

ORIGEN Y MECANISMOS DE LA RADIO-RESISTENCIA EN *Deinococcus radiodurans**

David Alcántara Díaz

Departamento de Biología, Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, Ocoyoacac, Estado de México, México, C.P. 52045. Correo E: david.alcantara@inin.gob.mx

RESUMEN

Durante la adaptación darwiniana a condiciones ambientales extremas, ocurre una selección natural de los organismos con mayores probabilidades de sobrevivir y reproducirse. Sin embargo, en el caso de la bacteria *Deinococcus radiodurans*, altamente resistente a radiación gamma y ultravioleta (UV), es difícil explicar cómo ocurrió esto en virtud de que en su hábitat natural nunca ha estado expuesta a los niveles de radiación suficientes para inducir el desarrollo de dicho fenotipo. Varias hipótesis han sido propuestas para explicar los mecanismos celulares que causan esta elevada resistencia a radiación así como las condiciones ambientales que probablemente propiciaron su aparición. Una de esas hipótesis propone que *D. radiodurans* estuvo expuesto a elevados niveles de radiación fuera de la Tierra, tal vez Marte, y que fue allí donde adquirió dicho fenotipo. Sin embargo, debido a las dificultades que presenta esta hipótesis para explicar cómo pudo realizar esta bacteria la travesía de ida y vuelta entre la Tierra y Marte, ha ocasionado que la hipótesis de que la elevada resistencia a radiación fue adquirida colateralmente como resultado de la adaptación a alguna condición ambiental extrema en su hábitat natural terrestre, sea la más aceptada.

ABSTRACT

During the process of Darwinian adaptation to extreme environmental conditions, natural selection of organisms more likely to survive and reproduce takes place. However, in the case of *Deinococcus radiodurans*, a highly resistant bacterium to both ionizing and non-ionizing radiation, it is difficult to explain how this happened because under natural conditions it has never been exposed to the radiation levels sufficient to create a selective pressure for the development of radiation resistance. Several hypotheses have been proposed to explain the cellular mechanisms causing its high resistance to gamma and UV radiation as well as the environmental conditions that likely gave rise to it. One such hypothesis is that *D. radiodurans* was exposed to high levels of radiation outside the Earth, perhaps on Mars, where this phenotype developed. However, the difficulties to explain how this bacterium could make the round trip between Earth and Mars have caused the preference of the idea that the high radiation resistance was acquired as a collateral consequence during adaptation to a different environmental situation in its terrestrial natural habitat.

PALABRAS

CLAVE:

Deinococcus radiodurans, Radiorresistencia, Panspermia.

KEY WORDS:

Deinococcus radiodurans, Radiation Resistance, Panspermia

Deinococcus radiodurans sobrevive a dosis de radiación ionizante que causan más de 1000 rupturas de la doble cadena de su ADN, daño que es absolutamente letal para la gran mayoría de los seres vivos. ¿Cómo surgió y evolucionó la notable resistencia a radiación de esta bacteria y otros

microorganismos afines? El origen de esta característica biológica ha sido difícil de explicar ya que la vida en la Tierra muy probablemente nunca ha estado expuesta a tales dosis extremas de radiación y por lo tanto no ha habido una presión selectiva para el desarrollo de ese fenotipo. Esto ha llevado

a los científicos a proponer diversas hipótesis que tratan de encontrar la razón de la alta resistencia a radiación de estos organismos, así como los mecanismos celulares que la causan. La más aceptada de ellas es la que considera a este fenómeno como resultado colateral de la adaptación a algún factor ambiental presente en el hábitat natural de esta bacteria, como por ejemplo la sequedad. Sin embargo, debido a que esta hipótesis presenta ciertas deficiencias, también se ha propuesto que esta característica podría ser explicada por la transferencia de seres vivos de un planeta a otro, fenómeno conocido como panspermia. En un artículo publicado en 2006, Pavlov y sus colaboradores analizan esta posibilidad, basándose en el hecho de que en el ambiente natural terrestre no existe una ventaja selectiva de este fenotipo.

Todos los seres vivos pertenecen a alguno de los tres grandes Dominios: *Archaea*, *Bacteria* y *Eucarya*. Dentro de esos tres Dominios se han encontrado organismos que muestran una elevada resistencia a radiación ionizante, siendo más abundantes en *Archaea* y *Bacteria*. En estos dos últimos grupos, los géneros *Pyrococcus*, *Deinococcus* y *Rubrobacter* muestran los niveles más elevados de radioresistencia y poseen además varias características que les permiten sobrevivir en una variedad de ambientes letales para muchos otros microorganismos. El más estudiado de ellos es *Deinococcus radiodurans* (Fig. 1), que también posee una alta resistencia a luz ultravioleta (UV), desecación y agentes oxidantes.

Esta bacteria fue descubierta accidentalmente en 1956, cuando se encontró que un alimento enlatado se había descompuesto a pesar de haber recibido 4000 Gy de radiación gamma, una dosis que se suponía era suficientemente alta como para eliminar a cualquier organismo viviente (1) (Fig. 2). De ese alimento se extrajo *Deinococcus radiodurans* y desde entonces ha sido objeto de una serie de estudios para dilucidar tanto los mecanismos que le confieren dicha resistencia como el origen de ella, en virtud de que en su hábitat natural nunca ha estado sometida a esos niveles de radiación y no ha habido, por lo tanto, una presión selectiva que favorezca la aparición de dicho carácter. En 1996, Mattimore y Battista (2) propusieron que esa característica era colateral a su adaptación a la desecación extrema en algún hábitat natural desconocido. La desecación produce, a través de la generación de ROS (Reactive Oxygen Species), rupturas de la doble cadena del ADN, similares a las producidas por la radiación ionizante. Estas lesiones, en las que ambas cadenas se rompen, deben ser reparadas porque de lo contrario causan la muerte celular. La reparación ocurre a través de

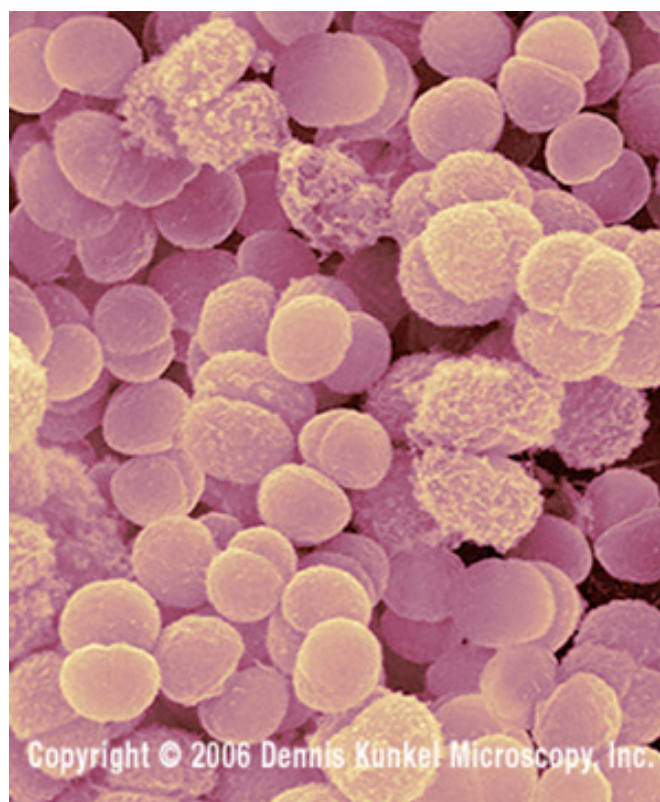


Figura 1. Células de *Deinococcus radiodurans* vistas bajo el microscopio electrónico de barrido.

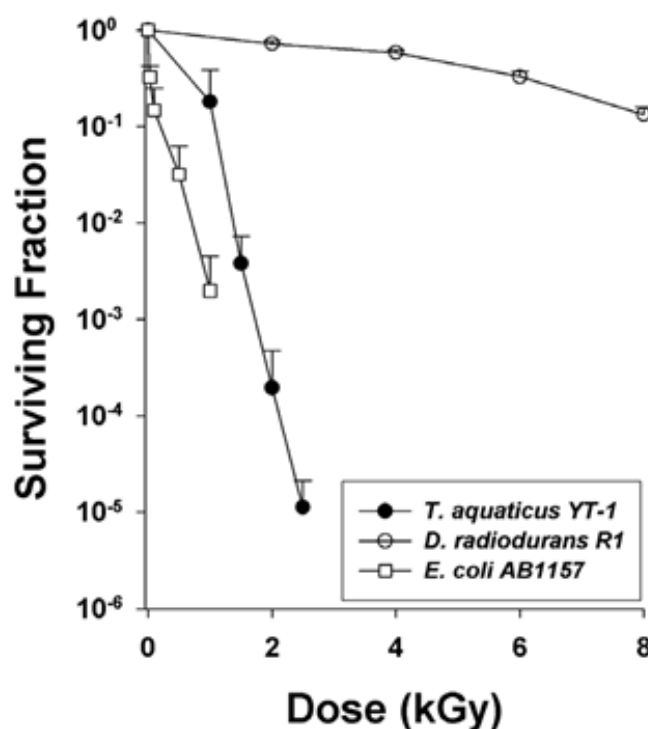


Figura 2. Supervivencia a radiación gamma de *Deinococcus radiodurans* en comparación con otras bacterias (Tomado de: Zimmerman JM y Battista JR: BMC Microbiol 2005 5:17).

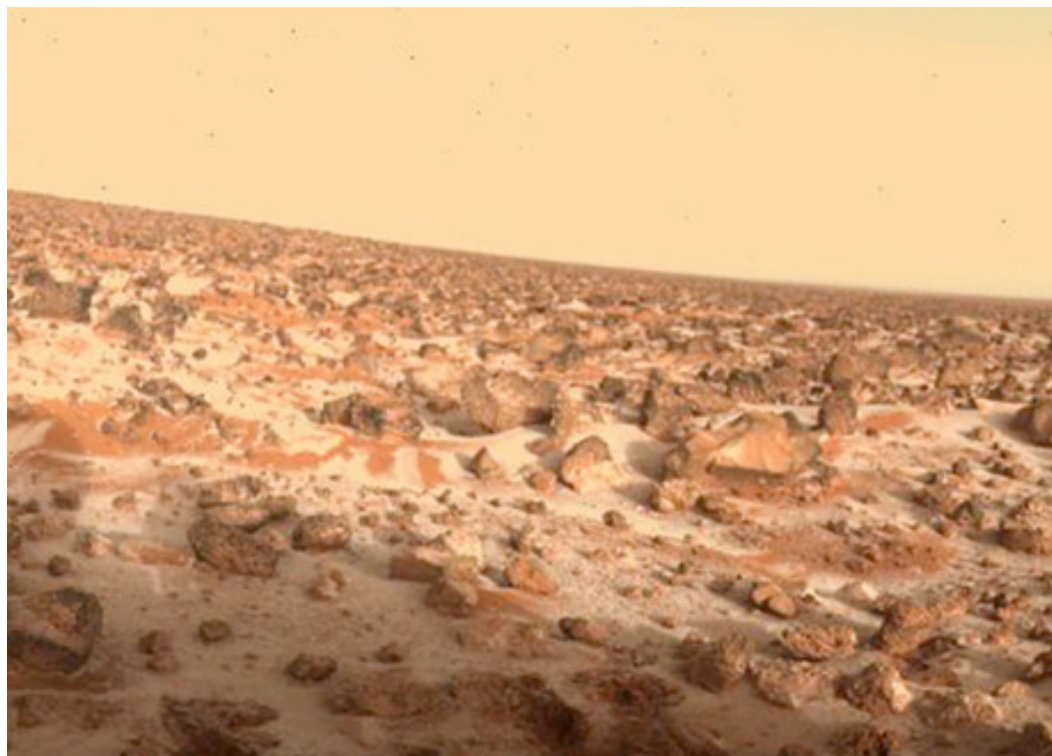


Figura 3.
La superficie
árida de
Marte. ¿Podría
*Deinococcus
radiodurans*
sobrevivir aquí y
ser transportada
a la tierra
dentro de algún
meteorito?. Foto
Viking Project,
NASA.

diferentes vías que unen nuevamente los extremos de las cadenas de ADN rotas y los autores suponen que la exposición prolongada a la desecación seleccionó mecanismos de reparación y/o protección más eficaces que trajeron consigo también una alta resistencia a radiación ionizante. Sin embargo, con esta hipótesis es difícil explicar por qué la bacteria es también resistente a luz UV, radiación que aunque también genera ROS, principalmente afecta al ADN de una manera muy diferente a la desecación. En apoyo de esto, se tienen por ejemplo evidencias de que una cepa de *E. coli* deficiente en un sistema de protección contra estrés oxidativo, no es significativamente más sensible a luz UV que una cepa normal (Serment J, Departamento de Biología, ININ, comunicación personal). Podría pensarse que en ciertos sitios áridos, como las zonas alpinas elevadas, existe una alta exposición a luz UV y que fue ahí donde adquirió la resistencia a este agente físico; sin embargo, resulta curioso que se han colectado cepas de *Deinococcus* de la tundra alpina que son sensibles tanto a radiación gamma como luz UV (3). Por otro lado, los mutantes de *D. radiodurans* que son sensibles a la desecación, siguen presentando la misma alta resistencia a radiación ionizante que las células no mutantes (4).

Aunque tradicionalmente se ha considerado que el daño más importante causado por la radiación es en el ADN, y que este daño debe ser reparado a fin de que la célula sobreviva, recientemente se

ha propuesto que la alta resistencia a radiación ionizante de *D. radiodurans* no es causada por mecanismos de reparación del ADN más eficientes ni por una mayor transcripción de los genes de reparación, sino por la acumulación intracelular de manganeso que, según los autores, protege a las proteínas pero no al ADN, del daño oxidativo causado por los radicales súperóxido generados por la radiación. De esta manera las enzimas que llevan a cabo la reparación del ADN pueden actuar inmediatamente sobre el daño causado por la radiación, sin que la célula tenga que sintetizar nuevas moléculas enzimáticas (5, 6). Aparte de que esta hipótesis no concuerda con uno de los principios fundamentales de la radiobiología, aquel que establece que el blanco celular más importante de la radiación es el ADN, no ofrece ninguna explicación de la alta resistencia a radiación UV de esta bacteria ni como se originó el fenotipo.

En vista de las dificultades anteriores algunos científicos han propuesto otra hipótesis, a primera vista un tanto descabellada, que sostiene que *D. radiodurans* permaneció largo tiempo fuera de la tierra, ya sea en el espacio exterior o en algún otro cuerpo del sistema solar, y que fue ahí donde adquirió la extrema resistencia a radiación (Fig. 3). El primero que mencionó esta posibilidad fue el famoso cosmólogo británico Fred Hoyle, autor de la Teoría del Estado Estacionario del Universo, quien en su libro "El Universo Inteligente" (7) nos dice que constantemente caen a la Tierra mi-

microorganismos provenientes de otros lugares del cosmos, en una especie de estado estacionario aplicado a los seres vivos y que precisamente la extrema resistencia a radiación es un claro indicio de la procedencia extraterrestre de esta bacteria. Ante la ausencia de evidencias que la sustenten, esa hipótesis no fue considerada seriamente por ningún científico. Sin embargo, más recientemente otros investigadores (8) han propuesto la hipótesis, quizá más razonable, de que en realidad las bacterias altamente radioresistentes provienen de Marte, y aunque es casi imposible comprobarla por el momento, merece ser considerada porque no sólo explicaría la alta resistencia a radiación ionizante, sino también la elevada resistencia a luz UV y agentes oxidantes, debido a que en Marte el flujo de luz UV es mucho más intenso, al carecer de una capa de ozono como la Tierra, y por la abundancia de agentes oxidantes como peróxidos y hierro en alto estado de oxidación, en la atmósfera y el suelo marcianos (9, 10). Desde luego, los autores de esta hipótesis no suponen que estas bacterias se originaron y evolucionaron independientemente de la vida terrestre, sino que son resultado del transporte de microorganismos entre la Tierra y Marte (Fig. 3).

Los argumentos que se pueden aportar en apoyo de esta hipótesis son los siguientes: Las fuentes naturales de radiación ionizante sobre la Tierra, emiten a niveles muy bajos, lo cual hace imposible producir las dosis agudas a las que esos organismos muestran resistencia. Se sabe que la radiación natural de fondo ha disminuido de 7 a 1.35 mGy/año durante el tiempo que la vida ha existido sobre la Tierra (11). A esa razón de dosis, *D. radiodurans* requeriría varios millones de años para acumular una dosis letal de radiación ionizante y por lo tanto, se tiene que pensar en alguna forma en que la bacteria pueda permanecer en estado latente por largos períodos de tiempo, durante los cuales la actividad metabólica fuera mínima y por lo tanto la reparación y duplicación del material genético no tuvieran lugar. En esas condiciones el genoma de las bacterias podría acumular una gran cantidad de lesiones debidas a la exposición continua a niveles altos de radiación. Esos prolongados períodos serían seguidos por otros más breves y metabólicamente activos en los que las células tendrían que reparar los daños acumulados, seleccionándose gradualmente mutantes espontáneos o inducidos por la misma radiación con mayor capacidad de reparación y eliminándose aquellas células que no pueden hacer frente a los daños acumulados en su material genético. Los autores dicen que esto debe ocurrir así porque de otra manera, si la

bacteria permaneciera metabólicamente activa, repararía constantemente los daños causados por la radiación sin dar oportunidad a la selección gradual de mutantes resistentes a radiación. De acuerdo con Pavlov, esto no puede suceder en la Tierra pero sí en Marte, donde la bacteria podría permanecer largos periodos de tiempo en estado latente acumulando altas dosis de radiación provenientes de los rayos cósmicos. Después de esos largos periodos de tiempo en estado latente, las bacterias se descongelarían, pero sólo aquellas que pudieran reparar la gran cantidad de daños acumulados en su ADN volverían a la vida durante un tiempo corto, después del cual nuevamente se congelarían por otro largo periodo de tiempo. Este tipo de ciclos sólo puede tener lugar de manera natural en Marte, donde las bacterias permanecerían congeladas en las regiones polares marcianas, a una temperatura aproximada de 100°C bajo cero por más de 10,000 años. Durante ese tiempo las bacterias acumularían una gran cantidad de lesiones en el ADN causadas por los rayos cósmicos, que en Marte son alrededor de 100 veces más intensos que en la Tierra al carecer de un campo magnético que los desvíe.

Pero, ¿qué es lo que causaría la descongelación cíclica de esas bacterias y su retorno al estado metabólicamente activo? Los autores suponen que esto sería causado por las oscilaciones periódicas que sufre Marte en la oblicuidad de su eje de rotación, que desplazaría las regiones polares a zonas más ecuatoriales donde recibirían una mayor cantidad de calor. Al cabo de un millón de años las bacterias habrían acumulado aproximadamente 100 de tales ciclos con el consecuente aumento en la resistencia a radiación mediante procesos de mutación y selección, de manera análoga a como ocurre artificialmente en el laboratorio al someter poblaciones bacterianas a ciclos de irradiación-crecimiento, ya sea con radiación ionizante (12, 13, 14) o luz ultravioleta. En este sentido, es interesante el experimento que se llevó a cabo en el laboratorio de Radiobiología Microbiana del ININ, donde 5 poblaciones isogénicas de *Escherichia coli* fueron expuestas a 80 ciclos de luz ultravioleta, alternados con períodos de crecimiento activo (15). Al final de esos 80 ciclos, las 5 poblaciones mostraron una mayor resistencia a UV, aunque no todas alcanzaron el mismo nivel. Tras el mapeo genético se observó que ese fenotipo se debe a mutaciones en diferentes genes de reparación y/o tolerancia al daño en el ADN.

Desde luego, aún quedan por resolver dos grandes problemas: uno es el relacionado a la subsistencia de *D. radiodurans* en un ambiente carente casi totalmente de agua y el otro es sobre

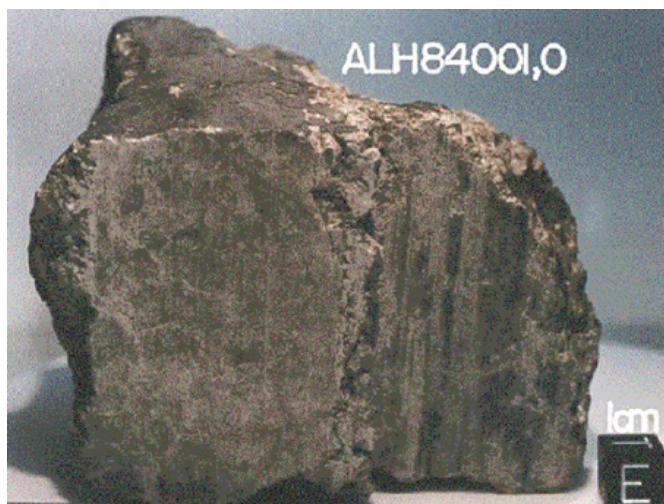


Figura 4. Meteorito ALH84001 proveniente de Marte. Meteoritos como éste son una prueba fehaciente de que el intercambio de fragmentos rocosos entre la Tierra y Marte, y tal vez entre la Tierra y otros planetas, ha ocurrido durante la historia del Sistema Solar. Foto: JSC, NASA.

cómo y por qué los microorganismos pueden ser transportados de un planeta a otro. En el primer caso, se ha sugerido que en rocas expuestas, una delgada capa de agua de tan sólo 3 moléculas de grosor podría ser suficiente para la actividad biológica (16). En el frío y árido Marte, capas de este espesor deben existir sobre hielo en etapas de pre-fusión o sobre minerales; cristales de sal, por ejemplo, podrían absorber la poca humedad que existe en la atmósfera de Marte y desarrollar una delgada capa de agua.

En cuanto al segundo problema, Pavlov y sus colaboradores presentan un posible mecanismo natural mediante el cual las bacterias podrían ser transportadas de Marte a la Tierra en el interior de fragmentos meteoríticos, expulsados desde la superficie por los grandes impactos de asteroides o cometas que han tenido lugar a lo largo de la historia de ambos planetas. Se calcula que aproximadamente 500 mil fragmentos meteoríticos han llegado a la tierra desde Marte durante los 3.8 billones de años que han transcurrido desde la aparición de la vida, en algunos de los cuales no se alcanzaron las altas temperaturas esterilizantes que sufren estos cuerpos durante su expulsión y reingreso a la atmósfera. Un ejemplo del intercambio de fragmentos rocosos entre la Tierra y Marte, es el denominado ALH84001, que fue encontrado en Allan Hills en la Antártida, el 27 de diciembre de 1984 (Fig.4). Se piensa que este fragmento rocoso fue expulsado de la superficie de Marte hace 4.5 billones de años por un impacto meteorítico

y que cayó sobre la superficie de la Tierra hace aproximadamente 13,000 años. Aunque el tiempo que este meteorito permaneció en el espacio exterior es demasiado largo para la subsistencia de cualquier forma de vida, es probable que el tiempo de traslado de otros meteoritos sea más corto y permita que algunos microorganismos puedan sobrevivir. Existe información de que es posible la sobrevivencia de células y esporas bacterianas por períodos de tiempo de hasta varios millones de años en ámbar, cristales de sal y aún en el tracto intestinal de fósiles de insectos (17, 18, 19).

De la misma manera, se piensa que alrededor de 100 mil fragmentos han llegado a Marte provenientes de la tierra y la hipótesis plantea que en alguno de esos intercambios meteoríticos, *D. radiodurans* y posiblemente otros microorganismos terrestres fueron exitosamente inoculados en la superficie o en el subsuelo de Marte, donde adquirieron alta resistencia a radiación ionizante, luz ultravioleta, desecación y agentes oxidantes. Esos microorganismos fueron posteriormente transportados de la misma manera de regreso a la tierra dentro de fragmentos meteoríticos expulsados desde el planeta rojo.

La presencia de características inusuales adicionales en el genoma de esos microorganismos apoyaría la hipótesis de que tuvieron un período de evolución lejos de sus contrapartes bacterianas terrestres. Sin embargo, hasta ahora la diferencia más importante observada, es un sistema inusual de reparación por recombinación que se ha denominado: *Renaturalización de Cadenas Dependiente de Síntesis Extensiva* (20, 21). Por otro lado, imágenes al microscopio electrónico sugieren que el genoma posee una morfología toroidal en la que dos o más cromosomas están permanentemente entrelazados en estructuras, que en otras bacterias sensibles a radiación sólo se forman transitoriamente durante la reparación o recombinación (22). Aunque esta característica ha sido cuestionada porque no se correlaciona con la resistencia a radiación en otras especies bacterianas, se supone que su presencia contribuiría eficazmente a la radioresistencia de *D. radiodurans* al evitar la disgregación del cromosoma múltiplemente fragmentado después de una dosis masiva de radiación.

¿Existe alguna evidencia de que las bacterias como *D. radiodurans* puedan soportar tanto la eyección como el reingreso a una atmósfera planetaria, así como las inhóspitas condiciones imperantes en el vacío del espacio interplanetario? La transferencia de seres vivos de un mundo a otro se conoce como panspermia y algunos científicos incluso han sugerido desde hace tiempo que la

vida no se originó en la tierra sino en otro lugar y después fue transportada a la tierra por algún meteorito, donde se desarrolló hasta alcanzar la gran diversidad actual (Fig. 5).

Hasta ahora, los experimentos han demostrado que sólo las esporas, estructuras que permiten sobrevivir a las bacterias en condiciones desfavorables, han resistido las condiciones del vacío interplanetario y las altas presiones que se producen tanto en la eyección de fragmentos rocosos desde la superficie de un planeta, como en el impacto de la caída en la superficie de otro planeta. Y es ahí donde empieza el problema ya que *D. radiodurans* no produce esporas y probablemente no sobreviviría al impacto del meteorito sobre la superficie planetaria; sin embargo, la cuestión sigue abierta a otros estudios que aclaren si la alta resistencia a radiación de esta bacteria tuvo un origen terrestre o marciano. Un estudio que parece inclinar la balanza hacia un origen terrestre, como resultado de una adaptación a ambientes áridos, es el llevado a cabo por Rainey y colaboradores (23), en el que aislaron una amplia variedad de bacterias resistentes a radiación, incluyendo 9 especies nuevas del género *Deinococcus*, de suelos del desierto de Sonora. Efectivamente, la recuperación de un gran número de bacterias extremadamente resistentes a radiación ionizante a partir de suelo árido pero no de suelo no árido, apoya la hipótesis de que el fenotipo de resistencia a radiación ionizante es consecuencia de la evolución de sistemas de reparación que protegen a las células contra factores de estrés ambientales, tales como la desecación. Sin embargo, aún sigue sin explicarse el origen de la alta resistencia a la luz ultravioleta, que genera en el ADN lesiones muy diferentes y que son reparadas por sistemas moleculares muy distintos a los que reparan las rupturas de doble cadena producidas tanto por la radiación ionizante como por la desecación.

Tal vez, este fenotipo sea una consecuencia colateral asociada con la alta incidencia de UV en los ambientes áridos.



Figura 5. Entrada a la atmósfera terrestre de un fragmento rocoso proveniente de algún lugar del espacio exterior. Posiblemente algún microorganismo pudiera sobrevivir a esas condiciones extremas de presión y temperatura. Foto: Howard Edin. Oklahoma City Astronomy Club.

En cuanto a los mecanismos celulares que confieren la extrema resistencia a los diferentes tipos de radiación y agentes oxidantes de esta bacteria, lo más probable es que se trate de una combinación de protección contra daño oxidativo de las proteínas y una reparación más eficiente del ADN, desarrollados a lo largo de su historia evolutiva; esta combinación de mecanismos ha sido efectivamente observada en un experimento reciente de "evolución dirigida", en el que poblaciones de *Escherichia coli*, con niveles de resistencia a radiación ionizante comparables a los de *D. radiodurans*, fueron aisladas después someter a esa bacteria a una serie de ciclos de irradiación-crecimiento (24). Sin embargo, si la radioresistencia de *D. radiodurans* es de origen terrestre o extraterrestre sólo podrá saberse cuando seamos capaces de analizar directamente muestras de la superficie del planeta Marte. 

REFERENCIAS

1. Anderson AW, Hordan HD, Cain RF, Parrish G, Duggan D (1956) Studies on a radio-resistant *Micrococcus*. I. Isolation, morphology, cultural characteristics and resistance to gamma radiation. *Food Technol* 10:575-578.
2. Mattimore V, Battista JR (1996) Radioresistance of *Deinococcus radiodurans*: functions necessary to survive ionizing radiation are also necessary to survive prolonged desiccation. *J Bacteriol* 178:633-637.
3. Callegan RP, Nobre FD, McTernan PM, Battista JR, Navarro-González R, McKay CP, da Costa MS, Rainey FA (2008) Description of four novel psychrophilic, ionizing radiation-sensitive *Deinococcus* species from alpine environments. *Int J Syst Evol Micr* 58:1252-1258.
4. Battista JR, Park MJ, McLemore AE (2001) Inactivation of two homologues of proteins presumed to be involved in the desiccation tolerance of plants sensitizes *Deinococcus radiodurans* R1 to desiccation. *Cryobiology* 43:133-139.
5. Daly MJ, Gaidamakova EK, Matrosova VY, Vasilenko VA, Zhai M, Venkateswaran A, Hess M, Omelchenko MV, Konstandarites HM, Makarova KS, Wackett LP, Fredrickson JK, Ghosal D (2004) Accumulation of Mn(II) in *Deinococcus radiodurans* facilitates gamma-radiation resistance. *Science* 306:1025-1028.
6. Daly MJ, Gaidamakova EK, Matrosova VY, Vasilenko VA, Zhai M, Leapman LD, Lai B, Ravel V, Li SW, Kenner KM, Fredrickson JK (2007) Protein oxidation implicated as the primary determinant of bacterial radioresistance. *Plos Biol* 5:769-779.
7. Hoyle F (1984) *El Universo Inteligente*. Ediciones Grijalbo S.A., México.
8. Pavlov AK, Kalinin VL, Konstantinov AN, Shelegedin VN, Pavlov AA (2006) Was earth ever infected by martian biota? Clues from radioresistant bacteria. *Astrobiology* 6:911-918.
9. Yen AS, Kim SS, Hecht MH, Frant MS, Murray B (2000) Evidence that the reactivity of the martian soil is due to superoxide ions. *Science* 289:1909-1912.
10. Oyama VI, Berdahl BJ, Woeller F, Lehwalt M (1978) The chemical activities of the Viking biology experiments and the arguments for the presence of superoxides, peroxides, gamma-Fe₂O₃ and carbon suboxide polymer in the Martian soil. *Life Sci Space Res* 16:3-8.
11. Karam PA, Leslie SA (1999) Calculations of background beta-gamma radiation dose through geologic time. *Health Phys* 77:662-667.
12. Bresler SE, Verbenko VN, Kalinin VL (1980) *Escherichia coli* K-12 mutants with increased resistance to ionizing radiation. I. Isolation and study of cross resistance to different agents. *Genetika* 16:1753-1763.
13. Kalinin VL, Petrov VN, Petrova TM (1981) I. Isolation and characteristics of radioresistant *Bacillus subtilis* and *Bacillus turingiensis* mutants. *Radiobiologia* 21: 676-682.
14. Davies R, Sinskey AJ (1973) Radiation-resistant mutants of *Salmonella typhimurium* LT-2: development and characterization. *J Bacteriol* 113:133-144.
15. Alcántara-Díaz D, Breña-Valle M, Serment-Guerrero J (2004) Divergent adaptation of *Escherichia coli* to cyclic ultraviolet exposures. *Mutagenesis* 19:349-354.
16. Stevenson A, Burkhardt J, Cockell CS, Cray JA, Dijksterhuis J, Fox-Powell M, Kee TP, Kminek G, McGenity TJ, Timmis KN, Timson DJ, Voytek MA, Westall F, Yakimov MM, Hallsworth JE (2014) Multiplication of microbes below 0.690 water activity: implications for terrestrial and extraterrestrial life. *Environ Microbiol* doi: 10.1111/1462-2920.12598.
17. Greenblatt CL, Baum J, Klein BY, Nachshon S, Koltunov V, Cano RJ (2004) *Micrococcus luteus*--survival in amber. *Microbial Ecol* 48:120-127.
18. Cano RJ, Borucki MK (1995) Revival and identification of bacterial spores in 25- to 40-million-year-old Dominican amber. *Science* 268:1060-1064.
19. Vreeland RH, Rosenzweig WD, Powers DW (2000) Isolation of a 250 million-year-old halotolerant bacterium from a primary salt crystal. *Nature* 407:897-900.
20. Sale JE (2007) Radiation resistance: resurrection by recombination. *Curr Biol* 17:R12-R14.
21. Zahradka, K, Slade D, Bailone A, Sommer S, Averbeck D, Petranovic M, Lindner AB, Radman M (2006) Reassembly of shattered chromosomes in *Deinococcus radiodurans*. *Nature* 443:569-573.

22. Levin-Zaidman S, Englander J, Shimoni E, Sharma AK, Minton KW, Minsky A (2003) Ringlike structure of *Deinococcus radiodurans* genome: a key to radioresistance? Science 299:254-256.
23. Rainey FA, Ray K, Ferreira M, Gatz BZ, Nobre MF, Bagaley D, Rash DA, Park MJ, Earl AM, Shank NC, Battista JR, Kampfer P, da Costa MS (2005) Extensive diversity of ionizing-radiation-resistant bacteria recovered from Sonoran desert soil and description of nine new species of the genus *Deinococcus* obtained from a single soil sample. Appl Environ Microb 71:5225-5235.
24. Byrne RT, Klingele AJ, Cabot EL, Schackwitz WS, Martin JA, Martin J, Wang Z, Wood EA, Pennacchio C, Pennacchio LA, Perna NT, Battista JR, Cox MM (2014) Evolution of extreme resistance to ionizing radiation via genetic adaptation of DNA repair. Elife 3:e01322. doi: 10.7554/eLife.01322.