

УДК 579.63:614.7

DOI: 10.17072/1994-9952-2020-2-120-127.

М. В. Кузнецова^{a,b}, М. Г. Маммаева^b, Л. В. Кириченко^b, М. А. Шишкин^a,
В. А. Демаков^a

^a «Институт экологии и генетики микроорганизмов» – филиал ФГБУН ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

^b Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия

СТРУКТУРА МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ НАЗЕМНЫХ СОЛЯНЫХ СООРУЖЕНИЙ ПЕРМСКОГО КРАЯ

Изучено разнообразие микробных сообществ наземных соляных сооружений (НСС), расположенных в лечебно-профилактических и санаторно-курортных учреждениях Пермского края. Установлено, что абиотические соляные поверхности всех НСС контаминированы микроорганизмами, при этом выявлена достоверная разница между сильвинитовыми (86.5% положительных проб) и галитовыми (47.4%) сооружениями. Численность жизнеспособных клеток бактерий, в том числе стафилококков, также была выше в сильвинитовых сооружениях, чем в галитовых. На основании бактериологического исследования и анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК изолированные штаммы стафилококков отнесены к следующим видам: *Staphylococcus epidermidis* – 42.3% (n=11), *S. aureus* и *S. saprophyticus* – по 19.2% (n=5), *S. simulans* – 7.7% (n=2), и по одному штамму *S. cohnii urealyticum*, *S. hominis*, *S. warneri* – 3.8%. Видовой состав микробиоценозов поверхностей, определенный методом газовой хроматографии–масс-спектрометрии, включал представителей 18 родов, относящихся к трем крупным филумам Actinobacteria, Firmicutes и Proteobacteria. Actinobacteria были доминирующими в обоих типах НСС. Среди фирмикутов в сильвинитовых НСС преобладали представители рода *Clostridium* – 63.8% общего количества бактерий, тогда как в галитовых их было в два раза меньше – 32.1%. Содержание кокковой микробиоты, напротив, было почти в 3 раза выше в галитовых сооружениях. Выявленные количественные и качественные показатели микробиоты НСС дополняют представления о структуре микробных сообществ в условиях высокой соляной нагрузки и антропогенного влияния.

Ключевые слова: наземные соляные сооружения; микробиоценоз; газовая хроматография–масс-спектрометрия.

М. V. Kuznetsova^{a,b}, M. G. Mammaeva^b, L. V. Kirichenko^b, M. A. Shishkin^a,
V. A. Demakov^a

^a Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch RAS, Perm, Russian Federation

^b E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russian Federation

STRUCTURE OF MICROBIAL COMMUNITIES OF THE ARTIFICIAL SALT CONSTRUCTIONS OF THE PERM REGION

The diversity of microbial communities the artificial salt constructions (ASC) located in the medical-preventive and sanatorium institutions of the Perm region was studied. It was found that the surfaces of the abiotic salt of all ASC were contaminated with microorganisms, and a significant difference was found between the constructions of sylvinit (86.5% of positive samples) and halite (47.4%). The number of viable bacteria, as well as staphylococci, were also higher in sylvinit constructions than in halite ones. Based on bacteriological research and analysis of the 16S rRNA gene nucleotide sequences, the isolated staphylococcus strains belong to the following species: *Staphylococcus epidermidis* – 42.3% (n=11), *S. aureus* and *S. saprophyticus* – 19.2% (n=5), *S. simulans* – 7.7% (n=2) and one strain of *S. cohnii urealyticum*, *S. hominis*, *S. warneri* – 3.8%. The species composition of microbiocenoses formed on surfaces determined by gas chromatography–mass spectrometry included representatives of 18 genera belonging to the three main phylums: Actinobacteria, Firmicutes and Proteobacteria. Actinobacteria (*Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Nocardia*, *Propionibacterium*, *Rhodococcus*, etc.) were dominant in both groups ASC. Among Firmicutes, representatives of the genus *Clostridium* predominated in sylvinit ASC – 63.8% of the total number of bacteria, while in halite they were half as many – 32.1%. The content of coccid microbiota, in contrast, in halite constructions was almost 3 times higher than in sylvinit. Identified quantitative and qualitative indicators of the microbiota of the ASC complement the understanding of the constructions of microbial communities under conditions of high salt load and anthropogenic impact.

Key words: artificial salt constructions; microbiocenosis; gas chromatography–mass spectrometry.

Благодаря широкому разнообразию и совершенствованию механизмов выживания в окружающей среде микроорганизмы способны колонизировать различные малоприспособленные для существования эколо-

гические ниши [Engel, 2010]. Экстремальные среды с высокими или низкими значениями температуры, давления, кислотности, содержанием кислорода и т.п. являются «горячими точками» микробного «мегаэко-

нообразия» [Akhtar et al., 2008]. Возрастание интереса к изучению структуры сообщества микроорганизмов в условиях повышенного засоления среды, с одной стороны, вызвано необходимостью понимания механизмов их длительного выживания в «неростовых» высокоминерализованных природных или искусственных системах [Ventosa et al., 2014]. Другая причина обусловлена прикладным значением – возможностью выделения среди представителей галофильных и/или галотолерантных бактерий потенциально перспективных источников биологически активных соединений: ферментов, полимеров, органических веществ с противоопухолевой или антимикробной активностью [Akhtar et al., 2008; Chen et al., 2010; da Silva et al., 2015]. Например, галофильные микроорганизмы различных таксономических групп, продуцирующие вещества с цитотоксической активностью, выделены из образцов рассолов и твердых галогенных образований (отложений каменной соли) на руднике Сипакира (Ziraquirá, Колумбия) [Diaz-Cardenas et al., 2017]. Кроме того, отдельные штаммы или консорциумы солеустойчивых бактерий с высокой биодеградирующей активностью могут быть использованы для утилизации органических отходов, при разработке новых технологий очистки промышленных вод и стоков в условиях засоления [Пастухова и др., 2010; Ястребова, Кошелева, Плотникова, 2016].

Сегодня активно обсуждаются вопросы влияния антропогенного воздействия на микробиоценозы естественных или искусственных пещер [Kner et al., 2007; Kelly et al., 2009; Engel, 2010]. Обнаружение представителей нормальной или патогенной микробиоты человека, как правило, связывают с интенсивностью антропогенной нагрузки на подземное сооружение. Оказалось, что почти все карстовые источники в юго-западной части штата Иллинойс (США) имеют высокие показатели встречаемости представителей *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. [Kelly et al., 2009]. Известно, что соли обладают угнетающим действием на микроорганизмы, однако многими исследователями выявлена высокая обсемененность воздуха различных соляных сооружений. Ряд публикаций посвящены изучению распространения биологического фактора в подземных шахтах для добычи соли, солелечебницах, а также в санаторных зонах пещер [Akhtar et al., 2008; Frączek, Gorny, 2011; Frączek, Gorny, Ropek, 2013; Gebarowska et al., 2018].

В настоящее время, как в России, так и за рубежом, для лечения и профилактики различных видов соматических и инфекционных заболеваний широко применяются наземные соляные сооружения (НСС) [Sandu et al., 2011; Физиолого-гигиеническая ..., 2013; Rashleigh, Smith, Roberts, 2014; Zajac et al., 2014]. Воздушная среда и абиотические поверхности НСС, используемые для со-

лелитерапии пациентов с заболеваниями органов дыхательной системы, представляют искусственную экосистему, в которой могут накапливаться и персистировать бактерии антропогенного происхождения, обладающие природной солеустойчивостью [Федотова, Горовиц, Баранников, 2005]. Показано, что микробная контаминация воздуха во время сеанса солелитерапии составляет от 130–200 микроорганизмов на 1 м³ [Stirbu, Stirbu, Sandu, 2012]. Дальнейшее выживание микроорганизмов в этих условиях возможно, в первую очередь, на абиотических поверхностях данных сооружений, тем не менее, исследований, направленных на изучение биоразнообразия НСС, в доступной нам литературе не обнаружено.

Цель исследования – изучить структуру микробных сообществ, сформированных на соляных абиотических поверхностях НСС.

Материал и методы

Материал

За период 2017–2018 гг. исследованы 11 объектов, включающих 7 сильвинитовых и 4 галитовых НСС, расположенных в лечебно-профилактических и санаторно-курортных учреждениях Пермского края. Стены и пол шести сильвинитовых сооружений были облицованы шлифованными соляными блоками, одного – прессованной солеплиткой. Потолок всех сооружений выполнен из деревянных панелей с напылением из природного сильвинита. Галокамеры в основном были выполнены методом напыления соляного материала на ограждающие поверхности с его подсыпкой на пол. В одном из четырех галитовых сооружений для отделки стен и пола использовались шлифованные соляные блоки. Срок эксплуатации соляных сооружений варьировал от 5 месяцев до 24 лет и, в среднем, составлял для сильвинитовых – 11.1±2.8, для галитовых – 2.6±1.8 лет. Показатели всех гигиенических параметров НСС: уровень радиационного фона, концентрации легких отрицательных и положительных аэроионов, микроклимата были в пределах допустимых значений существующих нормативных документов для обоих типов сооружений.

Методы исследования

Для изучения микробного пейзажа образцы проб ($n = 71$, не менее шести для каждой камеры) отбирали с соляных поверхностей ($S = 0.5 \text{ м}^2$) сухим способом. Высевы проводили на универсальные (кровяной агар, среда Лурия-Бертани, «Amresco», США) и селективные (солевой агар с маннитом, среда Мак-Конки, среда Сабура, ООО «ЦФГС», Россия) агаризованные среды методом прямого посева. Уровень бактериальной обсемененности оценивали по

общему микробному числу (ОМЧ), отдельно учитывали количество стафилококков, представителей семейства Enterobacteriaceae и кандид. Идентификацию выделенных микроорганизмов осуществляли согласно Приказу МЗ СССР № 535 от 22.04.1985 г. Окончательную идентификацию штаммов стафилококков проводили на основании анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК, которую получали с использованием бактериальных праймеров 515F (5'-gtgccagcmgcccggtaa) и 1391R (5'-gacggcggtgwtgtrca), как описано [Baker et al., 2003], и определяли с применением набора реактивов Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit на автоматическом секвенаторе Genetic Analyser 3500XL («Applied Biosystems», США). Поиск гомологичных последовательностей производили по базе данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Реконструирование таксономического состава до рода/вида проводили после химического извлечения высших жирных кислот, альдегидов, стеридов и хроматографического разделения пробы методом газовой хроматографии–масс-спектрометрии (ГХ–МС) согласно [Верховцева, Осипов, 2008] с использованием системы Agilent 6890/5973N («Agilent», США). Липидные компоненты экстрагировали методом кислого метанолиза в 0.4 мл 1 М NaCl в метаноле в течение одного часа при температуре 80°C. Сухой остаток обрабатывали 20 мкл N,O-бис (триметилсилил)-трифторацетамида в течение 15 мин., затем 1–2 мкл полученной смеси разбавляли гексаном 1:1 и использовали для анализа. Хроматограммы снимали в режиме программирования температуры от 130 до 320°C со скоростью 5°C в мин. Для количественных измерений в качестве внутреннего стандарта использовали тридекааноат. Результаты анализировали с помощью штатной программы обработки данных и формировали рапорт о реконструированном по биохимическим маркерам составе микробного сообщества.

Статистический анализ данных проводили с использованием программ Microsoft Office Excel и STATISTICA 10. Показатели представлены в виде среднего арифметического и его ошибки ($M \pm m$). Достоверность различий средних величин определяли с помощью t -критерия при уровне достоверности $p < 0.05$. При сравнении качественных признаков для выявления статистически значимых различий определяли χ^2 или χ^2 с поправкой Йейтса.

Результаты и их обсуждение

Методом прямого посева установлено, что абиотические соляные поверхности всех сооружений были контаминированы микроорганизмами. Количество положительных проб варьировало от 20 до 100%, в среднем составив 76.1%, при этом выявлена достоверная разница между сильвинито-

выми (86.5%) и галитовыми (47.4%) сооружениями ($p = 0.0006$). Численность жизнеспособных клеток бактерий, адгезированных на поверхностях, в сильвинитовых сооружениях ($4.97E+03 \pm 1.32E+04$ КОЕ/м²) также была выше, чем в галитовых ($1.74E+02 \pm 1.68E+02$ КОЕ/м²). Уровень обсеменности стафилококками в сильвинитовых сооружениях составил 55.8% ($3.11E+02 \pm 2.32E+02$ КОЕ/м²), тогда как в галитовых – 10.5% (детектированы только в двух пробах), и разница была статистически значима ($p = 0.0007$). Энтеробактерии встречались в двух сильвинитовых сооружениях, и только в образцах, отобранных с поверхности пола. Жизнеспособные кандиды не выявлены ни в одной пробе.

Получены чистые культуры штаммов стафилококков ($n = 26$) и проведена их видовая идентификация. Большинство изолированных штаммов принадлежали к виду *Staphylococcus epidermidis*, в пяти сооружениях обнаружен *S. aureus*, в единичных пробах – *S. warneri*, *S. simulans*, *S. cohnii urealyticum* и *S. saprophyticus*. Идентификация отдельных штаммов стафилококков на основании анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК показала, что в пяти случаях (19.2%) видовая принадлежность не соответствовала бактериологической идентификации. В результате сравнения нуклеотидной последовательности амплифицированных фрагментов гена 16S рРНК изолятов и известных последовательностей гена 16S рРНК типовых штаммов стафилококков распределение выделенных бактерий оказалось следующим: *S. epidermidis* – 42.3%, *S. aureus* – 19.2%, *S. saprophyticus* – 19.2%, *S. simulans* – 7.7%, и по одному штамму *S. cohnii urealyticum*, *S. hominis*, *S. warneri* – 3.8%. Важно, что в настоящее время представители рода *Staphylococcus* и, в первую очередь, *S. aureus* рассматриваются как основные «индикаторные бактерии человека», наряду с эшерихиями и термотолерантными бациллами [Lavoie, Northup, 2006]. Микробиологический анализ, проведенный польскими учеными в двух соляных шахтах «Величка» («Wieliczka») и «Польковице-Серошовице» («Polkowice-Sieroszowice»), одна из которых является старейшей туристической достопримечательностью и спелеолечебницей, а другая – современной промышленной шахтой, выявил, что содержание отдельных видов стафилококков, в частности *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* или *S. saprophyticus*, от общего количества бактерий и грибов в шахтах составляет от 1 до 5% [Gebarowska et al., 2018]. Кроме того, штаммы различных видов стафилококков, за исключением *S. saprophyticus*, были выделены в лечебнице «Соляные копи Бохня» («Kopalnia Soli Bochnia», Польша) [Frączek, Gorny, Ropek, 2013], хотя необходимо отметить, что в упомянутых работах куль-

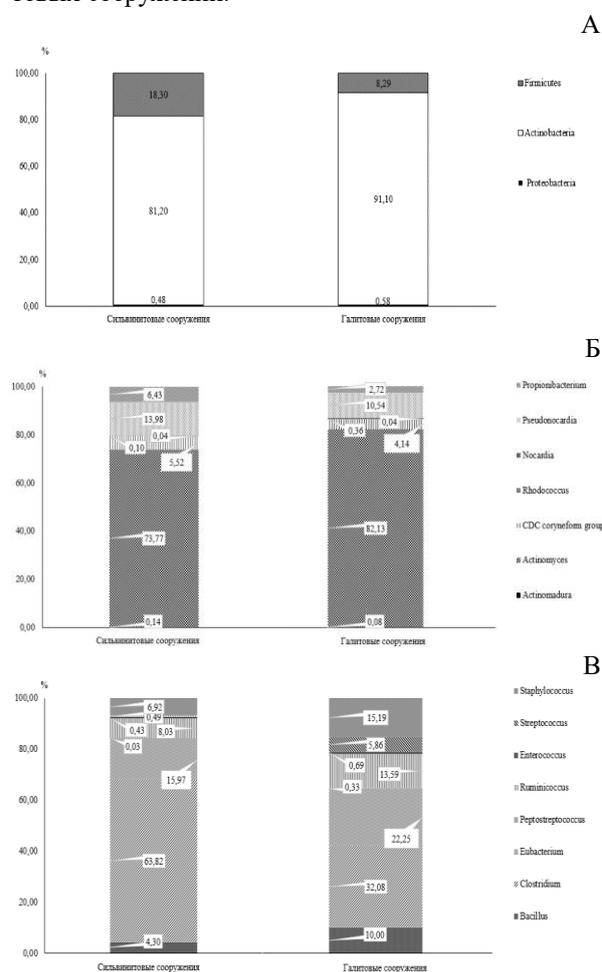
туры изолировали из воздушной среды подземных соляных сооружений. В данном исследовании мы получили сходные показатели и по видовому составу, и по показателю обсемененности: в сильвинитовых сооружениях доля стафилококков от общего количества микроорганизмов (показатель ОМЧ) составила 4.2, в галитовых – 2.3%. Обращает внимание, что *S. aureus* был выделен только в сооружениях из сильвинита.

Культуральные методы, помимо явных преимуществ (простота выполнения, доступность используемых средств, экономичность) имеют ряд недостатков, связанных с отсутствием универсальной питательной среды, на которой могли бы расти все микроорганизмы, представленные в данной пробе. Кроме этого, большинство микроорганизмов являются некультивируемыми, и, как следствие, малоизученными. Чтобы обойти некоторые ограничения традиционных методик, исследователи используют молекулярные методы, основанные на выделении и анализе нуклеиновых кислот (в основном ДНК) или маркеров клеточной стенки (жирных кислот, альдегидов, спиртов и т.д.) из различных образцов без культивирования микроорганизмов [Верховцева, Осипов, 2008; Engel, 2010].

По данным ГХ–МС, в отличие от метода прямого высева, общее количество микроорганизмов было существенно выше и достоверно не различалось: $1.84E+08 \pm 7.73E+07$ и $1.46E+08 \pm 6.46E+07$ клеток/м² в сильвинитовых и галитовых сооружениях, соответственно. Анализ видового состава позволил определить представителей 18 родов, относящихся к трем крупным филумам Actinobacteria, Firmicutes и Proteobacteria (рисунок, А). Актинобактерии (*Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Nocardia*, *Propionibacterium*, *Rhodococcus* и др.) были доминирующими в обеих группах: 81.2% в сильвинитовых и 91.1% в галитовых сооружениях (рисунок, Б). Среди фирмикутов в сильвинитовых НСС преобладали представители рода *Clostridium* (*C. ramosum*, *C. propionicum*) – 63.8% от общего количества бактерий, тогда как в галитовых их было в два раза меньше – 32.1% (рисунок, В).

Содержание кокковой микробиоты, напротив, было почти в 3 раза выше в галитовых НСС (21.1%), чем в сильвинитовых (7.4%). Бактерии рода *Staphylococcus* обнаружены во всех соляных сооружениях, представители *Streptococcus* – в семи из десяти. Протеобактерии выявлены почти в 30% проб, но их доля в микробном спектре не превышала 0.6% от всех микроорганизмов. Более того, детектированы маркеры представителей только 4 таксонов, при этом бактерии родов *Alcaligenes* и *Campylobacter* обнаружены только в сильвинитовых НСС. В целом можно отметить, что в сильвинитовых НСС структура микробного сообщества

более разнообразная, чем в галитовых. Это может быть связано с более благоприятными условиями для выживания бактерий, так как соли K⁺ менее токсичны для прокариотов, чем соли Na⁺, а также с более длительным сроком эксплуатации сильвинитовых сооружений.



Доли филумов в структуре микробных сообществ НСС (А) и таксономическое распределение представителей внутри филумов Actinobacteria (Б) и Firmicutes (В)

Принимая во внимание отличающиеся условия и методы, использованные для характеристики микробных сообществ в других исследованиях, можно констатировать, что биоразнообразие НСС было существенно меньше, чем принято обнаруживать в соленых озерах [Han et al., 2017], природных пещерах [Engel, 2010] или соляных шахтах [Chen et al., 2007; Diaz-Cardenas et al., 2017]. В большинстве исследований по изучению микробиоценозов в высокоминерализованных средах филумы Actinobacteria, Firmicutes и Proteobacteria являлись доминантными, но их распределение существенно различалось [Chen et al., 2010; Frączek, Gorny, 2011; Claverías et al., 2015; Diaz-Cardenas et al., 2017; Han et al., 2017]. По мнению некоторых ученых, бациллы представляют группу микроорга-

низмов, которая более распространена в соленосодержащих средах по сравнению с другими таксономическими группами [Akhtar et al., 2008; Diaz-Cardenas et al., 2017]. Биоаэрозольный состав в соляных сооружениях также может способствовать преимущественному распространению осмолеерантных бактерий, таких как *Bacillus* spp. и различные представители семейства *Micrococcaceae* [Akhtar et al., 2008; Frączek, Gorny, Ropek, 2013; Gebarowska et al., 2018]. В нашем исследовании доля представителей родов *Bacillus* и *Micrococcus* оказалась существенно меньше, чем в природных экосистемах или искусственных соляных шахтах. Более значимое представительство отмечено у кластридий, некоторые виды которых входят в состав нормофлоры человека. Что касается протеобактерий, наиболее многочисленной и распространенной в соляных шахтах группе бактерий [Chen et al., 2007; Diaz-Cardenas et al., 2017; Han et al., 2017], то они практически не встречались на абиотической поверхности исследованных НСС, а их доля не превышала 0.6% от общего числа микроорганизмов. Доминирующими обитателями в обоих типах сооружений оказались представители рода *Actinomyces*. Эти микроорганизмы широко распространены в почве и воде, могут выявляться в воздухе как индикаторы загрязнения рабочей и жилой среды. Считается, что их появление в закрытых пространствах связано с повышенной влажностью воздуха [Frączek, Kozdroj, 2013]. Они были обнаружены в большом количестве в соляных шахтах различных регионов мира, а их доля в общем объеме бактерий варьировала от 2 до 15% [Xiao et al., 2007; Diaz-Cardenas et al., 2017; Gebarowska et al., 2018]. Выявленное нами доминирование актинобактерий и, в первую очередь, рода *Actinomyces*, которые являются сапрофитами человека и в этом качестве обнаруживаются в ротовой полости, тонзиллярных «пробках», верхних дыхательных путях, бронхах и других биотопах, также может служить показателем того, что человеческий фактор является определяющим при формировании микробиоценоза НСС.

Заключение

Естественные или искусственно созданные подземные и наземные соляные сооружения часто специализируются на лечении заболеваний органов дыхания, таких как хронические инфекции верхних и нижних дыхательных путей, аллергия, астма, бронхоэктатическая болезнь. Существует широкое медицинское свидетельство того, что условия внутренней среды в этих сооружениях оказывают полезное влияние на здоровье человека, особенно в случае респираторных заболеваний. Благодаря бактериостатическому эффекту соли, количество и видовой состав микроорганизмов в

соляных сооружениях существенно отличаются от других биотопов. Способность бактерий колонизировать абиотические соляные поверхности и сохраняться в НСС ранее не изучалась.

Метод ГХ–МС позволил реконструировать таксономический состав сильвинитовых и галитовых НСС. Идентифицированы представители 18 родов, отнесенные к филумам Actinobacteria, Firmicutes, Proteobacteria, доли которых не различались в двух группах. Полученные данные о значительной численности представителей *Actinomyces*, обитающих на соляных абиотических поверхностях НСС, позволяют предположить, что они могут быть тем пулом клеток, который «помогает» другим бактериям сохраняться в жизнеспособном состоянии в условиях высокоминерализованной среды. Выявленные количественные и качественные показатели микробиоты соляных сооружений дополняют представления о структуре микробных сообществ в условиях высокой соляной нагрузки и антропогенного влияния. На наш взгляд, большой массив исходных данных о микробной структуре НСС позволит лучше понять распределение микроорганизмов в этой среде обитания и выявить отличительные микробные группы, составляющие постоянных и транзитных участников экосистемы. В медицинском аспекте, бактериологическим методом выявлена высокая выживаемость как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий в условиях повышенной солености. Обнаружена высокая обсемененность поверхностей жизнеспособными стафилококками, включая патогенный *S. aureus*, которые являются возбудителями оппортунистических инфекций, что необходимо учитывать при разработке методов оптимизации факторов внутренней среды НСС.

Работа выполнена в рамках государственного задания АААА-А19-119112290009-1.

Библиографический список

- Верховцева Н.В., Осипов Г.А. Метод газовой хроматографии-масс-спектрометрии в изучении микробных сообществ почв агроценоза // Проблемы агрохимии и экологии. 2008. № 1. С. 51–54.
- Пастухова Е.С. и др. Бактерии-деструкторы ортофталевой кислоты, выделенные из отходов калийного производства // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2010. Вып. 3. С. 253–262.
- Федотова М.Ю., Горовиц Э.С., Баранников В.Г. Особенности микрофлоры воздушной среды соляных микроклиматических палат // Пермский медицинский журнал. 2005. Т. 22, № 3. С. 118–121.

- Физиолого-гигиеническая концепция спелеосолелечения / под ред. В. А. Чершнева и др. Екатеринбург, 2013. 183 с.
- Ястребова О.В., Кошелева И.А., Плотникова Е.Г. Структурно-функциональная характеристика бактериального консорциума, выделенного из техногенных почв верхнекамского месторождения солей // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2016. Вып. 3. С. 253–262.
- Akhtar N. et al. Biodiversity and phylogenetic analysis of culturable bacteria indigenous to Khewra salt mine of Pakistan and their industrial importance // *Brazilian Journal of Microbiology*. 2008. Vol. 39, № 1. P. 143–150.
- Baker G.C. et al. Review and reanalysis of domain-specific 16S primers // *Journal of Microbiological Methods*. 2003. Vol. 55, № 3. P. 541–555
- Chen Y.G. et al. Phylogenetic diversity of culturable bacteria in the ancient salt deposits of the Yipinglang Salt Mine, P.R. China // *Acta Microbiologica Sinica*. 2007. Vol. 47, № 4. P. 571–577.
- Chen L. et al. Phylogenetic analysis and screening of antimicrobial and cytotoxic activities of moderately halophilic bacteria isolated from the Weihai Solar Saltern (China) // *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 2010. Vol. 26, № 5. P. 879–888. doi: s11274-009-0247-4
- Claverías F.P. et al. Culturable diversity and antimicrobial activity of Actinobacteria from marine sediments in Valparaíso bay, Chile // *Frontiers in Microbiology*. 2015. Vol. 6, № 737. P. 1–11. doi: 10.3389/fmicb.2015.00737
- da Silva F.S. et al. Unexplored Brazilian oceanic island host high salt tolerant biosurfactant-producing bacterial strains // *Extremophiles*. 2015. Vol. 19, № 3. P. 561–572. doi:10.1007/s00792-015-0740-7.
- Diaz-Cardenas C. et al. Microbial diversity of saline environments: searching for cytotoxic activities // *AMB Express*. 2017. № 7. P. 223.
- Engel A.S. Microbial Diversity of Cave Ecosystems // *Geomicrobiology: Molecular and Environmental Perspective*. 2010. P. 219–238.
- Frączek K., Gorny R.L. Microbial air quality at Szczawnica sanatorium, Poland // *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2011. Vol. 18, № 1. P. 63–71.
- Frączek K., Gorny R.L., Ropek D. Bioaerosols of subterranean therapy chambers at salt mine health resort // *Aerobiologia*. 2013. Vol. 29, № 4. P. 481–493.
- Frączek K., Kozdroj J. Assessment of airborne Actinomycetes in subterranean and earth sanatoriums // *Ecological Chemistry and Engineering S*. 2013. Vol. 20, № 1. P. 151–161.
- Gebarowska E. et al. Comparative analysis of airborne bacteria and fungi in two salt mines in Poland // *Aerobiologia*. 2018. Vol. 34, № 2. P. 127–138.
- Han R. et al. Microbial community structure and diversity within hypersaline Keke Salt Lake environments // *Canadian Journal of Microbiology*. 2017. Vol. 63, № 11. P. 895–908. doi: 10.1139/cjm-2016-0773.
- Ikner L.A. et al. Culturable microbial diversity and the impact of tourism in Kartchner Caverns, Arizona // *Microbial Ecology*. 2007. Vol. 53, № 1. P. 30–42.
- Kelly W.R. et al. Bacteria contamination of groundwater in a mixed land-use karst region // *Water Quality, Exposure and Health*. 2009. Vol. 1, № 2. P. 69–78.
- Lavoie K.H., Northup D.E. Bacteria as indicators of human impact in caves // In: Rea GT (ed) 7th National Cave and Karst Management Symposium, Proceedings. NICKMS Steering Committee, Albany, NY. 2006. P. 40–47.
- Rashleigh R., Smith S.M., Roberts N.J. A review of halotherapy for chronic obstructive pulmonary disease // *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*. 2014. Vol. 9. P. 239–246.
- Sandu I. et al. The effects of salt solions on the health of human subjects // *Present Environment and Sustainable Development*. 2011. Vol. 5, № 2. P. 67–88.
- Stirbu C., Stirbu C., Sandu I. Impact assessment of saline aerosols on exercise capacity of athletes // *Procedia – Social and Behavioral Sciences*. 2012. Vol. 46. P. 4141–4145.
- Ventosa A. et al. The Santa Pola saltern as a model for studying the microbiota of hypersaline environments // *Extremophiles*. 2014. V. 18. P. 811–824.
- Xiao W. et al. Prokaryotic microbial diversity of the ancient salt deposits in the Kunming Salt Mine, P.R. China // *Acta Microbiologica Sinica*. 2007. Vol. 47, № 2. P. 295–300.
- Zajac J. et al. Salt caves as simulation of natural environment and significance of halotherapy // *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2014. Vol. 1, № 21. P. 124–127.

References

- Akhtar N. et al. Biodiversity and phylogenetic analysis of culturable bacteria indigenous to Khewra salt mine of Pakistan and their industrial importance. *Brazilian Journal of Microbiology*. V. 39, N 1 (2008): pp. 143-150.
- Baker G.C. et al. Review and reanalysis of domain-specific 16S primers. *Journal of Microbiological Methods*. V. 55, N 3 (2003): pp. 541-555.
- Chen Y.G. et al. Phylogenetic diversity of culturable bacteria in the ancient salt deposits of the Yiping-

- lang Salt Mine, P.R. China. *Acta Microbiologica Sinica*. V. 47, N 4 (2007): pp. 571-577.
- Chen L. et al. Phylogenetic analysis and screening of antimicrobial and cytotoxic activities of moderately halophilic bacteria isolated from the Weihai Solar Saltern (China). *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. V. 26, N 5 (2010): pp. 879-888. doi: s11274-009-0247-4
- Chereshnev V.A. et al. *Fiziologo-gigieničeskaja koncepcija speleo-solelečeniya* [Physiological and hygienic concept of speleo-salting]. Ekaterinburg, RIO UrO RAN Publ., 2013. 183 p. (In Russ.).
- Claverías F.P. et al. Culturable diversity and antimicrobial activity of Actinobacteria from marine sediments in Valparaíso bay, Chile. *Frontiers in Microbiology*. V. 6, N 737 (2015): pp. 1-11. doi: 10.3389/fmicb.2015.00737
- da Silva F.S. et al. Unexplored Brazilian oceanic island host high salt tolerant biosurfactant-producing bacterial strains. *Extremophiles*. V. 19 N 3 (2015): pp. 561-572. doi:10.1007/s00792-015-0740-7.
- Diaz-Cardenas C. et al. Microbial diversity of saline environments: searching for cytotoxic activities. *AMB Express*. N 7 (2017): pp. 223.
- Engel A.S. Microbial Diversity of Cave Ecosystems. *Geomicrobiology: Molecular and Environmental Perspective*. (2010): pp. 219-238.
- Fedotova M.Yu., Gorovic E.S., Barannikov V.G. [Osobennosti mikroflory vozdušnoy sredy solyan-yh mikroklimaticheskikh palat]. *Permskij medicinskij žurnal*. V. 22, N 3 (2005): pp. 118-121. (In Russ.).
- Frączek K., Gorny R.L. Microbial air quality at Szczawnica sanatorium, Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. V. 18, N 1 (2011): pp. 63-71.
- Frączek K., Gorny R.L., Ropek D. Bioaerosols of subterranean therapy chambers at salt mine health resort. *Aerobiologia*. V. 29, N 4 (2013): pp. 481-493.
- Frączek K., Kozdroj J. Assessment of airborne Actinomycetes in subterranean and earth sanatoriums. *Ecological Chemistry and Engineering S*. V. 20, N 1 (2013): pp. 151-161.
- Gebarowska E. et al. Comparative analysis of airborne bacteria and fungi in two salt mines in Poland. *Aerobiologia*. V. 34, N 2 (2018): pp. 127-138.
- Han R. et al. Microbial community structure and diversity within hypersaline Keke Salt Lake environments. *Canadian Journal of Microbiology*. V. 63, N 11 (2017): pp. 895-908. doi: 10.1139/cjm-2016-0773.
- Ikner L.A. et al. Culturable microbial diversity and the impact of tourism in Kartchner Caverns, Arizona. *Microbial Ecology*. V. 53, N 1 (2007): pp. 30-42.
- Kelly W.R. et al. Bacteria contamination of groundwater in a mixed land-use karst region. *Water Quality, Exposure and Health*. V. 1, N 2 (2009): pp. 69-78.
- Lavoie K.H., Northup D.E. Bacteria as indicators of human impact in caves. In: *Rea GT (ed) 7th National Cave and Karst Management Symposium, Proceedings. NICKMS Steering Committee, Albany, NY*. (2006). pp. 40-47.
- Pastuhova E.S. et al. [Bakterii-destruktorov ortofosfornoj kisloty, vydelennyye iz othodov kalijnogo proizvodstva]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 3 (2010): pp. 253-262. (In Russ.).
- Rashleigh R., Smith S.M., Roberts N.J. A review of halotherapy for chronic obstructive pulmonary disease. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*. V. 9 (2014): pp. 239-246.
- Sandu I. et al. The effects of salt solutions on the health of human subjects. *Present Environment and Sustainable Development*. V. 5, N 2 (2011): pp. 67-88.
- Stirbu C., Stirbu C., Sandu I. Impact assessment of saline aerosols on exercise capacity of athletes. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*. V. 46 (2012): pp. 4141-4145.
- Ventosa A. et al. The Santa Pola saltern as a model for studying the microbiota of hypersaline environments. *Extremophiles*. V. 18. (2014): pp. 811-824.
- Verhovceva N.V., Osipov G.A. [Metod gazovoj hromatografii-mass-spektrometrii v izuchenii mikrobnyyh soobshchestv pochv agrocenoza]. *Problemy agrohimii i ekologii*. N 1 (2008): pp. 51-54. (In Russ.).
- Xiao W. et al. Prokaryotic microbial diversity of the ancient salt deposits in the Kunming Salt Mine, P.R. China. *Acta Microbiologica Sinica*. V. 47, N 2 (2007): pp. 295-300.
- Yastrebova O.V., Kosheleva I.A., Plotnikova E.G. [Strukturno-funkcional'naya harakteristika bakteriального консорциума, выделенного из техногенных почв верхнекамского месторождения солей] *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 3 (2016): pp. 253-262. (In Russ.).
- Zajac J. et al. Salt caves as simulation of natural environment and significance of halotherapy. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. V. 1, N 21 (2014): pp. 124-127.

Об авторах

Кузнецова Марина Валентиновна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии «ИЭГМ УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН профессор кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера» МЗ РФ
ORCID: 0000-0003-2448-4823
614081, Пермь, ул. Голева, 13; mar@iegm.ru

Маммаева Марьям Гасангусейновна, аспирант кафедры гигиены медико-профилактического факультета ФГБОУ ВО «ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера» МЗ РФ
ORCID: 0000-0003-4985-101X
614033, Пермь, ул. Петропавловская, 28; mammaeva.mg@yandex.ru

Кириченко Лариса Викторовна, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой гигиены медико-профилактического факультета ФГБОУ ВО «ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера» МЗ РФ
ORCID: 0000-0001-6306-1757
614033, Пермь, ул. Петропавловская, 28; lkv-7@yandex.ru

Шишкин Михаил Андреевич, кандидат геолого-минералогических наук, руководитель группы физико-химических исследований «ИЭГМ УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН
ORCID: 0000-0002-4177-178X
614081, Пермь, ул. Голева, 13; sma@iegm.ru

Демаков Виталий Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор, чл.-корр. РАН, директор, заведующий лабораторией молекулярной микробиологии и биотехнологии «ИЭГМ УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
ORCID: 0000-0002-3392-7553
614081, Пермь, ул. Голева, 13; demakov@iegm.ru; (342) 2807442

About the authors

Kuznetsova Marina Valentinovna, Doctor of Medicine, senior researcher of the Laboratory of Molecular Microbiology and Biotechnology Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS.
professor of the Department of Microbiology and Virology
E.A. Vagner Perm State Medical University.
ORCID: 0000-0003-2448-4823
15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990; 13, Golev str., Perm, Russia, 614081; mar@iegm.ru

Mammaeva Maryam Gasanguseynovna, post-graduate student of the Department of Hygiene of Medical-Preventive faculty
E.A. Vagner Perm State Medical University.
ORCID: 0000-0003-4985-101X
28, Petropavlovskaya str., Perm, Russia, 614033; mammaeva.mg@yandex.ru

Kirichenko Larisa Viktorovna, Doctor of Medicine, professor, Head of the Department of Hygiene of Medical-Preventive faculty
E.A. Vagner Perm State Medical University.
ORCID: 0000-0001-6306-1757
28, Petropavlovskaya str., Perm, Russia, 614033; lkv-7@yandex.ru

Shishkin Mihail Andreevich, Candidate of Geological and Mineralogical Sciences, Head of the Group of Physical and Chemical Research Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS.
ORCID: 0000-0002-4177-178X
13, Golev str., Perm, Russia, 614081; sma@iegm.ru

Demakov Vitaliy Alekseevich, Doctor of Medicine, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Head of the Laboratory of Molecular Microbiology and Biotechnology
Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS.
professor of the Department of Microbiology and Immunology
Perm State University.
ORCID: 0000-0002-3392-7553
13, Golev str., Perm, Russia, 614081; demakov@iegm.ru

Информация для цитирования:

Структура микробных сообществ наземных соляных сооружений Пермского края / М.В. Кузнецова, М.Г. Маммаева, Л.В. Кириченко, М.А. Шишкин, В.А. Демаков // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2020. Вып. 2. С. 120–127. DOI: 10.17072/1994-9952-2020-2-120-127.

Kuznetsova M.V., Mammaeva M.G., Kirichenko L.V., Shishkin M.A., Demakov V.A. [Structure of microbial communities of the artificial salt constructions of the Perm region]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologiya*. Iss. 2 (2020): pp. 120-127. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2020-2-120-127.

