso J.G., Knight R., Grogan P. Soil bacterial diversity in the Arctic is not fundamentally different from that found in other biomes. *Environ Microbiol*, 2010, vol. 12, pp. 2998-3006. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02277.x>
11. Dalton A. J. A study of the Golgi material of hepatic and intestinal epithelial cells with the electron microscope. *Cell and Tissue Research*, 1952, vol. 36, pp. 522-540. <https://doi.org/10.1007/BF00347683>
12. Eswaramoorthy P. et al. Cellular architecture mediates DivIVA ultrastructure and regulates Min activity in *Bacillus subtilis*. *mBio*, 2011, vol. 2(6). <https://doi.org/10.1128/mBio.00257-11>

13. Fierer N., Jackson R.B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, vol. 103, pp. 626-631. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507535103>
14. Gilichinsky D.A., Vishnivetskaya T.A., Petrova M.A. et al. Bacteria in permafrost. *Psychrophiles: from biodiversity to biotechnology* / Eds. R. Margesin et al. Berlin: Rosa Springer, 2008, pp. 83-102. https://doi.org/10.1007/978-3-540-74335-4_6
15. Hall-Stoodley L., Costerton J. W., Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2004, vol. 2, pp. 95–108. <https://doi.org/10.1038/nrmicro821>
16. Kalenova L.F., Petrov S.A. and Sukhovei Y.G. Reparative and Immunomodulatory Potential of Low-Molecular-Weight Fractions of Secondary Metabolites of *Bacillus* sp. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 2022, vol. 172 (3), pp. 332-335. <https://doi.org/10.1007/s10517-022-05387-5>
17. Kalenova L.F., Petrov S.A. and Bazhin A.S. Dose-Dependent Effect of *Bacillus* sp. Metabolites from Permafrost on Lymphocyte Differentiation in the Thymus. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 2016, vol. 169 (1), pp. 67-70. <https://doi.org/10.1007/s10517-020-04826-5>
18. Kolenbrander P.E., Andersen R.N., Blehert D.S., Egland P.G., Foster J.S., Parmar R.J. Jr. Communication among oral bacteria. *Microbiol. Mol. Bio. Rev.*, 2002, vol. 66, pp. 486–505. <https://doi.org/10.1128/mmbr.66.3.486-505.2002>
19. Kreft J.U. Biofilms promotes altruism. *Microbiology*, 2004, vol. 150, pp. 2751-2760. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26829-0>
20. Kuramitsu H.K., He X., Lux R., Anderson M.H., Shi W.Y. Interspecies interactions within oral microbial communities. *Microbiol. Mol. Rev.*, 2007, vol. 71, pp. 653–670. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00024-07>
21. Kreth J., Merritt J., Shi W.J., Qi F.X. Competition and coexistence between *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* in the dental biofilm. *J. Bacteriol.*, 2005, vol. 187, pp. 7193–7203. <https://doi.org/10.1128/JB.187.21.7193-7203.2005>
22. Lenz P., Søgaard-Andersen L. Temporal and spatial oscillations in bacteria. *Nature Reviews. Microbiology*, 2011, vol. 9 (8), pp. 565-577. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2612>
23. Malchevskiy V.A., Subbotin A.M., (...), Petrov S.A. Effect of Contamination with Perennial Permafrost Microorganisms on the Outcome of Closed Brain Neurotrauma. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 2016, vol. 161 (3), pp. 388-390. <https://doi.org/10.1007/s10517-016-3421-3>
24. Mona Golmohammadzadeh, Danielle L. Sexton, Shweta Parmar, Elitza I. Tocheva Chapter One - Advanced imaging techniques: microscopy. *Advanc-*

- es in Applied Microbiology*, 2023, vol. 122, pp. 1-25. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2023.01.001>
25. Neufeld J.D., Mohn W.W. Unexpectedly high bacterial diversity in Arctic tundra relative to boreal forest soils, revealed by serial analysis of ribosomal sequence tags. *Appl Environ Microbiol.*, 2005, vol. 71, pp. 5710–5718. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.10.5710-5718.2005>
 26. Petrov S.A., Subbotin A.M., (...), Narushko M.V. Influence of the Microbiota of the Cryolithozone Paleoecosystems on the Behavioral Functions of the Nervous System of Chickens *Gallus gallus*. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 2021, vol. 171 (2), pp. 234-237. <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05201-8>
 27. Pilhofer M., Jensen G.J. The bacterial cytoskeleton: More than twisted filaments. *Current Opinion in Cell Biology*, 2013, vol. 25 (1), pp. 125-133. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2012.10.019>
 28. Reynolds E. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 1963, vol. 17, pp. 208–212. <https://doi.org/10.1083/jcb.17.1.208>
 29. Sekowska A., Masson J.B., Celani A., Vergassola M. Repulsion and metabolic switches in the collective behavior of bacterial colonies. *Biophysical J.*, 2009, vol. 97, pp. 688–697. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.04.018>
 30. Thanbichler M., Shapiro L. Getting organized-How bacterial cells move proteins and DNA. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, vol. 6 (1), pp. 28-40, <https://doi.org/10.1038/nrmicro1795>
 31. Webb J.S., Givskov M., Kjelleberg S. Bacterial biofilms: Prokaryotic adventures in multicellularity. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2003, vol. 6, pp. 578–585. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2003.10.014>

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку статьи для публикации.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

The authors contributed equally to this article.

ДАнные ОБ АВТОРАХ

Петров Сергей Анатольевич, д-р мед. наук, профессор, руководитель отдела биоресурсов криосферы
*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр Тюменский научный центр
Сибирского отделения Российской академии наук*

*ул. Малыгина, 86, г. Тюмень, 625026, Российская Федерация
tumiki@yandex.ru*

Мальчевский Владимир Алексеевич, д-р мед. наук, профессор РАН, главный научный сотрудник отдела биоресурсов криосферы
*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр Тюменский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук
ул. Малыгина, 86, г. Тюмень, 625026, Российская Федерация
malchevski@mail.ru*

Субботин Андрей Михайлович, канд. биол. наук, доцент, в.н.с. отдела биоресурсов криосферы
*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр Тюменский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук
ул. Малыгина, 86, г. Тюмень, 625026, Российская Федерация
subbotin.prion@yandex.ru*

Бажин Александр Сергеевич, младший научный сотрудник отдела биоресурсов криосферы
*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр Тюменский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук
ул. Малыгина, 86, г. Тюмень, 625026, Российская Федерация
aleksandrbazhin@mail.ru*

Нарушко Максим Викторович, младший научный сотрудник отдела биоресурсов криосферы
*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр Тюменский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук
ул. Малыгина, 86, г. Тюмень, 625026, Российская Федерация
narushkomv@mail.ru*

DATA ABOUT THE AUTHORS

Sergei A. Petrov, Dr. Sc. (Medicine), Professor, Head of the Department of Cryosphere Bioresources

Tyumen Scientific Centre SB RAS
86, Maligina Str., Tyumen, 625026, Russian Federation
tumiki@yandex.ru
SPIN-code: 8382-8583
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1566-2299>
ResearcherID: A-7886-2016
Scopus Author ID: 56228113700

Vladimir A. Malchevski, Dr. Sc. (Medicine), professor of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher, Department of Cryosphere Biore-sources

Tyumen Scientific Centre SB RAS
86, Maligina Str., Tyumen, 625026, Russian Federation
malchevski@mail.ru
SPIN-code: 2918-1807
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1308-2899>
ResearcherID: G-9557-2015
Scopus Author ID: 57194276974

Andrei M. Subbotin, Ph.D. biol. Sciences, Associate Professor, Senior Re-searcher Department of Cryosphere Bioresources

Tyumen Scientific Centre SB RAS
86, Maligina Str., Tyumen, 625026, Russian Federation
subbotin.prion@yandex.ru
SPIN-code: 9865-7586
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5135-3194>
ResearcherID: S-3256-2017
Scopus Author ID: 35776939200

Alexandr S. Bazhin, Junior Researcher, Department of Cryosphere Biore-sources

Tyumen Scientific Centre SB RAS
86, Maligina Str., Tyumen, 625026, Russian Federation
aleksandrbazhin@mail.ru
SPIN-code: 3267-3544
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5162-0232>
ResearcherID: G-8623-2015
Scopus Author ID: 56600212400

Maxim V. Naruchko, Junior Researcher, Department of Cryosphere Biore-sources

Tyumen Scientific Centre SB RAS

86, Maligina Str., Tyumen, 625026, Russian Federation

narushkov@mail.ru

SPIN-code: 2361-6829

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3845-9066>

ResearcherID: G-9369-2017

Scopus Author ID: 57194446690

Поступила 11.03.2024

После рецензирования 09.06.2024

Принята 26.06.2024

Received 11.03.2024

Revised 09.06.2024

Accepted 26.06.2024