

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Таксономическая и экофизиологическая характеристика актинобактерий почв сухостепной зоны Селенгинского среднегорья (Западное Забайкалье)

Е.П. Никитина^{1,2}✉, Л.Б. Буянтуева², Е.Ю. Абидуева³, Ч.-Х. Сун⁴

¹ Байкальский институт природопользования Сибирского отделения Российской академии наук, Улан-Удэ, Россия

² Бурятский государственный университет им. Доржи Банзарова, Улан-Удэ, Россия

³ Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской академии наук, Улан-Удэ, Россия

⁴ Институт медицинской биотехнологии Китайской академии медицинских наук, Пекин, Китай

✉ lenauude@mail.ru

Аннотация. Засушливые местообитания привлекают все больше внимания с точки зрения исследования био-разнообразия и обнаружения новых видов бактерий. Они являются одними из целевых экосистем для выделения новых штаммов актинобактерий, которые с большой вероятностью могут продуцировать новые метаболиты. В настоящей работе представлены результаты по выделению актинобактерий из почв сухостепной зоны Селенгинского среднегорья, их таксономическому разнообразию и эколого-трофическим свойствам. Численность бактерий на крахмало-аммиачной среде колебалась от 6.6×10^5 до 7.1×10^6 КОЕ/г. Максимальные значения численности были отмечены в подповерхностных и срединных горизонтах исследуемых почв. Получено 28 штаммов грамположительных бактерий, представленных тонким разветвленным мицелием, кокковидными и палочковидными формами. По результатам анализа последовательностей гена 16S рПНК выделенные культуры были отнесены к родам *Streptomyces*, *Arthrobacter*, *Glycomyces*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Micromonospora*, *Nocardioidea*, *Pseudarthrobacter* и *Rhodococcus* филума Actinomycetota. Один изолят, показавший низкое сходство последовательности гена 16S рПНК с ранее выделенными и достоверно описанными видами, представлял собой новый вид рода *Glycomyces*. Все исследуемые штаммы мезофильны, предпочитают нейтральные или слабощелочные условия, имеют границы роста в диапазоне температур от 5 до 45 °С и значений рН от 6 до 9. Оптимальная концентрация NaCl для роста культур составляла от 0 до 1 %. Исследуемые штаммы были способны утилизировать в качестве источника углерода достаточно широкий спектр моно- и дисахаридов, многоатомных спиртов. В качестве источника азота выделенные культуры использовали как органические (белки и аминокислоты), так и неорганические (соли аммония и нитраты) соединения. Исследование наличия внеклеточных ферментов показало, что все культуры могли продуцировать каталазу и амилазу, 78.6 % от общего количества изолятов продуцировали протеазу и липазу, 53.6 % – целлюлазу, 28.6 % – уреазу. Полученные данные расширяют знания о разнообразии микробных сообществ почв Селенгинского среднегорья и подтверждают, что данные почвы представляют интерес с точки зрения поиска новых видов актинобактерий. Ключевые слова: каштановые почвы; Селенгинское среднегорье; актинобактерии; 16S рПНК; эколого-трофические свойства бактерий.

Для цитирования: Никитина Е.П., Буянтуева Л.Б., Абидуева Е.Ю., Сун Ч.-Х. Таксономическая и экофизиологическая характеристика актинобактерий почв сухостепной зоны Селенгинского среднегорья (Западное Забайкалье). *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(4):411-420. DOI 10.18699/VJGB-23-49

Taxonomic and ecophysiological characteristics of actinobacteria in soils of the dry steppe zone of the Selenga Highlands (Western Transbaikalia)

Е.П. Nikitina^{1,2}✉, L.B. Buyantueva², E.Yu. Abidueva³, C.H. Sun⁴

¹ Baikal Institute of Nature Management of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Ulan-Ude, Russia

² Banzarov Buryat State University, Ulan-Ude, Russia

³ Institute of General and Experimental Biology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Ulan-Ude, Russia

⁴ Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing, China

✉ lenauude@mail.ru

Abstract. Arid habitats have recently attracted increasing attention in terms of biodiversity research and the discovery of new bacterial species. These habitats are among the target ecosystems suitable for isolating new strains of actinobacteria that are likely to produce new metabolites. This paper presents the results on the isolation of actinobacteria from soils of the dry steppe zone of the Selenga Highlands, the characterization of their taxonomic diversity, as well as ecological and trophic properties. The bacterial counts on ISP 4 medium ranged from 6.6×10^5 to 7.1×10^6 CFU/g.

The highest bacterial counts were observed in the subsurface and middle horizons of the studied soils. 28 strains of Gram-positive bacteria represented by thin-branched mycelium, coccoid and bacilliform forms were isolated. According to the results of 16S rRNA gene analysis, the isolated strains were representatives of *Streptomyces*, *Arthrobacter*, *Glycomyces*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Micromonospora*, *Nocardioides*, *Pseudarthrobacter*, and *Rhodococcus* (Actinomycetota). One isolate that showed low 16S rRNA gene sequence similarity with previously isolated and validly described species was a new species of the genus *Glycomyces*. It was shown that all tested strains are mesophilic, prefer neutral or slightly alkaline conditions, have growth limits in the temperature range of 5–45 °C and pH 6–9. The optimal NaCl concentration for growth of most strains was 0–1 %. The strains under study were capable of utilizing a wide range of mono- and disaccharides and polyatomic alcohols as a carbon source. The isolated strains were capable of using both organic (proteins and amino acids) and inorganic (ammonium salts and nitrates) compounds as nitrogen sources. The examinations of extracellular enzymes showed that all isolates were capable of producing catalase and amylase; 78.6 % of the total number of isolates produced protease and lipase; 53.6 %, cellulase; and 28.6 %, urease. The data obtained expand current knowledge about the diversity of microbial communities in soils of the Selenga Highlands and also confirm the potential of searching for new actinobacteria species in these soils.

Key words: chestnut soils; the Selenga Highlands; Actinomycetota; 16S rRNA gene; ecological and trophic properties of bacteria.

For citation: Nikitina E.P., Buyantueva L.B., Abidueva E.Yu., Sun C.H. Taxonomic and ecophysiological characteristics of actinobacteria in soils of the dry steppe zone of the Selenga Highlands (Western Transbaikalia). *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(4):411–420. DOI 10.18699/VJGB-23-49

Введение

Актинобактерии (Actinomycetota) представляют собой морфологически разнообразную группу преимущественно грамположительных бактерий, широко распространенных в различных наземных и водных экосистемах (Ventura et al., 2007; Hazarika, Thakur, 2020). Они играют важную роль в круговороте органических веществ, особенно в почвах, способствуя разложению таких природных полимеров, как крахмал, хитин, пектин, целлюлоза, гемицеллюлоза и лигноцеллюлоза (McCarthy, Williams, 1992; Manucharova et al., 2004; Wang et al., 2016; Leo et al., 2018; Bao et al., 2021). Отдельные их представители принимают участие в синтезе и минерализации гумусовых веществ (Теппер, 1981; Wu et al., 2011).

Ранее считалось, что актинобактерии, в частности их мицелиальные представители – актиномицеты, не могут занимать экологических ниш, характеризующихся экстремальными условиями, и не отличаются особой устойчивостью к воздействию экстремальных факторов окружающей среды (Калакуцкий, Агре, 1977; Lechevalier, 1981). Однако с совершенствованием подходов к культивированию бактерий и разработкой эффективных молекулярных методов исследования появились сведения о существовании актинобактерий, устойчивых к воздействию того или иного фактора (Zenova et al., 2009; Зенова и др., 2016; Yaradoddi et al., 2021). Так, в настоящее время сообщается о большом разнообразии представителей Actinomycetota в засушливых местообитаниях (Kurarova et al., 2012; Зенова и др., 2014; Mohammadipannah, Wink, 2016; Xie, Pathomaree, 2021). Ксерофильность, устойчивость к воздействию ультрафиолета, мицелиальное строение и способность к спорообразованию многих представителей актинобактерий обеспечивают им преимущество в развитии в почвах сухого климата (Зенова, Звягинцев, 2002; Зенова и др., 2014; Yaradoddi et al., 2021).

В связи с этим большой интерес вызывают почвы сухостепной зоны Селенгинского среднегорья, которые формируются в условиях ярко выраженной континентальности и засушливости климата (Ногина, 1964; Батуев и др., 2000). Основными особенностями территории являются

высокий приход солнечной радиации, малое количество осадков и неравномерность их выпадения, резкие колебания температуры воздуха, выражающиеся в значительных амплитудах колебаний среднесуточных и среднемесячных температур (Чимитдоржиева Г.Д., Чимитдоржиева Э.О., 2021). В таких условиях можно ожидать большого таксономического разнообразия актинобактерий, которые могут представлять собой новые виды и обладать уникальными физиологическими механизмами адаптации. Однако культивируемые почвенные актинобактерии сухостепных почв Забайкалья остаются относительно неисследованными, за исключением нескольких публикаций, посвященных в основном численности актиномицетов (Нимаева, 1992; Zvyagintsev et al., 1999; Буянтуева и др., 2014).

Цель работы заключалась в выделении культивируемых актинобактерий из почв сухостепной зоны Селенгинского среднегорья, выявлении их таксономического разнообразия и эколого-трофических свойств.

Материалы и методы

Объекты исследования. Выделение культур актинобактерий проводили из образцов почв, формирующихся в пределах сухостепной зоны Селенгинского среднегорья. Здесь под сухостепной растительностью, в условиях резко континентального климата, под влиянием длительной сезонной мерзлоты и ограниченного количества осадков (180–250 мм/год) формируются в основном каштановые почвы. Они характеризуются наибольшей суммой температур вегетационного периода (1700–1800 °C) и наибольшей длиной безморозного периода (106–116 дней), потому их считают самыми теплообеспеченными почвами региона. Зимние осадки составляют не более 10 % от годового количества, что определяет маломощность снежного покрова. Здесь особенно резко проявляются весенние засухи, период их достаточно продолжителен. Основная часть осадков (до 60–70 %) выпадает во второй половине лета (июль–август) (Ногина, 1964; Ecological Atlas..., 2015).

Было заложено четыре почвенных разреза. Разрезы 1Т (51°08'58.62" с. ш., 107°24'25.38" в. д.; 613 м над ур. моря) и 3Т (51°11'15.24" с. ш., 107°34'46.08" в. д.; 698 м над ур.

моря) были заложены в западной части Тугнуйской котловины, в основании южного склона хребта Цаган-Дабан; разрезы 4И (51°34'50.94" с. ш., 107°03'56.34" в. д.; 637 м над ур. моря) и 5И (51°37'1.98" с. ш., 107°07'42.06" в. д.; 686 м над ур. моря) – в подножии юго-западного склона хребта Хамар-Дабан, на контакте с Иволгинской котловиной.

Отбор проб. Почвенные образцы отбирали летом 2017 г. согласно генетическим горизонтам. Для физико-химических анализов пробы почвы высушивали до воздушно-сухого состояния. Отбор образцов для микробиологических исследований производили из трех стенок почвенного разреза в трехкратной повторности в стерильные бюксы. Далее пробы помещали в холодильник с хладагентами и доставляли в лабораторию в течение 12 ч. До момента исследований образцы хранили при температуре 4 °С не более недели. Непосредственно перед посевом образцы почв высушивали до воздушно-сухого состояния в стерильных условиях в ламинарном шкафу.

Физико-химические свойства почвы. pH водной суспензии определяли согласно ГОСТ 26423-85 «Методы определения удельной электрической проводимости, pH и плотного остатка водной вытяжки»; содержание органического углерода – по Тюрину (Практикум..., 2001); общий азот – согласно ГОСТ 26107-84 «Почвы. Методы определения общего азота». Гранулометрический состав почвы определяли при помощи лазерного дифракционно-анализатора размера частиц Analysette 22 MicroTec plus (Fritsch, Германия).

Выделение чистых культур. Дифференцированный учет и выделение актинобактерий проводили традиционным методом посева из разведений почвенных суспензий на крахмало-аммиачную среду (КАА, ISP 4) (Shirling, Gottlieb, 1966). Для ограничения роста микроскопических грибов добавляли нистатин (50 мкг/мл среды). Посевы культивировали при 30 °С в течение двух-трех недель. Предварительную идентификацию актинобактерий и изучение морфологии клеток выделенных культур осуществляли с помощью светового микроскопа AxioStar Plus (Karl Zeiss) с увеличением в 1000 раз. Для дальнейшего выделения и рутинного культивирования представителей определенных доминирующих морфотипов использовали среду с дрожжевым и солодовым экстрактом (ISP 2) (Shirling, Gottlieb, 1966).

Выделение ДНК, амплификация и секвенирование гена 16S рРНК. ДНК выделяли согласно методу, описанному в (Zhou et al., 2010). Для амплификации фрагментов гена 16S рРНК использовали универсальные праймеры 27F (5'-AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG-3') и 1492R (5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3') (DeLong, 1992). Амплификацию проводили в реакционной смеси (50 мкл), состоящей из 25 мкл готовой 2-кратной смеси 2x EasyTaq PCR SuperMix (TransGen Biotech, КНР), 1.5 мкл каждого праймера (10 мМ, Sangon Biotech, КНР), 2 мкл ДНК (20–25 нг) и 20 мкл деионизированной воды в ДНК-амплификаторе Veriti™ 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems, США). Температурно-временной профиль ПЦР: первый цикл – 95 °С × 5 мин; последующие 35 циклов – 94 °С × 1 мин, 55 °С × 1 мин, 72 °С × 2 мин; завершающий цикл – 72 °С × 10 мин. Очистку и секвенирование продук-

тов ПЦР проводили в компании Sangon Biotech (Пекин, Китай) на генетическом анализаторе ABI PRISM 3730XL (Thermo Fisher Scientific).

Таксономический и филогенетический анализ. Первичный анализ сходства полученных нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК выполняли с использованием инструментов сайтов EzTaxon-e (Yoon et al., 2017) и BLAST (Camacho et al., 2009). Соответствующие последовательности близкородственных видов были извлечены из базы данных GenBank с помощью сервера EzBioCloud. Множественное выравнивание сделано в программе CLUSTAL W. Филогенетические деревья построены методом присоединения соседей (neighbor-joining) в программе MEGA 7.0 (Kumar et al., 2016). Порядок ветвления подтвержден построением филограмм методами максимального правдоподобия (maximum likelihood) и максимальной экономии (maximum parsimony). Статистическую достоверность филогенетических реконструкций оценивали с помощью бутстреп-анализа путем построения 1000 альтернативных деревьев. Полученные нуклеотидные последовательности депонированы в GenBank с присвоением культурам индивидуальных номеров доступа (MN314472–MN314496, MW410748, MW410749).

Описание эколого-физиологических свойств выделенных бактерий. Для выявления оптимальных параметров и границ роста изоляты культивировали при различной температуре (от 5 до 55 °С, с интервалом в 5 °С), концентрации NaCl (0, 1, 3, 5, 6, 7, 8, 9 и 10 %). Диапазон pH (5.0–10.0, с интервалом 0.5) устанавливали при 30 °С добавлением системы буферных растворов (Xu et al., 2005). Способность к потреблению различных источников углерода проверяли на минеральной среде, в которую вносили испытуемые источники питания в концентрации 2 % от объема среды (Shirling, Gottlieb, 1966). Рост штаммов на среде с органическими кислотами, наличие внеклеточных ферментов (амилазы, каталазы, липазы, протеазы, целлюлазы, уреазы), выделение сероводорода и аммиака в процессе жизнедеятельности проверяли согласно (Gordon et al., 1974; Williams et al., 1983). Тесты проводили в трех повторностях, в качестве контроля использовали соответствующую питательную среду без культуры бактерий.

Результаты

Физико-химические свойства почв и численность бактерий

Содержание органического углерода и общего азота было максимальным в верхних горизонтах исследуемых почв (табл. 1). Вниз по профилю отмечено довольно резкое снижение обоих показателей. Значения pH в верхних горизонтах были близки к нейтральным (6.85–7.54), вниз по профилю наблюдалось постепенное подщелачивание среды. Гранулометрический состав исследуемых почв представлен в основном легким суглинком, за исключением светлогумусовой почвы, которая имела супесчаный состав.

Численность бактерий на КАА достигала нескольких миллионов колониеобразующих единиц в 1 г почвы

Таблица 1. Физико-химические свойства почв и численность бактерий на КАА

Горизонт	Глубина, см	рН _{H₂O}	C _{орг} , %	N _{общ} , %	Σ частиц, %		Численность бактерий, млн КОЕ/г
					<0.01 мм	<0.001 мм	
Разрез 1Т. Каштановая типичная почва (Haplic Kastanozems)							
AJ	0–7(9)	7.54	2.63	0.28	37.17	4.38	4.90
ВМК	7(9)–21	7.66	1.30	0.12	22.72	4.16	7.10
САТ	21–39	7.92	0.42	0.04	28.59	5.07	4.52
ВСа	39–72	7.68	0.19	–	24.15	4.12	3.09
Разрез 3Т. Светлогумусовая почва (Eutric Leptosols)							
AJ1	0–10(16)	7.02	1.39	0.18	17.40	2.43	2.45
AJ2	10(16)–31(45)	7.17	1.33	0.13	17.30	2.53	2.90
Са,м	31(45)–44(58)	7.20	0.57	–	17.39	2.54	4.50
Са	44(58)–79	7.25	0.35	–	21.49	2.94	1.91
Разрез 4И. Каштановая с погребенным профилем чернозема гидротоморфизированного (Haplic Kastanozems, Calcic Chernozems)							
AJ	0–7	6.85	2.45	0.30	23.43	2.97	3.34
ВМК	7–15	7.77	1.21	0.12	21.78	2.97	3.10
[AU]	15–39	7.63	0.70	0.08	24.95	3.10	3.26
[AU/BCA]	39–55	7.69	0.48	0.05	24.07	2.84	4.60
BCAq	55–74	7.86	0.55	0.05	29.14	3.83	1.61
BCq	74–95	7.73	0.12	–	29.67	3.77	0.66
Разрез 5И. Каштановая квазиглеевая почва (Gleyic Kastanozems)							
AJ1	0–7	7.18	3.31	0.42	22.03	2.62	2.87
AJ2	7–18	7.36	1.86	0.19	23.18	3.05	1.96
ВМК	18–42	7.57	1.08	0.10	34.31	4.12	2.98
САТq	42–60	7.30	0.78	0.06	28.68	3.45	2.50
BCq	60–75(80)	7.58	0.45	–	30.66	3.89	2.45
Са, q	75(80)–125	8.02	0.33	–	23.56	2.73	0.78

(КОЕ/г почвы) и колебалась от 6.6×10^5 до 7.1×10^6 КОЕ/г. Максимальные значения численности отмечены в подповерхностных и срединных горизонтах почв. На питательной среде заметно преобладали колонии мицелиальных актинобактерий – актиномицетов, которые составляли 40–80 % от общей численности колоний бактерий на чашках.

Получение чистых культур и морфология клеток актинобактерий

Из образцов исследуемых почв было выделено 34 культуры аэробных бактерий. На основе морфологии колоний и микроскопирования клеток для дальнейшего изучения было отобрано 28 изолятов. Выделенные культуры на среде ISP 2 образовывали округлые (0.3–1.0 см) колонии преимущественно белого, бежевого, желтоватого, оранжевого, коричневого и бордового цветов.

При микроскопировании изоляты были представлены разными морфотипами – кокками (4с-3-1, 5с-3-3, 13р-4-1), палочками (3с-1-1, 6с-4-2) и разветвленным мицелием (все остальные штаммы). Для большинства мицелиальных

культур было характерно выделение в среду водорастворимых пигментов в основном со светло-желтыми и светло-коричневыми оттенками.

Таксономическое положение и филогения выделенных культур

В результате анализа последовательностей гена 16S рРНК выявлено девять родов фила Actinomycetota. Большинство изолятов принадлежало широко распространенному в почве роду *Streptomyces*. Наряду с ними выделены представители родов *Arthrobacter*, *Glycomyces*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Micromonospora*, *Nocardoides*, *Pseudarthrobacter* и *Rhodococcus* (табл. 2). Полученные культуры демонстрировали 98.10–100 % сходство с ранее описанными типовыми штаммами. Один изолят, показавший низкое сходство последовательности гена 16S рРНК (<98.65 %) с ранее выделенными и достоверно описанными видами, представлял собой новый вид рода *Glycomyces* (Nikitina et al., 2020).

Для анализа филогенетического родства выделенных изолятов и их ближайших валидно описанных родствен-

Таблица 2. Таксономическое положение штаммов на основе анализа последовательностей гена 16S рПНК

Почвенный горизонт	Штамм	Длина фрагмента, п. о.	Ближайший культивируемый вид	Сходство, %
Разрез 1Т				
AJ	3с-1-1	785	<i>Rhodococcus fascians</i> ATCC 12974 ^T	99.36
ВМК	1а-1-2	880	<i>Streptomyces pseudogriseolus</i> ATCC 12770 ^T	99.89
ВМК	4к-1-2	815	<i>Streptomyces qinglanensis</i> DSM 42035 ^T	99.51
САТ	3а-1-3	950	<i>Nocardioides albus</i> ATCC 27980 ^T	99.79
ВССа	4а-1-4	940	<i>Streptomyces violaceochromogenes</i> DSM 40181 ^T	99.57
ВССа	8с-1-4	1404	<i>Microbacterium saccharophilum</i> NBRC 108778 ^T	100
Разрез 3Т				
AJ1	4с-3-1	830	<i>Kocuria rosea</i> DSM 20447 ^T	99.64
AJ2	6а-3-2	950	<i>Streptomyces brevispora</i> KACC 21093 ^T	99.79
AJ2	7а-3-2	935	<i>Streptomyces brevispora</i> KACC 21093 ^T	99.79
Сса,м	5с-3-3	932	<i>Arthrobacter ruber</i> CGMCC 1.9772 ^T	99.56
Сса,м	8а-3-3	940	<i>Streptomyces seymenliensis</i> DSM 42117 ^T	99.57
Сса,м	10а-3-3	920	<i>Streptomyces candidus</i> DSM 40141 ^T	99.46
Сса,м	20а-3-3	940	<i>Streptomyces glomeroaurantiacus</i> DSM 41782 ^T	99.26
Сса	9а-3-4	950	<i>Streptomyces monticola</i> NEAU-GS4 ^T	98.63
Разрез 4И				
AJ	11а-4-1	950	<i>Streptomyces brevispora</i> KACC 21093 ^T	99.79
AJ	13р-4-1	601	<i>Arthrobacter humicola</i> JCM 15921 ^T	100
ВМК	6с-4-2	920	<i>Pseudarthrobacter phenanthrenivorans</i> DSM 18606 ^T	99.02
[AU]	13а-4-3	940	<i>Streptomyces aureocirculatus</i> JCM 4454 ^T	98.83
ВСАq	15а-4-5	1394	<i>Nocardioides luteus</i> DSM 43366 ^T	99.57
ВСq	18	1455	<i>Glycomyces paridis</i> CPCC 204357 ^T	97.18
Разрез 5И				
AJ2	27а-5-2	930	<i>Streptomyces sioyaensis</i> ATCC 13989 ^T	99.68
AJ2	16ам-5-2	624	<i>Pseudarthrobacter scleromae</i> DSM 17756 ^T	99.19
AJ2	13с-5-2	758	<i>Streptomyces gobitricini</i> NBRC 15419 ^T	99.08
AJ2	2рр-5-2	970	<i>Micromonospora luteifusca</i> DSM 100204 ^T	99.59
ВМК	21а-5-3	1399	<i>Streptomyces phaeochromogenes</i> ATCC 23945 ^T	98.34
ВМК	22а-5-3	950	<i>Streptomyces cremeus</i> DSM 40147 ^T	99.05
ВМК	28а-5-3	940	<i>Streptomyces galbus</i> JCM 4222 ^T	99.26
ВСq	14р-5-5	816	<i>Nocardioides jensenii</i> JCM 1364 ^T	98.90

ных видов было построено три филогенетических дерева с использованием методов присоединения соседей, максимального правдоподобия и максимальной экономии (рис. 1). Все три филограммы имели сходную базовую топологию. Согласно филогенетическому анализу, культуры, принадлежащие к родам *Arthrobacter* (5с-3-3, 13р-4-1), *Kocuria* (4с-3-1), *Microbacterium* (8с-1-4), *Micromonospora* (2рр-5-2) и *Rhodococcus* (3с-1-1), вероятно, являлись представителями известных видов этих родов, что подтверждалось высоким уровнем сходства (99.36–100 %) и достоверностью кластеризации (86–100 %). Культуры 3а-1-3 и 15а-4-5 рода *Nocardioides* с высокой достоверностью

объединялись с видами *Nocardioides luteus* DSM 43366^T и *Nocardioides albus* ATCC 27980^T соответственно. Штамм 14р-5-5 относился к подкластеру, объединяющему штаммы рода *Nocardioides*, и демонстрировал невысокий уровень сходства с ближайшим гомологом (98.90 %). Достоверность объединения данной нуклеотидной последовательности совместно с *Nocardioides jensenii* JCM 1364^T в один кластер составляла 96 %, что позволяет предполагать их филогенетическую близость. Изоляты 16ам-5-2 и 6с-4-2 характеризовались высоким сходством с уже известными видами, но низкая достоверность объединения нуклеотидных последовательностей 6с-4-2 и *Pseudarthrobacter*

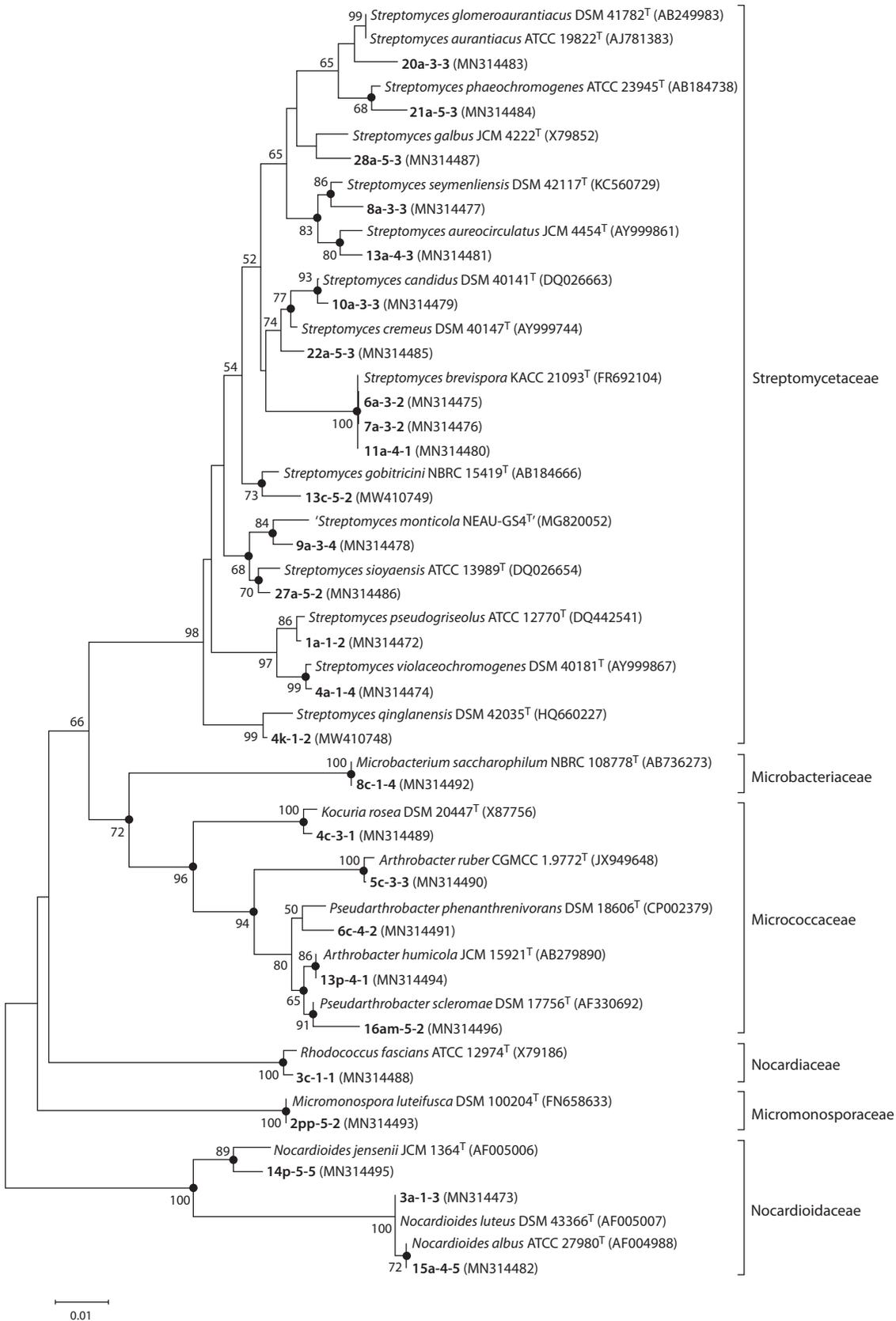


Рис. 1. Филогенетическое положение штаммов актинобактерий на дереве, построенном с использованием метода присоединения соседей.

Масштаб соответствует одной нуклеотидной замене на каждые 100 нуклеотидов. Цифрами показана статистическая достоверность порядка ветвления (>50 %), определенная с помощью бутстреп-анализа 1000 альтернативных деревьев. Отметки в узлах указывают на соответствующие ветви, которые были получены при построении деревьев с использованием методов максимального правдоподобия и максимальной экономии.

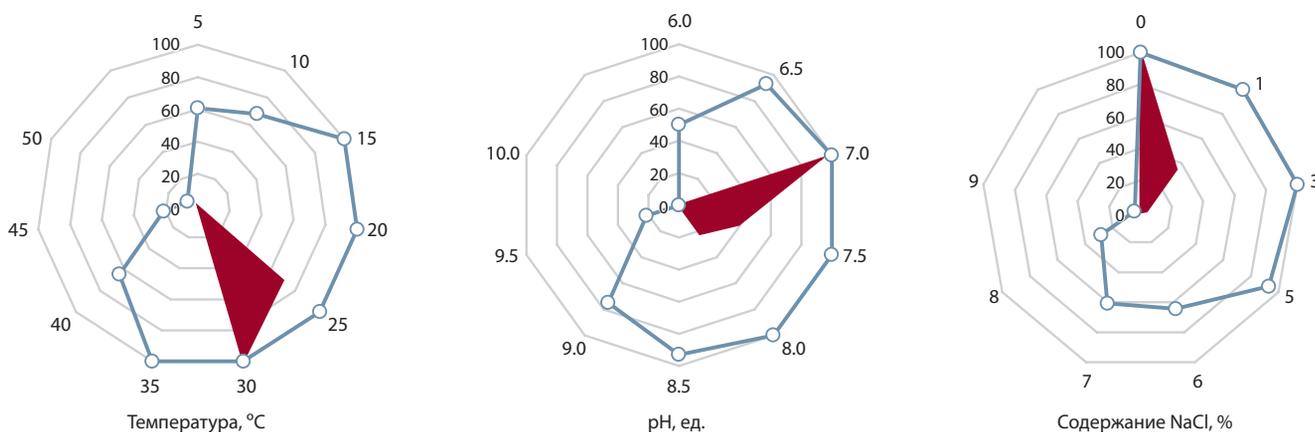


Рис. 2. Основные параметры роста выделенных культур.

Значения даны в процентах от общего количества культур. Выделенный сектор соответствует оптимуму роста.

phenanthrenivorans DSM 18606^T, а также различие в эволюционном расстоянии 16am-5-2 и *Pseudarthrobacter scleromae* DSM 17756^T не позволяет сделать однозначный вывод о видовой принадлежности данных культур.

Остальные штаммы, согласно анализу последовательностей гена 16S рРНК, относились к роду *Streptomyces* и на филогенетическом дереве объединялись со всеми коллекционными культурами стрептомицетов в один кластер. Последовательности гена 16S рРНК штаммов ба-3-2, 7а-3-2 и 11а-4-1 были идентичны между собой (100 %), обнаруживая высокий уровень сходства со *Streptomyces brevispora* KACC 21093^T (99.79 %). Достоверность объединения этих нуклеотидных последовательностей в один кластер составляла 100 %, что свидетельствовало о возможной принадлежности штаммов к данному виду. Это же предположение может быть верно и в отношении культур 1а-1-2, 4а-1-4, 8а-3-3, 10а-3-3, 13а-4-3, 13с-5-2 и 4к-1-2, которые имели высокий уровень сходства с ближайшими гомологами и кластеризовались с ними с высокой достоверностью.

Штаммы 27а-5-2 и 28а-5-3 демонстрировали высокое сходство последовательности гена 16S рРНК с близкородственными видами (99.68 и 99.26 % соответственно), но достоверность объединения в один кластер была низкой. Штамм 9а-3-4 имел относительно невысокий уровень сходства (98.63 %) и образовывал кластер с невалидированным видом *Streptomyces monticola* NEAU-GS4. Штамм 21а-5-3 имел уровень сходства с ближайшим описанным видом ниже порогового (98.34 %), а 20а-3-3 и 22а-5-3 не образовывали кластер ни с одной коллекционной культурой, несмотря на относительно высокий уровень сходства с ближайшими гомологами. Данные изоляты, вероятно, могут представлять новые виды рода *Streptomyces*. Однако проводить идентификацию стрептомицетов на видовом уровне, основываясь исключительно на анализе гена 16S рРНК, весьма затруднительно, поскольку ранее было показано (Labeda et al., 2012), что нуклеотидные последовательности этого гена обладают высоким сходством для представителей всех таксонов внутри семейства Streptomycetaceae. Поэтому ввиду сложной систематики рода *Streptomyces*, в котором сейчас насчитывается более

семисот валидно описанных видов, для точного определения видовой принадлежности выделенных штаммов необходимы дополнительные тесты.

Эколого-физиологические характеристики культур актинобактерий

Полученные штаммы характеризовались различным отношением к температуре, рН и концентрации NaCl (рис. 2). Оптимальные для роста значения температуры варьировали в пределах 25–30 °С, что позволило отнести выделенные культуры к группе мезофилов. В целом рост наблюдался в диапазоне от 5 до 45 °С. По отношению к рН среды выделенные изоляты вели себя преимущественно как нейтрофилы, имея границы роста от 6 до 9 и оптимум при рН 7–8. Оптимальная концентрация NaCl для роста большинства культур в среде составляла от 0 до 1 %. Культуры 1а-1-2, 15а-4-5, 20а-3-3, 3с-1-1, 4с-3-1, 13с-5-2, 4к-1-2 и 18 были способны расти в диапазоне от 0 до 8 %, что свидетельствовало об их галотолерантности. Однако при концентрации NaCl ≥ 5 % наблюдалось сильное замедление роста выделенных штаммов.

В ходе исследований для выделенных культур был определен спектр используемых углеродсодержащих субстратов. Практически все штаммы могли использовать моносахариды: глюкозу, фруктозу, галактозу, D-ксилозу и α -рамнозу. Большинство росло на средах с дисахаридами (сахароза, D-мальтоза, лактоза) и спиртами (глицерол, маннитол, сорбитол, дульцитол). Менее половины культур показали способность к использованию ацетата и сукцината. Единицы показали рост на оксалате (4а-1-4 и ба-3-2) и цитрате (6с-4-2 и 13р-4-1).

Выделенные культуры использовали как органические, так и неорганические источники азота. Рост большинства штаммов на мясопептонном бульоне сопровождался выделением аммиака и сероводорода, что свидетельствовало о возможности использования белков и аминокислот в качестве источников азота. Способность усваивать соли аммония и нитраты была выявлена практически у всех культур, за исключением 4с-3-1 и 5с-3-3, которые не использовали соли аммония, и 5с-3-3 и 8с-1-4, которые не использовали нитраты.

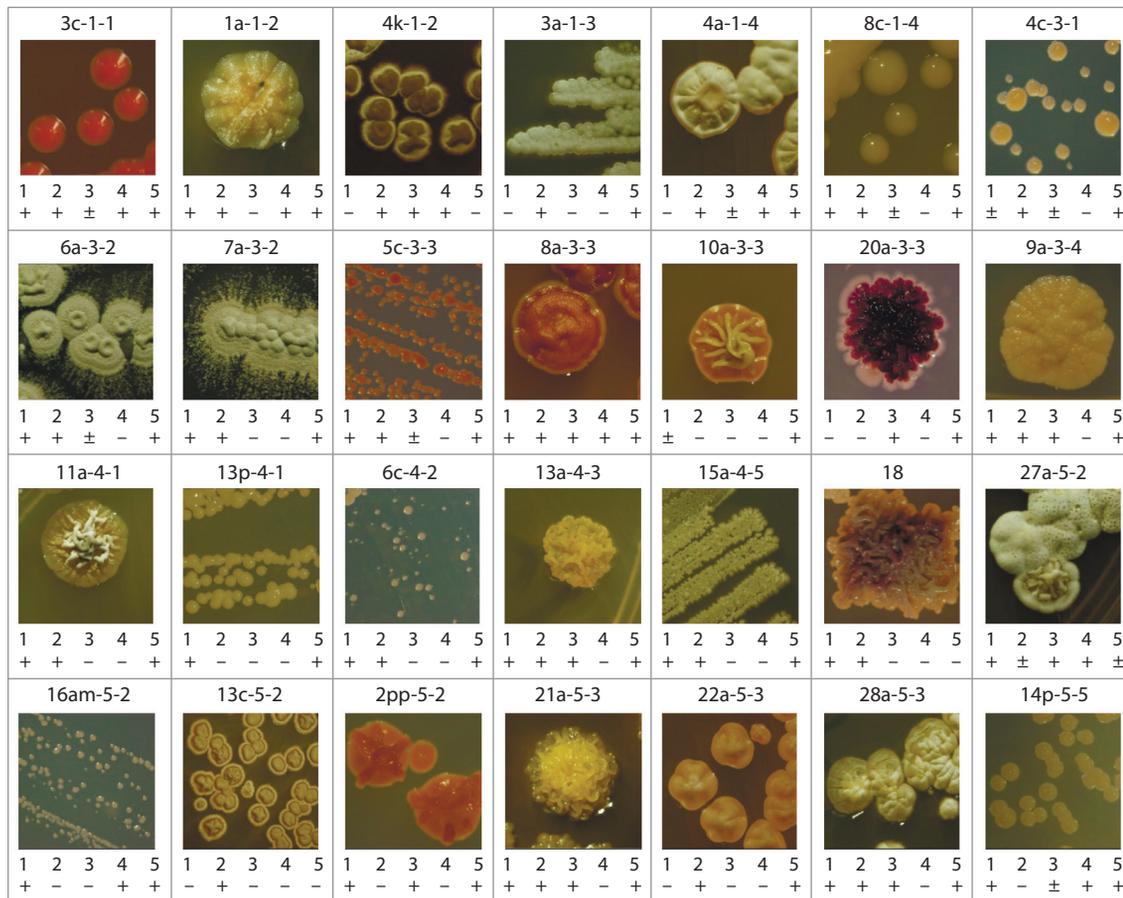


Рис. 3. Морфология колоний и ферментативная активность выделенных культур.

1 – протеаза; 2 – липаза; 3 – целлюлаза; 4 – уреаз; 5 – продукция H₂S. «+» – положительная реакция; «-» – отрицательная; «±» – слабоположительная.

Все выделенные штаммы продуцировали каталазу и амилазу. Для большинства отмечено наличие протеазы, липазы и целлюлазы. Уреазу в процессе жизнедеятельности могли продуцировать лишь несколько культур (рис. 3).

Обсуждение

Исследуемые почвы формируются в условиях резко континентального климата с малым количеством осадков и коротким периодом биологической активности. Характер водного режима каштановых почв преимущественно зависит от атмосферных осадков и является лимитирующим фактором, а легкий гранулометрический состав и щебнистость обуславливают неблагоприятный водный режим данных почв. Для рассматриваемых почв характерны невысокие запасы органического углерода и общего азота, сконцентрированные в основном в верхних гумусовых горизонтах. Вероятно, все это определяет широкое распространение олиготрофных бактерий в составе микробного сообщества, в частности мицелиальных прокариот – актиномицетов. Полученные результаты согласуются с ранее проведенными исследованиями на территории Забайкалья, где отмечалось, что в почвах степной и сухостепной зоны среднее содержание актиномицетов составляет более половины общей численности культивируемых прокариот (Нимаева, 1992; Буянтуева и др., 2014).

Нами получены чистые культуры актинобактерий, ближайшие гомологи которых были выделены из почвы и ризосферы растений. Большинство культур представлено ветвящимся мицелием. Это представители родов *Streptomyces*, *Nocardioides*, *Micromonospora* и *Glycomyces*. Согласно (Zenova et al., 2009), такие формы актинобактерий составляют основу гидролитического блока прокариотных микроорганизмов в почвах с прерывистым режимом увлажнения и поступления питательных веществ. Они имеют преимущество перед другими бактериями, поскольку обладают способностью к клеточной дифференцировке и формированию мицелия, который может проникать через границы фаз в почвенной среде.

Более половины изолятов принадлежало к роду *Streptomyces*, что вполне закономерно, так как этот род традиционно ассоциируется с почвенной микробиотой и достаточно легко выделяется в культуру на синтетических питательных средах. Культуры стрептомицетов были выделены как из верхних и срединных, так и из нижних горизонтов всех почвенных разрезов. Широкое распространение стрептомицетов в почвах объясняется, помимо их мицелиального строения, олиготрофностью, а также возможностью производить артроспоры, которые помогают расселению и позволяют им переносить периоды стресса (Звягинцев и др., 2005; Cockell et al., 2013). Из

поверхностных и срединных горизонтов исследуемых почв были выделены штаммы, принадлежавшие роду *Arthrobacter* и недавно отделившемуся от него роду *Pseudarthrobacter*. Их представители хоть и не образуют специфических покоящихся форм, как стрептомицеты, но способны благодаря особой стратегии и экономному метаболизму выживать в условиях голодания и высушивания почв (Добровольская, 2002, Wink et al., 2017). Они могут образовывать цистоподобные покоящиеся клетки с крайне пониженным метаболизмом в неблагоприятных условиях (Wink et al., 2017). Также было выделено по одной культуре представителей *Rhodococcus*, *Kocuria* и *Microbacterium*. Актинобактерии, принадлежащие к этим родам, не формируют споры, однако могут (например, родококки) формировать мицелий, способный распадаться на коккоидные или палочковидные элементы, которые увеличивают выживаемость видов (Wink et al., 2017). Сообщается также об устойчивых к воздействию ультрафиолета родококках (Urbano et al., 2013) и радиорезистентных, психротрофных представителях рода *Kocuria* (Asgaraní et al., 2012).

Все исследуемые культуры были выделены при 30 °С, нейтральном рН и незначительной концентрации хлорида натрия в среде. Тем не менее они демонстрируют широкие границы толерантности к этим факторам, что свидетельствует об их высоком адаптационном потенциале к абиотическим факторам.

В настоящее время способность актинобактерий ассимилировать те или иные источники углерода и азота не является значимым таксономическим признаком, однако она может служить основой для исследования функциональной роли прокариот в сообществе. Выделенные изоляты отличались широкой метаболической активностью в отношении используемых субстратов, что говорит об их активном участии в деструкции органического вещества. Почти все культуры способны потреблять моно- и дисахариды, чуть менее востребованными были многоатомные спирты. В качестве источников азота выделенные культуры использовали как органические (белки, аминокислоты), так и неорганические (соли аммония, нитраты) соединения. Амилолитическая и каталитическая активность отмечена у всех рассмотренных штаммов. Для большинства культур характерны протеолитическая и липолитическая активность. Более половины изолятов продуцировали целлюлазу, треть – уреазу.

Заключение

Особенности морфологии и жизненного цикла (формирование воздушного мицелия, образование спор и покоящихся форм) актинобактерий, способность к использованию различных субстратов, наличие внеклеточных ферментов, широкие диапазоны роста культур указывают на то, что выделенные бактерии играют важную роль в деструкции органического вещества, а также имеют адаптационные возможности к изменяющимся условиям среды. Кроме того, актинобактерии не одно десятилетие привлекают внимание многих ученых с точки зрения своего биотехнологического потенциала, поэтому дальнейшие исследования позволят более подробно изучить выделенные актинобактерии и оценить возможные пер-

спективы их использования в биотехнологии, в частности, как продуцентов антимикробных компонентов. Полученные данные не только расширяют знания о разнообразии микробных сообществ почв Селенгинского среднегорья, но и подтверждают, что данные почвы представляют определенный интерес для поиска новых видов актинобактерий.

Список литературы / References

- Батуев А.Р., Буянтуев А.Б., Снытко В.А. Геосистемы и картографирование эколого-географических ситуаций приселенгинских котловин Байкальского региона. Новосибирск, 2000.
[Batuev A.R., Buyantuev A.B., Snytko V.A. Geosystems and Mapping of Ecogeographical Situations in Selenga Basins of the Baikal Region. Novosibirsk, 2000. (in Russian)]
- Буянтуева Л.Б., Никитина Е.П., Намсараев Б.Б. Актиномицетные сообщества каштановых почв степных пастбищ Бурятии. *Вестн. Бурят. гос. ун-та: Биология, География*. 2014;4(2):55-58.
[Buyantueva L.B., Nikitina E.P., Namsaraev B.B. Actinomycete communities of chestnut soils of steppe pastures in Buryatia. *Vestnik Buryatskogo Gosuniversiteta = Herald of the Buryat State University*. 2014;4(2):55-58. (in Russian)]
- Добровольская Т.Г. Структура бактериальных сообществ почв. М., 2002.
[Dobrovol'skaya T.G. Structure of Soil Bacterial Communities. Moscow, 2002. (in Russian)]
- Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. М., 2005.
[Zvyagintsev D.G., Bab'eva I.P., Zenova G.M. Soil Biology. Moscow, 2005. (in Russian)]
- Зенова Г.М., Дуброва М.С., Грачева Т.А., Кузнецова А.И., Степанова О.А., Чернов И.Ю., Манучаров А.С. Актиномицетные комплексы почв Приэльтона. *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 17. Почвоведение*. 2016;4:43-46.
[Zenova G.M., Dubrova M.S., Gracheva T.A., Kuznetsova A.I., Stepanova O.A., Chernov I.Yu., Manucharov A.S. Ecological and taxonomic features of soil actinomycete complexes in the Near-Elton region. *Vestnik Moskovskogo Universiteta. Ser. 17. Pochvovedenie = Herald of the Moscow University. Series 17: Soil Science*. 2016;4:43-46. (in Russian)]
- Зенова Г.М., Звягинцев Д.Г. Разнообразие актиномицетов в наземных экосистемах. М., 2002.
[Zenova G.M., Zvyagintsev D.G. The Diversity of Actinomycetes in Land Ecosystems. Moscow, 2002. (in Russian)]
- Зенова Г.М., Кожевин П.А., Манучарова Н.А., Лубсанова Д.А., Дуброва М.С. Экофизиологические особенности актиномицетов пустынных почв Монголии. *Изв. РАН. Сер. биол.* 2014;3:246-253.
[Zenova G.M., Kozhevin P.A., Manucharova N.A., Lubsanova D.A., Dubrova M.S. Ecophysiological features of actinomycetes in desert soils in Mongolia. *Izvestiya RAN. Ser. Biol. = Proceedings of the Russian Academy of Sciences. Biological Series*. 2014;3:246-253. (in Russian)]
- Калакуцкий Л.В., Агре Н.С. Развитие актиномицетов. М., 1977.
[Kalakuckiy L.V., Agre N.S. Development of Actinomycetes. Moscow, 1977. (in Russian)]
- Нимаева С.Ш. Микробиология криоаридных почв. Новосибирск, 1992.
[Nimaeva S.Sh. Microbiology of Cryoarid Soils. Novosibirsk, 1992. (in Russian)]
- Ногина Н.А. Почвы Забайкалья. М., 1964.
[Nogina N.A. Soils of Transbaikalia. Moscow, 1964. (in Russian)]
- Практикум по агрохимии. Под ред. В.Г. Минеева. М., 2001.
[Mineev V.G. (Ed.) Manual on Agrochemistry. Moscow, 2001. (in Russian)]
- Теппер Е.З. Микроорганизмы рода *Nocardia* и разложение гумуса. *Агрохимия*. 1981;5:156-157.

- [Tepper E.Z. Microorganisms of the genus *Nocardia* and humus decomposition. *Agrokhimiya = Agricultural Chemistry*. 1981;5:156-157. (in Russian)]
- Чимитдоржиева Г.Д., Чимитдоржиева Э.О. Структура гуминовых кислот сухостепных почв Забайкалья. *Успехи соврем. естествознания*. 2021;12:89-94.
- [Chimitorzhieva G.D., Chimitorzhieva E.O. Structure of humic acids in dry-steppe soils of Transbaikalia. *Uspekhi Sovremennogo Yestestvoznaniya = Advances in Modern Natural Science*. 2021;12: 89-94. (in Russian)]
- Asgarani E., Soudi M.R., Borzooee F., Dabbagh R. Radio-resistance in psychrotrophic *Kocuria* sp. ASB 107 isolated from Ab-e-Siah radioactive spring. *J. Environ. Radioact.* 2012;113:171-176. DOI 10.1016/j.jenvrad.2012.04.009.
- Bao Y., Dolfing J., Guo Z., Chen R., Wu W., Li Z., Lin X., Feng Y. Important ecophysiological roles of non-dominant *Actinobacteria* in plant residue decomposition, especially in less fertile soils. *Microbiome*. 2021;9:84. DOI 10.1186/s40168-021-01032-x.
- Camacho C., Coulouris G., Avagyan V., Ma N., Papadopoulos J., Bealer K., Madden T.L. BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics*. 2009;10:421. DOI 10.1186/1471-2105-10-421.
- Cockell C.S., Kelly L.C., Marteinsson V. *Actinobacteria* – an ancient phylum active in volcanic rock weathering. *Geomicrobiol. J.* 2013; 30:706-720. DOI 10.1080/01490451.2012.758196.
- DeLong E.F. Archaea in coastal marine environments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1992;89:5685-5689. DOI 10.1073/pnas.89.12.5685.
- Ecological Atlas of Lake Baikal Basin. Irkutsk, 2015.
- Gordon R.E., Bennett D.A., Handerhan J.E., Pang C.H. *Nocardia coeliaca*, *Nocardia autotrophica*, and the nocardin strain. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1974;24:54-63.
- Hazarika S.N., Thakur D. Actinobacteria. In: Amasesan N., Senthil Kumar M., Annapurna K., Kumar K., Sankaranarayanan A. (Eds.) Beneficial Microbes in Agro-Ecology. Cambridge, 2020;443-476. DOI 10.1016/B978-0-12-823414-3.00021-6.
- Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33:1870-1874.
- Kurapova A.I., Zenova G.M., Sudnitsyn I.I., Kizilova A.K., Manucharova N.A., Norovsuren Zh., Zviagintsev D.G. Thermotolerant and thermophilic Actinomycetes from soils of Mongolia desert steppe zone. *Microbiology*. 2012;81:98-108. DOI 10.1134/S0026261712010092.
- Labeda D.P., Goodfellow M., Brown R., Ward A.C., Lanoot B., Vannanneyt M., Swings J., Kim S.-B., Liu Z., Chun J., Tamura T., Oguchi A., Kikuchi T., Kikuchi H., Nishii T., Tsuji K., Yamaguchi Y., Tase A., Takahashi M., Sakane T., Suzuki K.I., Hatano K. Phylogenetic study of the species within the family *Streptomycetaceae*. *Anton. Leeuw. Int. J.* 2012;1(101):73-104.
- Lechevalier M.P. Ecological associations involving actinomycetes. In: Schaal K., Pulverer G. (Eds.) Actinomycetes. Stuttgart, New York, 1981;159-166.
- Leo V.V., Asem D., Zothanpuia, Singh B.P. Actinobacteria: a highly potent source for holocellulose degrading enzymes in Actinobacteria. In: New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering. 2018;191-205. DOI 10.1016/b978-0-444-63994-3.00013-8.
- Manucharova N.A., Belova E.V., Polyanskaya L.M., Zenova G.M. A chitinolytic actinomycete complex in chernozem soil. *Microbiology*. 2004;73(1):56-59.
- McCarthy A.J., Williams S.T. Actinomycetes as agents of biodegradation in the environment – a review. *Gene*. 1992;115(1-2):189-192.
- Mohammadipahan F., Wink J. *Actinobacteria* from arid and desert habitats: diversity and biological activity. *Front. Microbiol.* 2016;6:1-10.
- Nikitina E., Liu S.W., Li F.N., Buyantueva L., Abidueva E., Sun C.H. *Glycomyces buryatensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from steppe soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2020;70:1356-1363. DOI 10.1099/ijsem.0.003923.
- Shirling E.B., Gottlieb D. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1966;16(3):313-340.
- Urbano S.B., Albarracin V.H., Urbano O.F., Farias M.E., Alvarez H.M. Lipid storage in high-altitude Andean Lakes extremophiles and its mobilization under stress conditions in *Rhodococcus* sp. A5, a UV-resistant actinobacterium. *Extremophiles*. 2013;17(2):217-227. DOI 10.1007/s00792-012-0508-2.
- Ventura M., Canchaya C., Tauch A., Chandra G., Fitzgerald G.F., Chater K.F., van Sinderen D. Genomics of *Actinobacteria*: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2007;71(3):495-548.
- Wang C., Dong D., Wang H., Muller K., Qin Y., Wang H., Wu W. Metagenomic analysis of microbial consortia enriched from compost: new insights into the role of Actinobacteria in lignocellulose decomposition. *Biotechnol. Biofuels*. 2016;9:22. DOI 10.1186/s13068-016-0440-2.
- Williams S.T., Goodfellow M., Alderson G., Wellington E.M.H., Sneath P.H.A., Sackin M.J. Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. *J. Gen. Microbiol.* 1983;129:1743-1819.
- Wink J., Mohammadipahan F., Hamed J. (Eds.) Biology and Biotechnology of Actinobacteria. Berlin: Springer, 2017. DOI 10.1007/978-3-319-60339-1.
- Wu C.Y., Zhuang L., Zhou S.G., Li F.B., He J. *Corynebacterium humireducens* sp. nov., an alkaliphilic, humic acid-reducing bacterium isolated from a microbial fuel cell. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2011;61:882-887. DOI 10.1099/ijms.0.020909-0.
- Xie F., Pathom-aree W. Actinobacteria from desert: diversity and biotechnological applications. *Front. Microbiol.* 2021;12:765531. DOI 10.3389/fmicb.2021.765531.
- Xu P., Li W.J., Tang S.K., Zhang Y.Q., Chen G.Z., Chen H.H., Xu L.H., Jiang C.L. *Naxibacter alkalitolerans* gen. nov., sp. nov., a novel member of the family *Oxalobacteraceae* isolated from China. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2005;55:1149-1153. DOI 10.1099/ijms.0.63407-0.
- Yaradoddi J.S., Kontro M.H., Banapurmath N.R., Ganachari S.V., Sulochana M.B., Hungund B.S., Kazi Z.K. Anilkumar S.K., Oli A. Extremophilic Actinobacteria. In: Yaradoddi J.S., Kontro M.H., Ganachari S.V. (Eds.) Actinobacteria. Rhizosphere Biology. Singapore: Springer, 2021;55-68. DOI 10.1007/978-981-16-3353-9_4(2021).
- Yoon S.H., Ha S.M., Kwon S., Lim J., Kim Y., Seo H., Chun J. Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole-genome assemblies. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2017;67(5):1613-1617. DOI 10.1099/ijsem.0.001755.
- Zenova G.M., Kurapova A.I., Zviagintsev D.G., Lysenko A.M. The structural-functional organization of thermotolerant complexes of actinomycetes in desert and volcanic soils. *Eurasian Soil Sci.* 2009; 42(5):531-535.
- Zhou S.Q., Huang X.L., Huang D.Y., Hu X. W., Chen J.L. A rapid method for extracting DNA from actinomycetes by Chelex-100. *Biotechnol. Bull.* 2010;2:123-125.
- Zviagintsev D.G., Dobrovolskaya T.G., Chernov I.Yu., Sardanashevili E.S., Gonchikov G.G., Korsunov V.M. The peculiarities of taxonomic composition of microbial complexes in soils of Baikal Region. *Eurasian Soil Sci.* 1999;6:732-737.

ORCID ID

E.P. Nikitina orcid.org/0000-0003-2431-8999
L.B. Buyantueva orcid.org/0000-0003-2942-4037

E.Yu. Abidueva orcid.org/0000-0001-6312-4076
C.H. Sun orcid.org/0000-0001-6813-8274

Благодарности. Работа выполнена частично при поддержке государственного задания ИОЭБ СО РАН № 121030100229-1.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 08.05.2022. После доработки 01.08.2022. Принята к публикации 03.08.2022.