

ОБЩАЯ  
БИОЛОГИЯ

УДК 591.94.593.1

ЖИЗНЕСПОСОБНЫЕ ПРОСТЕЙШИЕ  
В ПОЗДНЕПЛЕЙСТОЦЕНОВЫХ И ГОЛОЦЕНОВЫХ  
МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ

© 2005 г. А. В. Шатилович, Л. А. Шмакова, С. В. Губин, А. В. Гудков, Д. А. Гиличинский

Представлено академиком Ю.И. Черновым 17.08.2004 г.

Поступило 17.08.2004 г.

К настоящему времени установлен факт длительного сохранения жизнеспособных прокариотических организмов в природных условиях при постоянных отрицательных температурах. Так, в многолетнемерзлых отложениях, возраст которых составляет от нескольких сотен до нескольких миллионов лет, обнаружены жизнеспособные анаэробные и аэробные бактерии [1–4], цианобактерии, одноклеточные зеленые водоросли [5, 6], дрожжи [7], мицелиальные грибы [8]. Кроме того, найдены споры мхов и семена высших растений, способные к прорастанию после длительной криоконсервации [9].

Изучение сообществ жизнеспособных палео-организмов предоставляет уникальную возможность существенно продвинуться в понимании феномена сохранения жизни в криосфере в течение геологически значимого времени, исследовать явления криоанабиоза, психрофилии, а также особенностей экологии и эволюции организмов древних эпох. Понятно, что такого рода исследования были бы неполны без изучения различных представителей Protozoa, однако достоверные данные о наличии этих низших эукариот в многолетнемерзлых толщах в жизнеспособном состоянии до сих пор отсутствуют. В то же время, хорошо известно, что явление криптобиоза в различных его формах [10] весьма широко распространено среди современных представителей большинства макротаксонов простейших [11, 12].

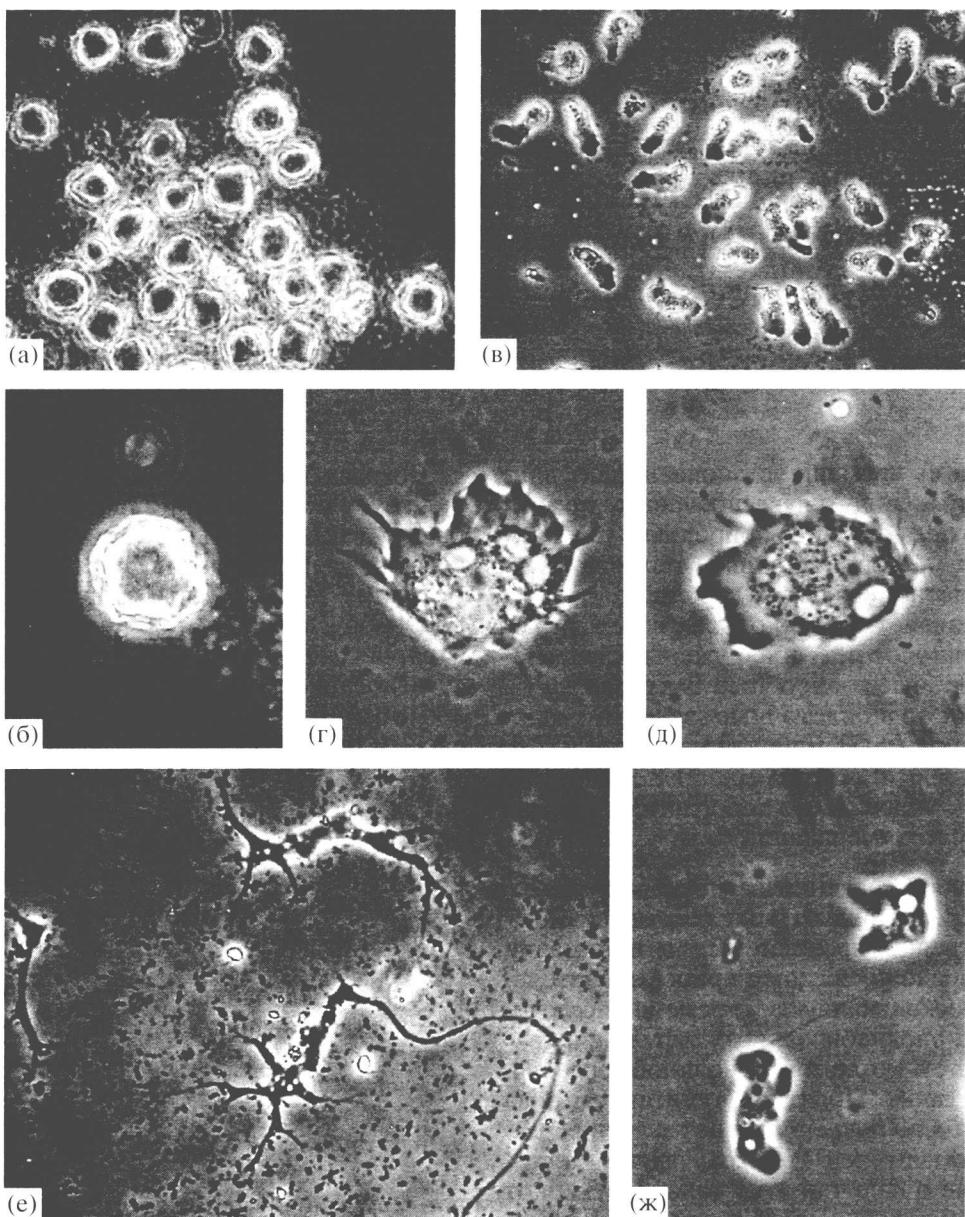
Цель настоящей работы заключалась в поиске и выделении жизнеспособных форм простейших из сингенетически промерзших отложений позднего плейстоцена и голоценов.

Возраст биоты в синкриогенных толщах соответствует возрасту слагающих их осадков, которые на заключительном отрезке позднего плейстоцена уверенно датируются радиоуглеродным методом. Возможность определения возраста биоты обусловила выбор позднеплейстоценовых синкриогенных отложений в качестве объекта исследований в восточном секторе Арктики (Колымская низменность и побережье моря Лаптевых – п-ов Быковский, мыс М. Чукчий).

В обнажении Станчиковский Яр на реке Малый Анюй исследовали позднеплейстоценовые отложения ледового комплекса возраста 28–35 тыс. лет, погребенные в них почвы и материал ископаемых нор грызунов. Ледовый комплекс (криопедолит) представлен пылеватым суглинком с тонкими единичными корнями травянистых растений, включает мельчайший растительный детрит, гумусовые соединения и проработан синлитогенным почвообразованием. Его льдистость достигает 40–80% за счет мощных ледяных жил и текстурообразующего льда. Погребенные почвы представлены торфяником и профилем перегнойно-торфянистой глеевой почвы, а материал ископаемых нор – смесью суглинка с измельченными остатками травянистой растительности, семенами высших растений, пометом грызунов и шерстью крупных животных. Норы расположены в толщах отложений на глубине 30–40 м, возраст их по данным радиоуглеродных датировок составляет 28 и 32 тыс. лет [13].

На п-ове Быковский и мысе М. Чукчий, помимо ледового комплекса (I-al Q<sub>III</sub>), представленного средним пылеватым суглинком с высокой льдистостью, достигающей 80–90% за счет ледяных жил, и насыщенного слаборазложившимся органическим веществом, исследованы озерно-болотные голоценовые (IQ<sub>IV</sub>) осадки мощностью 1–5 м, представленные легким пылеватым суглинком с преимущественно слоистыми криогенными текстурами и льдистостью 40–50% [14].

Образцы многолетнемерзлых отложений и погребенных в них почв отбирали из кернов, по-



**Рис. 1.** Некоторые виды амебоидных простейших из позднеплейстоценовых и голоценовых мерзлых отложений и поборенных в них почв. а, б – цисты; г–ж – трофозоиты. Фазово-контрастный микроскоп.

лученных при колонковом бурении, или из углублений в свежих мерзлых стенках обнажений с соблюдением условий стерильности. В полевых условиях образцы хранили при тех же температурах, что и в естественном залегании. Доставку и хранение образцов в лаборатории осуществляли с соблюдением необходимого температурного режима и стерильности [2, 3]. Все последующие манипуляции с образцами грунта и высеивом проб в чашки Петри проводили в микробиологическом боксе. В ходе экспериментов за стерильностью сред и посуды осуществляли постоянный контроль.

На начальных этапах исследования для выявления жизнеспособных простейших использовали метод накопительного культивирования на минеральных и питательных (с добавлением церофила) средах [15]. Чашки Петри с высеванными пробами содержали при комнатной температуре и дневном освещении, а также при 5°C в темноте. Найденные организмы отбирали в стерильных условиях и культивировали на жидких и агаризованных средах с добавлением различных пищевых объектов (в частности, бактерий *Escherichia coli* и *Klebsiella aerogenes*).

В результате проведенных исследований были обнаружены жизнеспособные представители прак-

тически всех основных групп Protozoa – различные голые амебы (рис. 1), гетеротрофные жгутиконосцы и инфузории. Простейшие присутствовали в 19 образцах позднеплейстоценовых и голоценовых мерзлых отложений, отобранных из 8 скважин с глубин до 19 м, и в 22 образцах материала криопедолита, погребенных почв и ископаемых нор грызунов, отобранных из позднеплейстоценовых отложений ледового комплекса Колымской низменности. Жгутиконосцы обнаружены в 78% "обитаемых" образцов мерзлых отложений, амебы – в 46% и инфузории – в 20%. Все выделенные простейшие характеризуются относительно мелкими размерами и способностью к формированию криптобиотических стадий в своем жизненном цикле, так называемых "resting-cysts", чрезвычайно устойчивых к воздействию самых различных неблагоприятных факторов внешней среды. Обнаруженные нами жизнеспособные цисты амеб (рис. 1а, б) и инфузорий обладают толстой, сложно организованной защитной оболочкой, состоящей из нескольких отдельных слоев. Следует отметить, что способность к формированию resting-cysts среди свободноживущих простейших наиболее характерна для представителей почвенной фауны [11].

Отмечена общая тенденция увеличения численности и видового разнообразия жизнеспособных простейших в образцах с высоким содержанием растительных остатков, что, по всей видимости, объясняется более благоприятными условиями криоконсервации и относительным исходным богатством фауны.

Жизнеспособные простейшие в многолетнемерзлых отложениях часто обнаруживались в первых (до 2.5) метрах от дневной поверхности. Глубина протаивания в районах исследований составляет 30–50 см, но в аномально жаркие годы может опускаться до 1 м, а при благоприятном сочетании условий и несколько глубже. Поэтому возраст простейших в кровле вечной мерзлоты не превышает десятков–сотен лет. Однако ниже этого уровня, в прочно сцепленных льдом толщах, влияние внешних факторов резко ограничено, отсутствуют водоносные горизонты и инфильтрация. Термодиффузия и миграция простейших с плёнками незамерзшей воды также практически невозможны, так как их размеры несопоставимо больше толщины пленок, которая составляет около  $10^{-3}$  мкм. Наличие мощных жильных льдов является прямым доказательством того, что вмещающие их породы никогда не оттаивали, т. е. обнаруженная биота не могла проникнуть в толщи вследствие их протаивания. Она также не могла быть привнесена извне в процессе бурения, так как методика стерильного отбора керна апробирована при микробиологических исследованиях мерзлых толщ [2, 3]. На основании изложенного можно заключить, что обнаруженные нами в многолетнемерзлых толщах жизнеспособные виды Protozoa находились в них *in situ*.

Таким образом, в результате проведенного исследования впервые получены данные, свидетельствующие о способности простейших, принадлежащих к совершенно различным макротаксонам, к длительному (десятки тысяч лет) сохранению жизнеспособности в условиях многолетнемерзлых отложений, погребенных в них почв и других палеоэкологических объектов. Более того, на основании предварительных наблюдений можно заключить, что в ходе дальнейших исследований будет выявлено значительное видовое разнообразие представителей этой важнейшей группы низших эукариот.

Наряду с вопросами палеоэкологии и эволюции организмов изучение жизнеспособных простейших на клеточном уровне представляет очевидный теоретический и практический интерес для понимания адаптационных механизмов продления жизни, сохранения биоразнообразия на Земле, а, возможно, и за ее пределами.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Звягинцев Д.Г., Гиличинский Д.А., Хлебникова Г.М. и др. // Микробиология. 1990. Т. 59. Вып. 3. С. 491–498.
2. Viable Microorganisms in Permafrost / Ed. D. Gilichinsky. Pushchino: Pushchino Research Centre, 1994. P. 115.
3. Shi T., Reeves R., Gilichinsky D. et al. // Microbiol. Ecol. 1997. № 33. P. 169–179.
4. Соина В.С., Воробьева Е.А., Мешкова Н.В. // В сб.: Труды I Международной конференции "Криопедология". Пущино. 1992. С. 229–232.
5. Вишневецкая Т.А., Ерохина Л.Г., Гиличинский Д.А. и др. // Криосфера Земли. 1997. Т. 1. № 2. С. 71–76.
6. Ерохина Л.Г., Спирина Е.С., Шатилович А.В. и др. // Микробиология. 2000. Т. 69. № 6. С. 751–756.
7. Дмитриев В.В., Гиличинский Д.А., Файзутдинова Р.Н. и др. // Микробиология. 1997. Т. 65. № 5. С. 655–661.
8. Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е., Карапев С.Г. и др. // Микробиология. 2001. Т. 70. № 3. С. 412–420.
9. Яшина С.Г., Губин С.В., Шабаева Э.В. и др. В кн.: Консервация генетических ресурсов. Пущино. 1998. С. 229–232.
10. Clegg J.S. // Comp. Biochem. and Physiol. 2001. V. 128. P. 613–624.
11. Hausmann K., Hülsmann N. Protozoology. Stuttgart; N.Y.: Thieme Publ., 1996.
12. Gutierrez J.C., Callejas S., Borniquel S. // Intern. Microbiol. 2001. V. 4. P. 151–157.
13. Губин С.В., Максимович С.В., Занина О.Г. // Криосфера Земли. 2001. Т. 5. № 2. С. 76–82.
14. Холодов А.Л., Ривкина Е.М., Гиличинский Д.А. и др. // Криосфера Земли. 2003. Т. 7. № 3. С. 3–12.
15. Page F.C. A New Key to Freshwater and Soil Gymnamoebae. Ambleside: Freshwater Biol. Ass. Publ., 1988.