

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени М.В. ЛОМОНОСОВА

ФАКУЛЬТЕТ ПОЧВОВЕДЕНИЯ

На правах рукописи



Першина Елизавета Николаевна

**СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ В
РАЗНЫХ МИКРОЛОКУСАХ ВЕРХОВОГО ТОРФЯНИКА**

Специальность 03.02.08 – экология
Специальность 03.02.03 – микробиология

Диссертация
на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
к.б.н., в.н.с. Добровольская Т.Г.

Москва - 2021

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Степень разработанности темы.....	4
Актуальность работы.....	5
Цель работы.....	5
Задачи исследования:.....	5
Научная новизна.....	6
Теоретическая и практическая значимость работы.....	6
Объект, предмет и методология исследования.....	7
Степень достоверности полученных данных.....	7
Основные положения, выносимые на защиту.....	7
Апробация работы.....	8
Объем и структура диссертации.....	8
Личный вклад автора.....	8
Благодарности.....	9
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	10
1.1. Микрорельеф верховых болот.....	10
1.2. Характеристика сосудистых растений верховых болот и их влияние на микрорельеф и функции болотных экосистем.....	17
1.3. Регрессивные пятна на верховых болотах – индикаторы дистрофной стадии их развития.....	20
1.4. Структура и функции бактериальных сообществ верховых торфяников.....	22
1.5. Эндوفитные бактерии в сфагнуме.....	38
2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ.....	41
2.1. Объекты исследования.....	41

2.2. Методы исследования.....	50
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	55
3.1. Численность, биомасса и таксономический состав бактериальных сообществ в разных элементах микрорельефа.....	55
3.2. Численность и таксономическая структура бактериальных сообществ болотных растений.....	66
3.3. Структура и функции бактериальных сообществ регрессивных пятен верхового торфяника.....	86
3.4. Заключение и итоги выполненного исследования.....	97
4. ВЫВОДЫ.....	101
4.1. Рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.....	102
5. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	104
6. СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ.....	121

ВВЕДЕНИЕ

В России на верховые болота приходится более половины заболоченных земель. Существование болот, как резервуаров аккумуляции запасов углерода и кислорода, невозможно себе представить, не упомянув проблему сохранения микробного разнообразия. Различные эколого-трофические и филогенетические группы бактерий обнаруживаются на протяжении всего профиля торфяных почв. Процессы деструкции растительных остатков, круговорота азота и углерода, происходят при их неизменном участии. Медленно протекающая минерализация торфа при высоком содержании жизнеспособной микробной биомассы, является отличительной чертой болотных экосистем.

Степень разработанности темы.

Указанная выше отличительная черта и причины ее возникновения были проанализированы в коллективной монографии «Функционирование микробных комплексов верховых торфяников – анализ причин медленной деструкции торфа» (2013). Были опубликованы статьи и обзоры (Головченко и др., 2005, 2010, Куличевская и др., 2007, Дорошенко и др., 2007., Добровольская и др., 2013, Bragina et al. 2012., Opelt et al. 2007). Однако следует обратить внимание на отсутствие данных, связанных с анализом микробных сообществ в разных микролокусах верховых торфяников, определяемых как элементами микрорельефа (кочки, ровные поверхности, микропонижения), так и присутствием различных типов растений.

Известно, что значительный вклад в формирование и поддержание микрорельефа верховых торфяников, а именно в образование кочек, в которых создаются более стабильные показатели температуры и влажности, благоприятные для развития сфагнома, вносится именно травянистыми растениями и вересковыми кустарничками. Кроме того, показано, что присутствие осоки и шейхцерии в болотах усиливает выброс метана в атмосферу.

Верховые болота являются местообитаниями ягодных, лекарственных и медоносных культур. Что касается микробиологического анализа болотных растений, то такие работы единичны. Отсутствуют также исследования, касающиеся характеристики микробных сообществ в регрессивных пятнах, образующихся в результате депрессии верховых торфяников.

Актуальность. Численность и таксономический состав микробных сообществ верховых торфяников изучаются уже в течение многих лет. Однако до настоящего времени не обращалось внимания на микрорельеф верховых болот как фактор, влияющий на численность и структуру бактериальных сообществ. Отсутствуют и данные по исследованию и сравнению бактериальных сообществ на разных видах болотных растений. Не исследовали и микробиологические особенности специфических экотопов верховых болот – регрессивных пятен, которые связаны с депрессивной стадией их развития.

Цель настоящей работы – изучение структурно-функциональной организации бактериальных комплексов в микролокусах, создаваемых микрорельефом, растениями (сфагнум, травянистые растения, вересковые кустарнички) и регрессивными пятнами верховых торфяников.

Задачи исследования:

1. Определить численность бактерий, характер их вертикального распределения и биомассу на кочках и ровных поверхностях;
2. Определить таксономический состав бактерий в исследуемых элементах микрорельефа с помощью как фенотипических признаков, так и с использованием метода секвенирования нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК;
3. Оценить и сравнить физиологическое разнообразие бактериальных сообществ на кочках и ровных поверхностях комплексным структурно-функциональным методом;

4. Определить численность и таксономическую структуру бактериальных сообществ на листьях и корнях травянистых, вересковых растений и сфагнома. Сравнить физиологическое разнообразие бактериального блока филлосферы вересковых растений и сфагнома;

5. Оценить биоразнообразие прокариотного комплекса в ризосферной почве под характерными представителями болотных растений методом высокопроизводительного секвенирования консервативного участка гена 16S рРНК;

6. Определить актуальную азотфиксацию бактериальных сообществ в ризосферной почве под болотными растениями и сфагнумом;

7. Определить структуру биомассы и численность бактерий в регрессивных пятнах и верховом торфе. Выявить таксономическую структуру бактериальных сообществ в этих биотопах на основании как метода посева, так и с помощью метода высокопроизводительного секвенирования гена 16S рРНК;

8. Оценить физиологическое разнообразие, трофическую специализацию бактериального блока и азотфиксирующую активность в регрессивных пятнах и верховом торфе.

Научная новизна. Впервые определены численность, биомасса и таксономическая структура микробных комплексов в различных элементах микрорельефа верхового торфяника – кочках и ровных поверхностях. Впервые исследованы численность и таксономический состав бактериальных сообществ разных типов и разных органов болотных растений верховых болот – травянистых растений, вересковых кустарничков, сфагнома. Впервые изучены биоразнообразие прокариотного комплекса в ризосферной почве под болотными растениями, в верховом торфе и регрессивных пятнах методом высокопроизводительного секвенирования консервативного участка гена 16S рРНК. Впервые определены физиологическое разнообразие и нитрогеназная активность бактериальных сообществ в разных микролокусах верхового торфяника.

Теоретическая и практическая значимость. Полученные результаты могут быть использованы в курсах лекций для студентов ВУЗов по экологии и микробиологии торфяных почв. Полученная информация о высокой численности, разнообразии бактерий, их высокой азотфиксирующей активности и других важных экологических функциях позволяют служить основанием для утверждения значимости бактерий для поддержания жизнеспособности болотных растений. Отсюда следует вывод, позволяющий подтвердить значимость сохранения верховых болот как источников ценных лекарственных и медоносных растений, а также банка бактерий, обладающих различными ценными экологическими функциями.

Объект, предмет и методология исследования.

Объектом исследования являлись бактериальные сообщества различных микролокусов верховых торфяников: элементов микрорельефа, различных частей растений (травянистых, вересковых кустарничков, мха), регрессивных пятен.

Предметом исследования было обнаружение, подсчет, выделение, идентификация и изучение экологических функций бактериальных сообществ в разных микролокусах верхового торфяника.

В рамках выполнения диссертационной работы был реализован комплекс лабораторных исследований, включающих в себя традиционные и современные микробиологические методы анализа.

Степень достоверности полученных данных подтверждается использованием современных общепринятых экспериментальных методик, актуальными методами анализа, а также сопоставлением полученных данных с результатами других исследований.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Численность, таксономический состав и доминирующие представители микробных комплексов различаются в разных микролокусах верховых торфяников;

2. Физиологическое разнообразие и трофическая специализация представителей бактериальных сообществ отличаются в исследуемых микролокусах;

3. Нитрогеназная активность бактериальных сообществ различается в ризосферной почве под исследуемыми болотными растениями и в регрессивных пятнах верхового торфяника.

Апробация работы. По результатам исследования было опубликовано 8 печатных исследовательских работ, из них 5 статей опубликовано в журналах, индексируемых в базах данных Scopus, WoS, RSCI, а также в изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности.

Результаты проведенной научной работы также были представлены на следующих конференциях: Международная молодежная научная школа "Технологии экологического развития" (Москва, 2015), Международная научная конференция "Роль почв в биосфере и жизни человека", посвященная 100-летию со дня рождения академика Г.В. Добровольского (Москва, 2015), VII съезд Общества почвоведов им. В.В. Докучаева и Всероссийская с международным участием научная конференция "Почвоведение – продовольственной и экологической безопасности страны" (Белгород, 2016).

Объем и структура диссертации.

Данная диссертационная работа представлена на 122 страницах и состоит из введения и обзора литературы, результатов и обсуждения, заключения, выводов, списка литературы и списка публикаций. Список литературы включает в себя 119 источников, в том числе 56 на иностранном языке. Диссертационная работа иллюстрирована 14 таблицами и 28 рисунками.

Личный вклад автора. Диссертационная работа является результатом исследования автора за период с 2015 по 2019 гг. Личный вклад заключается в отборе образцов, проведении лабораторных работ, обработке полученных данных, интерпретации полученных результатов, написании текста диссертационной работы.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность д.б.н. Манучаровой Наталье Александровне, к.б.н. Костиной Наталье Викторовне, д.б.н. Лысак Людмиле Вячеславовне, к.б.н. Головченко Алле Владимировне, к.б.н. Якушеву Андрею Владимировичу, д.б.н. Умарову Марату Мутагаровичу за помощь и поддержку в выполнении исследовательской работы.

Автор благодарен своему руководителю к.б.н. Добровольской Татьяне Глебовне за постоянную помощь и ценные консультации на всех этапах выполнения диссертационной работы.

Автор благодарит всех сотрудников кафедры биологии почв факультета почвоведения и лично д.б.н. Степанова Алексея Львовича за обсуждение работы на кафедральных заседаниях и ценные советы.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Микрорельеф верховых болот

Микрорельефом называют небольшие формы земной поверхности, которые занимают относительно незначительные площади, и имеют площадь от единиц до нескольких сотен квадратных метров. Также такие формы земной поверхности имеют колебания относительных высот часто в пределах 1 м, например западины и блюдца, а также бугорки и кочки.

Элементы микрорельефа формируют свой микроклимат за счет перераспределения потоков влаги и тепла, и при одинаковом количестве осадков, влияют на различия в степени увлажненности почвы. Таким образом элементы микрорельефа часто служат основной причиной различий в почвообразовании.

Хотя элементы микрорельефа эволюционируют медленнее других компонентов биогеоценоза, в процессе торфонакопления, и особенно в фазе «растущего торфяника», участие микрорельефа значительно возрастает. Микрорельеф играет важную роль на заключительных этапах процесса торфонакопления и является ограничительным фактором торфонакопления, когда все остальные факторы утрачивают значимость и прекращают свое воздействие.

На многих исследованных верховых болотах, в особенности крупных, формируется своеобразный микрорельеф – небольшие повышения высотой от 20 до 30 см, а также понижения. Повышения обычно имеют вид хаотично разбросанных среди неглубоких понижений кочек размером от небольших (от 10 до 30 см) до значительно более крупных (от 1 до 5 м). Иную форму представляют собой гряды. Они часто бывают характерно вытянуты в длину, и часто извилистые, имеют ширину 0,5-2,3 м, а длину более 10 м. Обычно между грядами наблюдаются понижения. Эти понижения, занятые различными растительными сообществами часто с преобладанием мха сфагнома, называются мочажинами. Зачастую в понижениях собирается стоячая вода, в ней плавают кувшинки. Такие

понижения называют озерками. Закономерное чередование небольших понижений и повышений болота называют комплексом.

Характеристика формирования структуры микрорельефа представлена в обзоре Панова (2005). Ниже приведены наиболее значимые фрагменты из этого обзора.

Траектория движения исследуемой дернины за прошедшие несколько лет устанавливается с помощью определения общей ориентации различных отмерших частей исследуемых стеблей мха. По полученной таким образом скорости наклона стебельков мха за установленный период можно однозначно определить некоторую преемственность перемещения. С повышением скорости снижается и степень преемственности, что в итоге приводит к распаду дернины на индивидуальные особи. Такой феномен давно наблюдается при увеличении степени увлажнения местообитания, а также при уменьшении плотности дернины.

По имеющимся данным масса дернины с наклонно расположенными стеблями существенно меньше массы головок мха (Воробьев, 1979). Соответственно, если при такой высоте уровня воды дернина пребывает в разуплотненном состоянии, будет наблюдаться ее оседание. По имеющимся данным Смоляницкого (1977) при существенном недостатке влаги, и при последующем повышении жесткости каркаса сомкнутых головок сфагнома, наблюдается повышение степени морфологической устойчивости исследуемой дернины, а также рост ее плотности. При наличии стереопары плановой фотосъемки поверхности болота достаточно просто определить направление движения мхов по наклону стеблей трав.

В настоящее время известно, что развитию дифференциации микрорельефа способствует амплитуда колебаний зафиксированного уровня воды (Кузьмин, 1980; Метс, 1978; Воробьев, 1979). В сравнении с исследуемыми понижениями микрорельефа все повышения значительно более подвижны при любом изменении изначального уровня воды. Так, в результате достаточно значительного роста общей амплитуды колебаний фиксируемого уровня воды, последовательно происходит уменьшение установленной структурной связи

между соседними понижениями, а также повышениями микрорельефа болота. Сфагновая дернина таким образом является основой как развития микрорельефа, так и его регуляции.

Не смотря на это, объяснить полученную в результате устойчивость микроформ исследуемого рельефа болота с помощью свойств исключительно сфагнового покрова невозможно. Различие в скорости и интенсивности роста мхов при сходных условиях, различия в росте сфагнового покрова за счет разного видового состава, способность лишайников, а также печеночников сдерживать и при этом дифференцировать рост сфагновых дернин, использование мелких кустарничков и деревьев в качестве опоры для их роста были выделены Н.Я. Кац (1936) в рамках биологического подхода в качестве основных причин развития микрорельефа.

Кроме того, в рамках гидрологического подхода было исследовано влияние характера химического состава и динамики воды, а также способности мхов отвечать на изменение указанных факторов (Аболин, 1928; Иванов, 1956; Богдановская - Гиенэф, 1936). Однако по данным Иванова (1988) явной прямолинейной связи между установившимся водно-минеральным режимом и сформировавшимся видовым составом исследованного мохового покрова обнаружено не было, если не принимать во внимание структурных особенностей рассматриваемого подстилаемого субстрата.

Немаловажная роль в формировании болотных комплексов при изменении у болота структуры верхнего слоя отводится как механическим и термическим, так и другим факторам. Например, по данным Гришина (1977) одним из характерных факторов образования микрорельефа является неравномерное распределение толщи снега по поверхности болота. Краснов (1943) в качестве такого фактора приводит солифлюкцию оттаявшей весной массы торфа, расположенной в верхнем слое исследованной торфяной залежи, что также может часто приводить к формированию таких комплексов. По мнению Кац (1936) неравномерное уплотнение верхового торфа в мочажинах, а также на повышениях часто может

являться крайне значимым фактором, также способствующим развитию вышеупомянутого микрорельефа.

Смоляницкий (1981) высказывал мнение о формировании болотного комплекса как итогового результата разгрузки вод внутри залежи, происходящей в процессе постоянной саморегуляции торфяного болота (биохимический подход). В этом случае форма поверхности болота и направление стекания его вод с общего массива значительно коррелируют с поверхностной поясной евтрофикацией. Таким образом, нарушается метаболизм мхов, что приводит к формированию мочажин в результате деградации сфагнового покрова.

Бахнов (1986) относит планомерную дифференциацию исследуемого почвенного профиля ложа верхового болота к основным из наиболее частых причин возникновения грядово–мочажинного болотного комплекса. По данным Богдановской-Гиенэф (1969) такие деформации ранее устойчивого болотного массива (его рассматривают как торфяной купол) чаще всего вызваны возникающим напряжением торфяного тела, формируемым под воздействием газообразования непосредственно внутри залежи, за счет общей массы купола, а также при образовании вторичных водоемкостей, формирующихся в результате выхода газа из залежи на поверхность.

Учитывая, что в перечисленных гипотезах основным типом связи является структурно-функциональная связь, формируемая между отдельными частями профиля болота (различными частями растительного покрова, непосредственно залежью и самим дном болота и др.) имеет смысл выделить структурно-функциональный подход при попытках решения такой проблемы, как развитие микрорельефа.

Микрорельеф поверхности верхового болота состоит из таких микроформ, как гряды, кочки, мочажины, формирующих закономерное чередование на земной поверхности. Различие таких микроформ определено структурой, а также составом растительности, и, кроме того, функционированием субстрата болотного растительного покрова, а также его структурой. По данным Боч и Мазинг (1979) для отрицательных элементов микрорельефа (микроформ) характерно наличие

значительного линейного прироста мхов, которые являются основным материалом, формирующим микрорельеф болот, но при этом менее значительного прироста зеленой фитомассы. Для обратной ситуации, высоких элементов микрорельефа, эта связь является, соответственно, обратной. В ходе такого процесса постепенного торфонакопления упомянутые различия оказывают влияние на значительную дифференциацию микрорельефа верхового болота за счет разницы режимов увлажнения и испарения, а также саморегуляция сфагновой дернины.

Кроме того, если сравнивать ее с линейным приростом, общая продуктивность сфагнового покрова чаще всего оказывается менее зависимой от общих условий среды. Илометс (1981) считает, что с учетом того, что общее время жизни сфагнума и других мхов на повышениях значительно больше, можно говорить о большей стабильности повышений микрорельефа во времени и, следовательно, о том, что структурно-функциональная связь торфяного субстрата с повышениями микрорельефа выше, что приводит к меньшей подверженности изменениям при колебании различных климатических параметров. Таким образом, можно предполагать, что в сравнении с микропонижениями, микроповышения болота оказывают значительно большее влияние на общую регуляцию роста торфяного тела болота, что способствует как возникновению, так и развитию характерной разнородности торфяной залежи, влияющей на равномерное распределение в ней воды. Собственный режим увлажнения формируется для каждого элемента микрорельефа. Этим и объясняется влияние гидрологического режима на развитие микрорельефа. Таким образом, в понижении формируется более разуплотненный субстрат. В мочажине процесс общей деструкции растительных остатков как правило идет значительно быстрее, в то время как торф под грядой всегда более уплотнен из-за значительно большей массы материала, скопившегося над уровнем воды, а также меньшей влажности. В зимний период это уплотнение значительно повышается. Повышения микрорельефа чаще всего образуют более жесткое общее структурное целое с исследуемой торфяной залежью и в значительно меньшей степени подвержены

различным колебаниям в сравнении с понижениями. В итоге общая водопроницаемость как торфяной залежи, так и верхнего слоя верхового болота меняется.

Эволюция микроформ может иметь как прерывистый, так и непрерывный характер. Проявлением такой саморегуляции микрорельефа болота в условиях постоянно меняющейся среды может являться направленное смещение общих границ микроформ при этом без изменения их общей площади (так называемая пульсация границ микроформ), а также прерывание последовательного развития микроформ и изменение их на противоположный тип во время процесса торфонакопления. Упомянутые выше процессы преобразования микрорельефа болота отражают степень последовательного изменения окружающей среды по отношению к сложившемуся характеру уже существующего микрорельефа. С учетом того, что массив верхового болота обладает непрерывным и целостным функционированием, то и развитие микрорельефа болота должно быть согласованным на всей площади массива. Как следствие, развитие микрорельефа обычно находится под контролем общих особенностей роста массива верхового болота в целом, а при этом основной определяющей эту характерную связь причиной является непрерывное движение моховых дернин болота по его поверхности.

В работе Панова 1991 года была опубликована известная методика проведения следующей плановой съемки. Во время построения геометрических моделей, характеризующих поверхность болота, с общим сечением рельефа через каждые 1,25 см были последовательно установлены следующие зоны верхового болота: зона повышения микрорельефа болота, преобразующая зона болота, зона понижения микрорельефа болота. Зона повышения микрорельефа верхового болота характеризуется преобладанием мха *Sphagnum fuscum*, а также имеет собственную пространственную ориентацию постепенного перемещения дернин, с отсутствующей зависимостью от различных направлений их последовательного перемещения и в остальных рассматриваемых зонах болота. Главное отличие упомянутой выше преобразующей зоны в первую очередь заключается в

достаточно ярком характере последовательного перемещения составляющих сфагновых дернин, связанным в первую очередь с тем, что в этой зоне существуют наиболее оптимальные условия как для формирования, так и развития дернины, сформированной из мха *S. cuspidatum*. А дернины, сформированные в понижениях микрорельефа, часто обладают низкой общей плотностью зеленого мохового покрова. Эта зона верхового болота характеризуется значительно более высокой общей степенью поверхностного увлажнения, а также зачастую и значительным преобладанием общего линейного и постепенного прироста произрастающих на нем отдельных особей сфагнового мха в сравнении с общей суммарной продуктивностью общей плотной болотной дернины. Итак, в результате упомянутого выше, ярко выраженная низкая конкурентная способность такой дернины понижения можно назвать ее характерной и яркой особенностью.

Активную роль в последовательном формировании непосредственно поверхности торфяного тела болота играет и форма водного зеркала. По данным Богдановской-Гиенэф (1969) при формировании микрорельефа часто не фиксируется видовое различие мхов. Хотя появление микроформ в естественных условиях следует считать хаотичным или статистически возможным, их упорядочивание и организация естественными процессами ведет к закономерным и вполне характерным периодическим структурам, представляющим из себя сформированные мочажины и гряды. Рост болотного массива и его водный режим в этом случае определяют характер саморегуляции.

Наличие различных элементов микрорельефа торфяной почвы (например, таких, как болотные гряды и кочки, мочажины, а также ровные местоположения и озерки), ее общая пространственная неоднородность, совместно обуславливают многие особенности формирования непрерывных потоков CO₂ непосредственно с поверхности болот и в атмосферу.

Последствия разных видов использования болот для изменения их биосферных функций невозможно предвидеть без оценки элементов микрорельефа. Так, общая интенсивность круговорота различных веществ

значительно снижена во всех мочажинах верховых болот, которые обычно большую часть каждого летнего периода покрыты пресной водой, и, соответственно, любая эмиссия газов из которых фактически равна нулю, а в зимний период лед на поверхности которых становится препятствием для выхода CO_2 . В то же время, в силу указанных причин интенсивность круговорота веществ значительно выше в грядках. В ряду: мочажины – ровная поверхность – гряды, скорость эмиссии CO_2 последовательно возрастает. По данным Глухой (2014) в теплое время года ровные поверхности болот выделяют в 2 раза, а кочки даже в 3 раза значительно больше углекислого газа, в общем сравнении со среднестатистической мочажинкой верхового болота. Таким образом, хотя в типичный холодный период любого года это соотношение для влажных мочажин, а также ровных пологих поверхностей чаще всего сохраняется, суммарная эмиссия фиксируемого диоксида углерода при этом с общей поверхности кочек в среднем в 5 раз становится больше, если сравнивать ее с поверхностью мочажин, даже при значительно меньших общих скоростях выделения суммарного углекислого газа, чем в более теплое время.

1.2. Характеристика сосудистых растений верховых болот и их влияние на микрорельеф и функции болотных экосистем

В мочажинах верховых болот растут такие растения, как влаголюбивая шейхцерия болотная (*Scheuchzeria palustris*) и осока топяная (*Carex limosa*), а также пушица влагалищная (*Eriophorum vaginatum*), при этом бугры обычно заселены растениями, которые располагаются часто в определенном последовательном порядке (а именно, снизу вверх): например, росянкой (*Drosera*), клюквой (*Oxycoccus quadripetalus*) и подбелом дубровником (*Andromeda polifolia*) а также, наконец, и такими небольшими полукустарничками, как, например, голубика (*Vaccinium uliginosum*) и болотный мирт (*Chamaedaphne calyculata*), а кроме того, еще брусника (*Vaccinium vitis-idaea*), а также черника (*Vaccinium myrtillus*). При этом вершина бугра сама по себе может также быть сухой, в этом

случае здесь болотные сфагновые мхи обычно уступают место мху политрихуму сжатому (*Polytrichum strictum*), а иногда даже засухоустойчивым лишайникам, и при этом сфагновый бугор перестает планомерно нарастать.

Отношения зеленых сфагновых мхов с болотными сосудистыми растениями на обычном верховом болоте - характерный пример взаимного и отрицательного средообразования. Между такими сфагновыми мхами, постоянно и неограниченно растущими в первую очередь вверх, и болотными сосудистыми растениями (такими, как багульник и болотный мирт, а также андромеда и клюква), сосной, а кроме того, и некоторыми осоками — обычно складываются отношения так называемого взаимного аменсализма при этом без какой-либо конкуренции. Так сфагновые мхи часто довольно быстро и активно растут и повышают уже сложившийся уровень поверхности верхового болота, и медленно, постепенно погребая непосредственно в своей растущей толще множество многолетних живых зеленых органов сосудистых цветковых растений, при этом выступая в качестве ингибиторов. В последующем это часто приводит к общему угнетению цветковых болотных растений, которые часто вынуждены постоянно перемещать свои запасающие корневища и подземные корни вверх и к участкам верхового болота, где его поверхность нарастает значительно медленнее. При этом цветковые растения зачастую затемняют зеленые мхи опадом своих листьев, что неизбежно приводит к постепенному замедлению роста. И таким образом, в итоге, между болотными сфагновыми мхами, а также сосудистыми цветковыми растениями последовательно устанавливается равновесие, характеризующееся как «умеренное взаимоугнетение» при этом без возникновения жестких конкурентных отношений.

С другой стороны установлено, что травянистые растения и вересковые кустарнички вносят существенный вклад в формирование и поддержание микрорельефа, а именно в образование кочек, в которых создаются более стабильные показатели температуры и влажности, благоприятные для развития сфагнума (Pouliot et al., 2011).

Кроме того, было показано, что постоянное присутствие осоки *Carex rostrata*, а также шейхцерии *Scheuchzeria palustris*, произрастающих в большинстве таких болотных сообществ, значительно усиливает выброс газа метана в приземную атмосферу. Так в обычное дневное время через эти растения в общей сложности транспортируется 52-60% от общего объема метана, ранее эмитированного со всей поверхности верхового болота (Мигловец, 2014).

Выявлено, что растения верховых болот характеризуются низкой интенсивностью фотосинтеза, дыхания и водного режима. Низкое содержание доступной воды у таких болотных растений связано в первую очередь с таким явлением, как физиологическая сухость на верховых болотах и заканчивается постепенным формированием у них достаточно типичных ксероморфных признаков общей анатомо-морфологической структуры, а также средней величины транспирации. Также для болотных растений часто характерна крайне высокая водоудерживающая способность их листьев. Содержание в тканях растений верховых болот и свободной воды достаточно низкое. Кроме того, содержание связанной воды растений превышало и содержание свободной воды. Величина фотосинтеза у болотных растений, имеющих разные жизненные формы, значительно варьировала — минимальные показатели были выявлены у деревьев, а максимальные у вечнозеленых болотных кустарничков брусничного типа.

У болотных растений наблюдаются механизмы адаптации и на биохимическом уровне. Так, листья растений исследуемых верховых болот имели крайне высокое содержание как марганца, так и железа, что, скорее всего, связано с характерной природной особенностью пресных болотных вод, а также торфа, которые характеризуются достаточно высоким содержанием элементов (по данным Иванова, Юмагулова, 2009).

Что касается микробиологического анализа разных органов вересковых растений, то такие работы единичны. Известно про выделение эндофитных бактерий рода *Serratia marcescens* из корней голубики (Dake et al. 2007). Авторами установлено, что эти бактерии проявили антагонистическое воздействие по отношению к 11 видам фитопатогенных грибов. Из ризосферы клюквы были

выделены актинобактерии рода *Streptomyces*, которые так же обладали фунгицидным действием (Mason et al. 2014). На стеблях и корнях клюквы обнаруживали метанотрофов, представленных родами *Methylosinus* и *Methylomonas* (Stepniewska et al. 2017). В ризосфере голубики в качестве доминирующих филумов были выявлены альфапротеобактерии и ацидобактерии (Yurgel et al. 2018). Таксономическая структура эпифитных бактериальных сообществ изучена лишь на росянке. Молекулярно-биологическими методами были выявлены 63 морфотипа бактерий. Среди них обнаружены 34 *nifH* гена, свидетельствующие об азотфиксирующей активности у представителей многих родов, выделенных из филлосферы и ризосферы росянки (Albino et al., 2006). Однако отсутствуют данные по структурно-функциональной организации бактериальных сообществ болотных растений из семейства вересковых с учётом видов растений и их вегетативных органов.

1.3. Регрессивные пятна на верховых болотах – индикаторы дистрофной стадии их развития

Несмотря на замедленную деструкцию сфагновых мхов в естественных условиях, в развитии верхового торфяника наступает дистрофная стадия, приводящая зачастую к локальному, а также полному прекращению торфонакопления верхового болота в результате постепенного замещения растений-торфообразователей другими видами растений, не образующими верховой торф, например, печеночниками, и, кроме того, лишайниками (по данным Ниценко, 1972; Лопатин, 1986, 1997). Эти процессы приводят к деструкции сфагнового покрова и образованию регрессивных пятен на поверхности торфяников. Анализ научных работ по этой тематике позволил сделать вывод, что появление черных пятен и мочажин связано с постепенным ухудшением общего водного режима, а также усилением обводненности поверхности верховых болот; и кроме того, с появлением растений, активно

аккумулирующих азот, избыток которого, в первую очередь, является причиной постепенного исчезновения мохового покрова болота (Богдановская-Гиенэф, 1956).

Существует и другая точка зрения - известный почвовед В.Р. Вильямс считал, что смена сфагнумов лишайниками вызвана не климатическими факторами, а истощением минеральных солей в торфе (Вильямс, 1926). На первостепенную роль этого фактора указал и сибирский почвовед В.К. Бахнов в 1986 году. Основная его идея заключается в представлении в качестве ведущего и основного источника питательных зольных элементов для зеленой растительности болот так называемой «предболотной почвы», выполняющей особую роль почвообразующей породы, и связь с которой постепенно исчезает по мере нарастания торфа. Отсутствие живого сфагнума вызывает понижение кислотности рН воды до 5,6 и даже до 6-6,4. И в такой угнетённый сложившимися условиями окружающей среды моховой покров быстро внедряются в целом неприхотливые к неблагоприятным условиям такого существования водоросли, а также печёночники и лишайники, способствующие дальнейшей деградации плотной моховой дернины. Наступает завершающая стадия саморазвития болота – дистрофная, приводящая к образованию регрессивных пятен. Благодаря темной окраске поверхности в черных мочажинах и под денудированными пятнами изменяется и тепловой режим торфа, температура которого летом заметно выше, чем под сфагновым покровом. Разница на поверхности достигает до 8°; на глубине 25 и 50 см она достигает 5°. Более высокая температура благоприятствует разложению растительных остатков, происходящему, особенно в комплексном верховом торфе, с выделением метана и других газов. Поверхность торфа голого или с налетом водорослей и печеночников, в жаркие дни покрывается волдырями, содержащими газы. Выделение метана отравляюще действует на организмы, поселяющиеся на торфе. В поверхностном слое торфа повышаются степень разложения и зольность. При разложении растительных остатков освобождается некоторое количество минеральных солей. Разложение, а может быть и жизнедеятельность синезеленых водорослей обогащают торф азотом (Богдановская-Гиенэф, 1956).

1.4. Структура и функции бактериальных сообществ верховых торфяников

Существование болот, как резервуаров аккумуляции запасов углерода и кислорода, невозможно себе представить, не упомянув проблему сохранения общего микробного биологического разнообразия. При этом хотя достаточно тщательный анализ исследуемых бактериальных сообществ болотных торфяных почв и проводится вот уже как больше полувека, все же для ученых-микробиологов остается достаточно много до настоящего времени неразрешенных вопросов. Так, нет ответов на вопросы о том, какие таксоны и группы бактерий преобладают в торфяниках различного генезиса, какие экологические функции способны осуществлять в специфической среде обитания различные таксоны и группы бактерий. Ведь в этой среде процессы микробной деструкции блокированы низкими температурами, высокой степенью обводнённости, анаэробнозом, токсичностью сфагнолов, низкой кислотностью и другими факторами.

В обзорах Dedysh (2011), Добровольской и др. (2005, 2009, 2012), Головченко и др. (2005, 2008, 2010) были обобщены результаты исследований по изучению бактериальных сообществ торфяных почв. Ниже будут приведены примеры, касающиеся оценки бактериального разнообразия олиготрофных верховых торфяников.

В указанных выше обзорах на общем примере таких торфяных олиготрофных болотных почв было конкретно показано как постепенно, с эволюцией известных исследовательских методов (от значимых и характерных традиционных культуральных методов до достаточно современных молекулярно-биологических) постепенно менялись и имеющиеся научные представления об общем разнообразии исследуемых сообществ представленных бактерий этих торфяных болотных почв. Кроме того, были приведены ценные данные и о совершенно новых бактериальных родах, бактериальных филотипах, а также и

новых видах болотных бактерий, способных успешно приспосабливаться к планомерному росту даже при достаточно низкой окружающей температуре и выживать в достаточно кислой среде при общих условиях, свойственных большинству болотных экосистем.

Так, значительно шире других среди всех идентифицированных ранее в болотном торфе бактерий были представлены такие филогенетические группы, как *Acidobacteria* и *Proteobacteria*, а также *Actinobacteria*. А вот характерные представители таких достаточно известных филогенетических групп как *Verrucomicrobia* и *Firmicutes*, а также *Bacteroidetes* и, кроме того, *Chloroflexi* с *Planctomycetes* достаточно активно упоминаются как всего лишь минорные компоненты исследованных бактериальных сообществ. При этом, при определении исследователями общей филогенетической принадлежности болотных бактерий, ранее выделенных посредством метода культурального посева на обычные питательные микробиологические среды, общими доминантами чаще всего оказываются также представители *Proteobacteria* (так из 51 ранее выделенного исследователями рода 30 этих родов очевидно приходится на упомянутую филогенетическую группу бактерий *Proteobacteria*) и *Actinobacteria*, а также *Bacteroidetes*. *Acidobacteria*, и кроме того, представители *Firmicutes* и *Planctomycetes* чаще всего выделяются также в качестве обычных минорных компонентов болотных экосистем (таблица 1).

Таблица 1

Филогенетическая принадлежность бактерий сфагновых болот
по данным метода посева на питательные среды*

Названия родов	Количество родов	Доля в процентах от общего числа родов
<u>Proteobacteria:</u> Alpha: <i>Asticcacaulis</i>, <i>Brevundimonas</i>, <i>Caulobacter</i>, <i>Hyphomicrobium</i>, <i>Methylocella</i>, <i>Methylocapsa</i>, <i>Methylocystis</i>, <i>Rhodomicrobium</i>, <i>Prosthecomicrobium</i>, <i>Sphingomonas</i>; Beta: <i>Alcaligenes</i>, <i>Achromobacter</i>, <i>Aquaspirillum</i>, <i>Burkholderia</i>, <i>Chromobacterium</i>, <i>Rubrivivax</i>, <i>Rhodoblastus</i>; Gamma: <i>Aeromonas</i>, <i>Klebsiella</i>, <i>Acinetobacter</i>, <i>Enterobacter</i>, <i>Proteus</i>, <i>Erwinia</i>, <i>Pseudomonas</i>, <i>Serratia</i>, <i>Rahnella</i>, <i>Vibrio</i>; Delta: <i>Corallococcus</i>, <i>Myxococcus</i>, <i>Polyagnum</i>	30	59
<u>Actinobacteria:</u> <i>Arthrobacter</i>, <i>Cellulomonas</i>, <i>Micromonospora</i>, <i>Micrococcus</i>, <i>Mycobacterium</i>, <i>Nocardia</i>, <i>Streptomyces</i>, <i>Rhodococcus</i>	8	15

* - по данным Добровольской и др. (2009)

Окончание таблицы 1

Филогенетическая принадлежность бактерий сфагновых болот
по данным метода посева на питательные среды*

Название родов	Количество родов	Доля в процентах от общего числа родов
<u>Bacteroidetes:</u> <i>Cytophaga, Chryseobacterium, Chitinophaga, Sporocytophaga, Flavobacterium, Pedobacter, Mucilaginibacter</i>	7	14
<u>Acidobacteria:</u> <i>Terriglobus</i>	1	2
<u>Planctomycetes:</u> <i>Singulisphaera, Schlesneria</i>	2	4
<u>Firmicutes:</u> <i>Bacillus, Clostridium, Paenibacillus</i>	3	6
Итого:	51	100

* - по данным Добровольской и др. (2009)

Кроме того, верховые торфяники также являются без преувеличения одной из зачастую наиболее благоприятных по характеру условий природных эконис и для таких представителей, как ацидобактерии, и об этом ярко свидетельствует их достаточно высокая численность, планомерно выявляемая при каждом прямом анализе верхового торфа.

При этом ацидобактерии зачастую утилизируют многие известные гетерополисахариды, которые постепенно высвобождаются, часто в результате планомерной деструкции всех растительных остатков, а также сфагнума, а это без

сомнения служит главной причиной их столь благоприятного и длительного существования в таких непростых условиях. Так, они способны осуществлять большинство своих основных функций в достаточно кислой среде и, кроме того, еще и при низких окружающих температурах во вполне характерных для верховых болот природных условиях (Pankratov, 2008).

В работе исследователя Куличевской, опубликованной в 2006 году и Дедыш (Dedysh), также опубликованной в 2006 году, было экспериментально установлено, что исследованные планктомицеты могут зачастую представлять из себя доминирующую бактериальную группу, обитающую в верхних протяженных слоях олиготрофных сфагновых болот в бореальной зоне (при этом для такого анализа общего филогенетического разнообразия указанных выше микроорганизмов в достаточно обширных болотных экосистемах использовался метод, известный под названием FISH). Так как планктомицеты обычно являются достаточно труднокультивируемыми и достаточно медленно растущими организмами, то с целью последовательного их выделения из общего субстрата в чистой культуре исследователями был также разработан научный подход, заключающийся в достаточно удачном сочетании не только различных методов микробиологического культивирования, но и использования упомянутого выше метода FISH. Так, по данным Куличевской (Kulichevskaya, 2007, 2008) изоляты микроорганизмов также представляли из себя абсолютно новые, до этого не выделяемые таксоны планктомицетов. Кроме того, это в том числе подтверждено и достаточно низкой степенью близкого родственного сходства общих нуклеотидных последовательностей исследованных генов с уже известными последовательностями других бактериальных культур в этой группе микроорганизмов. Например, они могли комфортно существовать и при достаточно обширном общем диапазоне как окружающей температуры, так и pH.

Так, в последующей работе Куличевской, опубликованной в 2007 году, изучался в том числе и состав общего бактериального сообщества, самостоятельно формирующегося в специально поставленном лабораторном эксперименте, протекающем при постепенном разложении мха сфагнума.

Приведенная выше исследовательская работа может служить показательным примером такого комплексного систематического подхода к последовательному изучению общего функционирования, а также разнообразия различных бактериальных комплексов изучаемых верховых торфяников.

Так, с помощью ранее проведенного учеными молекулярного анализа неоднократно фиксировалось общее численное доминирование таких представителей бактериальных филогенетических групп, как *Actinobacteria* и *Alphaproteobacteria*, а также *Planctomycetes*. Доля обнаруженных планктомицетов при этом возрастала значительно, в особенности на таких заключительных этапах постепенного и последовательного разложения мха сфагнома. При этом численность как представителей обнаруженного филума *Bacteroidetes*, так и представителей филума *Firmicutes*, которых обычно принято считать самыми главными из известных агентов последовательной бактериальной деструкции, в целом, оказалась совсем незначительна.

Кроме того, крайне интересными в целом являются и окончательные выводы упомянутых ранее авторов научного исследования об общей функциональной роли исследованных ими бактерий таких филогрупп, как *Planctomycetes*, а также *Alphaproteobacteria*. Так, выделенные в ходе проделанной работы протеобактерии этих двух филумов, оказались способны к использованию единственного зафиксированного исследователями низкомолекулярного органического соединения, обнаруженного в воде торфяников, а именно, галактуроната, в то время, как планктомицеты оказались вполне способны утилизировать и целый ряд гетерополисахаридов. Кроме того, было установлено, что представители таких филумов, как *Betaproteobacteria*, а также *Bacteroidetes* постепенно осуществляют обычно длительный процесс последовательного разложения вещества пектина, а представители *Alphaproteobacteria*, а также представители *Bacteroidetes*, кроме того, оказались способны еще и к разложению ксилана в достаточно кислых верховых болотах, что также было доподлинно установлено и в ходе всего изучения общей роли болотных бактерий в постепенной деструкции различных полимеров в сфагновых олиготрофных болотах.

Новый род бактерий под названием *Mucilaginibactor gen. nov.* был впервые описан в результате изучения и выделения бактерий из сфагновых болот (Pankratov et al., 2007). Было установлено, что представители этого бактериального рода были способны к последовательному гидролизу веществ ксилана и пектина, а также хондроитина и, кроме того, ламинарина при росте в пределах 2-30⁰ и диапазоне pH в пределах 4.5-6.

Кроме того, характерным, ярким представителем болотного бактериального комплекса таких сфагновых верховых болот часто являются и бактерии, представленные родом *Burkholderia*. Большинство таких выделенных ранее из верхового торфа бактериальных штаммов упомянутого рода *Burkholderia*, также были достаточно близки к таким известным видам, как *B. phenazinium* и *B. caryophylli*, а также *B. glathei* и *B. fungorum*. Именно представители ранее указанных бактериальных видов, фактически являются как типичными характерными обитателями общей ризосферы различных растений, так и различных почв. Кроме того, их отдельные изоляты, ранее выделенные из верховых болот, в итоге использовали достаточно широкий общий перечень доступных субстратов, включающий как сахара и органические кислоты, так и некоторые из ароматических соединений и полиспиртов, как необходимые источники расходуемой энергии, а также доступного углерода. В другом исследовании (Белова и др., 2006) все бактериальные штаммы *Burkholderia*, выделенные из сфагновых мхов болот, планомерно развивались в диапазоне температур от 3 до 37°C, и при pH 3.5-7.4. Кроме того, данные штаммы также были способны к постепенному росту и развитию на безазотистых питательных средах. И это также характеризует ранее исследованные бактериальные штаммы как в общем психроактивные, а также умеренноацидофильные, азотфиксирующие болотные микроорганизмы, которые отлично адаптированы к природным условиям верховых болот.

Ранее возросший и до сих пор непрекращающийся научный интерес к общей, комплексной оценке роли верховых болот и как активных производителей газа метана, а также к общей проблеме такого явления, как глобальное потепление, в

итоге привели к более интенсивному исследованию различных метаногенных микроорганизмов верховых торфяников. Однако, высокая чувствительность исследуемых культур метаногенов к атмосферному кислороду в достаточно значительной степени осложняет как их выделение, так и изучение. Более того, известные исследователям в наше время характерные метаногенные организмы, кроме прочего, являются строгими анаэробами, а также относятся к общему домену Archaea.

Идентификация других представителей метаногенного сообщества, обитающих в олиготрофных сфагновых болотах, наконец стала возможна с резким началом широкого использования микробиологами молекулярных исследовательских методов. В результате в очёсе болотного сфагнового мха были обнаружены представители архей таких семейств, как *Methanocarpusculaceae* и *Methanomicrobiaceae*, а также *Methanoplanaceae*. При последовательном движении вертикально вниз по общему профилю болотного торфяника исследователями было также зафиксировано наличие и архей такого рода, как *Methanosarcina* (Upton et al., 2000). В олиготрофном болоте Бакcharское в Западной Сибири, были также обнаружены, как новые представители давно известных микробиологам порядков *Methanobacteriales* и *Methanomicrobiales*, а также *Methanococcales* и *Methanosarcinales*, так и таких порядков, образцы которых ранее еще не удавалось выделить исследователями в культурах (Sizova et al., 2003).

Также был выделен из верховых торфов в чистую бактериальную культуру абсолютно новый для болот вид ацидофильного метаногена, представленного родом *Methanobacterium* (Kotsyrbenko et al., 2007). Этими авторами так же было обнаружено и медленное протекание в исследуемых анаэробных слоях верхового торфа как достаточно редкого ацетокластического, так и обычного водородного метаногенеза. И в целом, хотя общее количество исследованных ацидофильных, а также и продуцирующих метан архей, ранее опытно полученных в лаборатории в чистых бактериальных культурах, является пока достаточно незначительным, некоторые способы такого их выделения в культуру уже существуют, и это

заметно ускорит накопление общих знаний о важной группе этих микроорганизмов олиготрофных торфяников.

Кроме того, с помощью популярного метода FISH также определены некоторые представители метанооксиляющего бактериального сообщества в олиготрофных торфяниках и, кроме того, установлена их общая численность (она колебалась около 10^6 - 10^7 клеток $г^{-1}$ отобранного сырого торфа).

По опубликованным данным Дедыш (Dedysh, 2001,2007) в крайне географически удалённых олиготрофных верховых торфяниках, представленных в бореальной зоне, общий состав сообществ бактерий метанотрофов также в результате оказался достаточно сходным и, в целом, представлял из себя популяции в основном ацидофильных метанотрофов, представленных II типом, а именно – *Methylocapsa acidiphila* и *Methylocystis heyeri*, а также *Methylocella palustris*. В последующем обзоре Дедыш (Dedysh, 2011) представлен общий перечень всех достаточно известных к самому моменту написания литературного обзора микробиологических родов метиловых бактерий и ацидобактерий, а также планктомицетов.

И таким образом, олиготрофные верховые торфяники фактически являются местом постоянного обитания представителей из самых разных известных групп бактерий, таких как олиготрофы и гидролитики, а также метиловых бактерии и метаногены, фототрофы и органотрофы. И при этом постоянное использование различных исследовательских методов, включающих как молекулярно-биологические, так и общие классические микробиологические методы, фактически позволяет значительно повысить частоту обнаружения и последующей дальнейшей идентификации исследуемых бактерий. Так классические и традиционные методы исследования в микробиологии бывают крайне необходимы, например, для изучения общего метаболического потенциала, а также физиологии бактериальных клеток и выделения чистых бактериальных культур, а кроме того, для исследования ультраструктуры уже имеющихся клеток. А современные молекулярные исследовательские методы применяются, например, при определении суммарной популяционной численности у бактериальных

клеток и идентификации их непосредственно *in situ*, а также для установления их общей таксономической принадлежности.

Одним из современных подходов к доскональной оценке общего бактериального разнообразия различных почв является такой метод, как метод микробиологического посева на выбранную питательную среду. Этот подход в целом заключался в намеренном выборе такой модельной группы исследуемых бактерий, чьи характерные представители очевидно обладали бы хорошей способностью к последовательному росту на одной из выбранных питательных микробиологических сред, вместо постоянных попыток описать общее разнообразие всех представленных групп и, кроме того, таксонов исследуемых бактерий. И так становится возможным такое определение общей доли различных таксонов исследуемых бактерий на используемой питательной микробиологической среде, и появляется новая возможность прицельно проанализировать бактериальные сообщества, в том числе на общем основании последовательного использования давно принятых научным сообществом синэкологических показателей.

Так, если удастся при этом установить и такие особенности общей структуры исследуемых бактериальных комплексов, которые ярко смогут продемонстрировать постепенную адаптацию изучаемых бактерий к уже существующим условиям внешней окружающей их среды и в представленном типе такой общей природно-климатической зоны и экосистемы, а, кроме того, почвы, то такая модельная группа чаще всего считается выбранной достаточно удачно. Так, ранее в качестве одной из таких удачных выбранных модельных групп микроорганизмов для изучения общего бактериального разнообразия непосредственно в изучаемых почвах нескольких разных типов исследователями был выбран достаточно показательный комплекс, состоящий из сапротрофных аэробных, а также факультативно-анаэробных исследуемых бактерий, активно растущих на обычной ГПД среде (по данным Добровольской Т.Г., 1989), и участвующих в постоянной конвейерной переработке зеленых растительных остатков. Также в работах Добровольской и др. (2002, 2005), Головченко и др.

(1993, 2005) для таких отдельных родов исследуемых бактерий были точно приведены как необходимые абсолютные, так и общие относительные показатели общего обилия. И в ходе исследования, в числе как грамположительных бактерий, так и обнаруженных грамотрицательных бактерий, учеными были найдены достаточно характерные представители бактерий копиотрофов и бактерий гидролитиков, а также бактерий олиготрофов, то есть представители всех основных эколого-трофических групп. Общая доля таких гидролитиков, обнаруженных в исследованных ранее верховых, а также низинных торфяниках, в целом, не поднималась значительно выше 30%. А их разнообразие и общая численность, а также относительное обилие, в среднем были на порядки выше в исследованных низинных болотных торфяниках, а именно там, где ранее было зафиксировано намного более быстрое и активное общее разложение зеленых растительных остатков. В значительно меньшей степени гидролитический комплекс представлен в верховых торфяниках. При объяснении медленной деструкции растительных остатков верховых торфяников этот факт может послужить в качестве дополнительного аргумента.

В работе Кухаренко (2011) анализ верховых торфяников Западной Сибири и Тверской области позволил установить, что в олиготрофном верховом болоте таксономическая структура бактериальных сообществ была монодоминантной на протяжении всего анализа. Протеобактерии-гидробионты, представленные родами *Comamonas* и *Aquaspirillum*, были выделены в качестве доминантов, доля которых не превышала 75%. В результате общей идентификации этих бактериальных культур с необходимой помощью молекулярно-биологических исследовательских методов все ранее обнаруженные 20 бактериальных штаммов оказались в итоге принадлежащими к таким разным видам известного рода *Pseudomonas*, как: *Ps. koreensis*, *Ps. fluorescens*, *Ps. lini*, *Ps. mandelii*, *Ps. putida*, *Ps. gingeri*. В качестве минорных компонентов в теплое время года и при сухих погодных условиях были выделены бациллы (15%), а также цитофаги и миксобактерии (10%). При теплых погодных условиях, характеризующихся большим выпадением осадков (июль, август), единственным доминантом во всех

исследованных горизонтах являлись псевдомонады. Также, в ранее исследованных торфяниках в Западной Сибири выделенные бактериальные сообщества также были в большинстве своем представлены достаточно характерными для таких влажных местообитаний очень подвижными протеобактериями. Так бактерии исследованного гидролитического комплекса, в целом, составляли 20%. В общей сложности из верховых торфяников было выделено 5 таксонов бактерий, а из низинных — 9. Во влажный период как в низинном, так и в верховом торфяниках, преобладали аэробные протеобактерии родов *Pseudomonas*, *Aquaspirillum* и *Comamonas* - характерные представители водной среды. При движении вниз по профилю олиготрофной торфяной почвы обнаруживались факультативно-анаэробные бактерии, их доля в среднем колебалась в пределах 30%. Из исследованной евтрофной влажной торфяной болотной почвы, за редким исключением гидробионтов, которые достаточно характерны для такого обычного вида болотных почв, были также выделены и целлюлозоразрушающие бактерии, принадлежащие к группе *Flavobacterium-Cytophaga*, и, кроме того, бактерии известного порядка Мухососcales. При этом в верхнем исследованном слое почвы они доминировали, их доля достигала 70%. В результате запуска сукцессии путем увлажнения почвы из верховых торфяников, удалось выделить факультативно-анаэробные бактерии. Отбор проб из этого локуса проводился после жаркого лета. В первую очередь был зафиксирован рост на чашках Петри почти исключительно энтеробактерий (а именно, вида, известного под названием *Rahnella aquatilis*). Так видовая принадлежность упомянутых выше представителей исследованных бактерий была последовательно определена с помощью секвенирования 16S рРНК. По данным Кухаренко (2011) доля указанного вида бактерий колебалась на протяжении всей сукцессии, длившейся 30 суток, но в среднем не понижалась ниже 20%.

Стоит обратить внимание на тот факт, что выявление в торфяной почве ранее указанного вида таких энтеробактерий в целом не является крайне необычным. И представители упомянутого рода *Rahnella* ранее выделялись из других сфагновых мхов некоторыми исследователями. По данным Opelt et al.

(2007) *Rahnella aquatilis*, как и другие представители рода *Rahnella*, были четко ассоциированы с такими видами мха, как *Sphagnum magellanicum* и *Sphagnum fallax*.

Результаты проведенных исследований показали, что как сильная жара и засушливые периоды, так и влажная и дождливая погода, оказывают значительное влияние на состояние бактерий как в олиготрофных, так и в евтрофных торфяниках. В работе Добровольской и др. (2005) было показано, что в такие периоды особенно повышенной влажности любые имеющиеся достаточно заметные различия в общей таксономической структуре исследуемых прокариот, которые обычно бывают достаточно яркими, нивелируются. Постепенное снижение увлажнения, часто возникающее при достаточно высоких средних температурах такой окружающей среды, также очень значимо влияет на имеющиеся прокариотные комплексы и приводит к перестройке их таксономической структуры. Подводя итог, можно сделать вывод о большой устойчивости бактериальных сообществ низинных торфов к жаре и засухе в сравнении с верховыми.

Итак, представители факультативно-анаэробных энтеробактерий родов *Aeromonas*, *Vibrio*, *Klebsiella*, *Plesiomonas*, *Proteus*, а также микроаэрофильных спирилл рода *Aquaspirillum* широко представлены в бактериальных комплексах торфяников в качестве бактерий-гидробионтов. В поверхностных горизонтах торфяников содержание бактерий-гидробионтов в среднем составляет от 44 до 90% от общего количества выделенных бактерий, а при движении вниз по профилю, в глубоких, низинных слоях торфяника достигает 64-96%. Все указанные представители относятся к обычным копиотрофам и усваивают исключительно простые мономеры, имеющие отличную водорастворимость. Минорных же представителей общего бактериального сообщества верховых торфяников, представленных родами *Xanthomonas* и *Janthinobacterium*, *Azospirillum* и *Chromobacterium*, *Pseudomonas* и *Achromobacter*, *Beijerinckia* и *Methylobacterium*, а также *Azotobacter*, доля которых составляет не более 5% от всех выделенных на питательной среде бактерий, также относят к копиотрофам.

Единственным представителем рода *Beijerinckia* среди выделенных штаммов оказался вид *Beijerinckia mobilis*. Известна способность представителей этого рода существовать в кислой среде (при низких значениях pH). С учетом изложенного становится ясна такая частая встречаемость именно этих зафиксированных бактерий как в переходных, так и в верховых торфяниках.

При этом представители такого рода, как *Azotobacter*, были ранее обнаружены исключительно в характеризующихся в целом достаточно нейтральными значениями pH высокозольных, влажных низинных болотных торфяниках. Характерным для торфяников оказался и видовой состав бацилл, которые были представлены в основном факультативно-анаэробными видами и оказались адаптированы к характерному для болотных экосистем пониженному содержанию кислорода. Кроме того, в данных экосистемах доминировали пигментные формы, часто обитающие совместно с сосудистыми растениями и мхами.

В работе Добровольской и др. (2012) был проведен анализ функций бактерий сапротрофного блока в верховых олиготрофных торфяниках, который и позволил установить, тот факт, что в исследованных почвах практически полностью отсутствуют распространенные в низинных торфяниках бактерии, относящиеся к целлюлолитическим прокариотам, например целлюломонады и миксобактерии, а также цитофаги (за редким исключением таких случаев, когда указанные бактерии являются обычными минорными компонентами). Также, очень ограниченное общее количество исследованных видов бацилл и клостридий, постоянно обитающих в верховых сфагновых торфах, в итоге оказались вполне способны к адекватному разложению целлюлозы. А выделенные из исследованной торфяной почвы виды бактерий, такие, как: *Janthinobacterium lividum* и *Janthinobacterium agaricum*, а также *Bacillus firmus-lentus* и *Bacillus cereus*, в итоге обладали общей хитинолитической активностью (в общей микробной биомассе верховых олиготрофных торфяников часто наблюдается доминирование некоторых грибов, клеточные стенки которых содержат хитин). И эта хитинолитическая активность обнаруженных бактерий в настоящее время

представляется также особенно значимой. Так, выделенные из болотных торфяных почв некоторые виды известных бактерий активно проявляли свой антагонизм и к обнаруженным микроскопическим грибам, ранее выделенным учеными из тех же самых мест обитания. При этом некоторые из ранее обнаруженных видов исследуемых бацилл, кроме того, обладали антагонизмом и по отношению ко вполне типичным для олиготрофных верховых болот грибам микромицетам (таким, как *Umbelopsis* и *Absidia*, а также *Penicillium*), агрессивно подавляя их активный рост на значительном расстоянии (в среднем, до 7мм).

Кроме того, исследователями было также установлено, что такие антагонистические общие взаимоотношения, обнаруженные между известными почвенными микроскопическими грибами, а также бактериями, всегда обитающими в верховых торфяниках, могут достаточно сильно влиять и на их общее функционирование в самых различных локусах олиготрофных торфяников и во всех болотных экосистемах этой полосы в целом. И хотя значительно преобладающие в исследуемых верховых олиготрофных торфяниках протеобактерии и, являются олиготрофами, а также копиотрофами, в целом, не способными каким-либо образом воздействовать на особенно труднодоступные полисахариды, но они все же способны полноценно участвовать и в других подобных процессах. Так, например, бактерии такого рода, как *Alcaligenes* обладают значительной лецитиназной активностью, а бактерии таких родов, как *Aquaspirillum*, а также *Pseudomonas*, обладают как лецитиназной и липазной, так и общей протеазной активностью.

Кроме того, для бактерий-представителей таких родов, как *Alcaligenes* и также *Aquaspirillum* было еще и зафиксировано явное наличие общей фенолоксидазной активности. Такое явное проявление общей фенолоксидазной активности, кроме того, имеет достаточно большое микробиологическое значение. Ведь постепенно накапливающиеся в особенно крупных количествах такие полимерные фенольные органические соединения в олиготрофных сфагновых болотах, в дальнейшем являются и ингибиторами некоторых важных ферментов. Так

их общая суммарная токсичность достаточно значительно снижается при планомерном окислении токсичных полифенолов.

Ранее проведенная исследователями проверка общей нитрогеназной активности бактерий среди ранее выделенных из исследованных верховых торфяных почв различных видов бацилл, а также основных представителей ныне известных грамотрицательных бактерий, в итоге ярко продемонстрировала их высокую общую активность. Кроме того, и при достаточно низкой общей температуре такого культивирования (около 4–6⁰С) определенная азотфиксация в таких исследованных бактериальных культурах была значительно выше, по сравнению с более высокой температурой (25⁰С).

Кроме того, по данным исследователя Добровольской (2012) обнаруженные бактерии-доминанты исследованных верховых торфяников также оказались достаточно устойчивыми и к веществам-сфагнолам, интенсивно ингибирующим активный рост бактерий (в том числе особо патогенных) и из других исследованных биотопов. В итоге, было также установлено, что исследованные бактерии, постоянным местом обитания для которых являются олиготрофные верховые торфяники, кроме прочего, прекрасно адаптировались и к складывающимся особенно неблагоприятным условиям, и имеют различные функции.

В обзоре Добровольской и др. (2018) приведены обобщенные данные по структуре бактериальных сообществ верховых торфяников. В нём указано также на формирование мелких форм бактерий в результате воздействия неблагоприятных условий окружающей среды. По данным Лысак и др. (2014) в различных слоях верхового торфяника доля наноформ (мелких бактерий, проходящих через мембранные фильтры с диаметром пор 200 нм) незначительна. В сравнении с общей численностью бактерий она не превышала 5%. Однако в работе Богдановой и др. (2014) было показано, что среди наноформ высока доля метаболически активных клеток (93–98%) в отличие от бактерий обычного размера, что свидетельствует об их высокой устойчивости к воздействию неблагоприятных внешних факторов.

Таким образом, в торфяниках постоянно присутствуют, кроме живых и покоящихся форм обычных размеров, мелкие бактерии, представляющие своеобразный «пул», способный к переходу в активное состояние и к осуществлению своих экологических функций при благоприятных условиях (Чернов и др., 2004).

1.5. Эндифитные бактерии в сфагнуме

В исследованиях Щербакова и др. (2013, 2014) изучались эндифитные бактериальные популяции в сфагновых мхах. В результате данных исследований было установлено, что многие таксономические группировки, характерные для обитающих в сфагновых мхах эпифитных эккрисотрофных бактерий, встречаются и в составе обнаруженных эндифитных исследуемых бактериальных сообществ. Так, класс Gammaproteobacteria (и порядок Enterobacteriales) также включал в себя и представителей таких родов, как *Enterobacter* и *Serratia*, а, кроме того, и представителей других достаточно известных родов. Кроме того, важной и заметной обнаруженной исследователями таксономической ветвью также являлись и характерные представители известного порядка Burkholderiales. Филум Bacteroidetes был представлен такими родами, как *Pedobacter* и *Chryseobacterium*, а также *Flavobacterium*. Кроме того, к одной из наиболее значительных и широко известных таксономических ветвей, суммарная численность выделенных представителей которой в итоге достигала значительных 50% от всего общего числа исследованных изолятов бактерий, также следует отнести представителей Pseudomonadaceae. Pseudomonas роае можно отметить, как один из самых характерных из встреченных видов, относящихся к роду *Pseudomonas*. Соотношение представителей родов *Collimonas* и *Pseudomonas* оказалось различным для разных видов сфагновых мхов. Так, наибольшее разнообразие эндифитных бактерий в *S. magellanicum* было выявлено среди представителей рода *Pseudomonas*, в то время как для мха *S. fallax*

значительную долю составляли представители родов *Flavobacterium* и *Collimonas*, при незначительном числе представителей рода *Pseudomonas*.

Таким образом, установлено, что представители родов *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Stenotrophomonas*, *Serratia*, *Collimonas* доминировали в составе эндофитных гетеротрофных бактериальных сообществ сфагновых мхов, имеющих разное географическое происхождение.

Кроме того, и бактерии, ранее выделенные из исследуемых сфагновых мхов, также обладают комплексом общих полезных свойств, в дальнейшем играющих достаточно значительную роль как в общем жизненном цикле отдельного растения-хозяина, произрастающего на болоте, так, в целом, при активном использовании их современным человеком в своих практических целях. Также из тканей исследованных сфагновых мхов были выделены штаммы бактерий, способные к активному взаимодействию с сельскохозяйственными растениями и оказывающие положительное влияние на их развитие и рост. Позже была показана значимость зеленых сфагновых мхов и в качестве общего депозитария для биотехнологически-ценных видов выделенных бактерий. Из выделенных ранее учеными около 400 изолятов более 120 штаммов исследованных бактерий обладали полезной бактерицидной активностью, при этом 240 бактериальных штаммов обладали фунгицидной активностью еще и против достаточно широкого спектра различных известных фитопатогенных микроорганизмов. Кроме того, более 100 ранее обнаруженных исследователями штаммов были также способны и к постепенному продуцированию органической индолилуксусной кислоты, а также и её производных, и это в итоге оказывало общий ростстимулирующий эффект и в обычных симбиотических отношениях, установившихся между зелеными сфагновыми мхами, а кроме того эндофитными бактериями, которые обычно населяют различные их ткани. В обзоре Kostka et al. (2016) приводится список, в том числе и эндофитных бактерий, которые были обнаружены в гаметофитах сфагнума.

Разными авторами были изучены как функции, так и таксономическая структура эндофитных и эпифитных бактерий сфагновых мхов, их очёсов, а также

всего профиля олиготрофных верховых торфяников. Однако ранее микробиологами не изучалась структура бактериальных сообществ растений верховых болот, представленных травами и вересковыми кустарничками.

2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объекты исследования

В ходе исследования были отобраны пробы в нескольких различных микролокусах верхового болота. Так, одним из таких микролокусов являлась болотная торфяная почва, отобранная под исследуемым сосняком кустарничково-пушицево-сфагновым. Указанный сосняк является постоянной общей пробной площадью на Западновинском лесоболотном стационаре ФГБУН Института лесоведения РАН (координаты: 56°09'с.ш., 32°10'в.д. и 56°09'с.ш., 32°08'в.д.), расположенном в Тверской области (рис. 1). Исследуемый торфяник (общей мощностью в 1,5 м) был сложен верховыми, а также переходными и, кроме того, низинными торфами, а также подстилается и в различной степени оглеенными песками. Общая степень разложения исследуемого торфа зависела, в основном, от его ботанического состава и варьирует вниз по профилю в пределах 14-40%.

Результаты нивелировки поверхности исследуемого торфяника показали, что исследуемые микропонижения занимают в целом 52%, а ровные поверхности всего 31%, в то время, как микроповышения (кочки) около 17% площади (по данным Глухой, 2014). В данной работе изучались только ровные поверхности и кочки. Исследуемая толща мощностью 50 см, представлена верховым торфом со степенью разложения 14-16%. Исследуемые образцы мха сфагнума (*Sphagnum magellanicum*), и его очеса, а также торфянистых горизонтов на кочках и ровных поверхностях (рис. 2) были отобраны с глубины 0-55 см в последней декаде августа 2015 года, отличающейся высокими температурами воздуха и почвы и низким количеством выпавших осадков.



Рис. 1. Общий вид сосняка кустарничково-пушицево-сфагнового
Западнодвинского лесоболотного стационара ФГБУН Института лесоведения
РАН

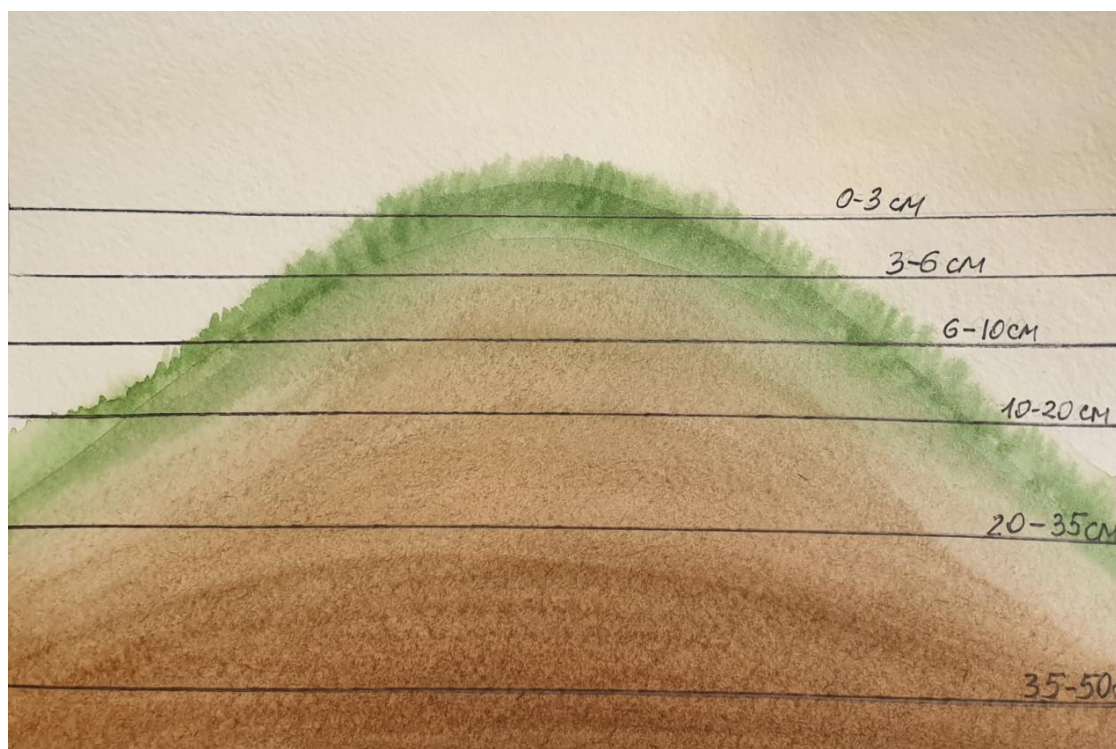


Рис. 2. Схематичное изображение горизонтов кочки, из которых отбирались
образцы

Объектами исследования также являлись разные типы болотных растений. Травянистые растения - осока черная (*Carex nigra*), пушица влагалищная (*Eriophorum vaginatum*), росянка круглолистная (*Drosera rotundifolia*) (рис. 3, 4, 5). Вересковые кустарники - подбел обыкновенный (*Andromeda polifolia* L.), багульник болотный (*Ledum palustre* L.) (рис. 6, 7), а также ягодные кустарнички из этого же семейства - голубика обыкновенная (*Vaccinium uliginosum* L.), черника миртолистная (*Vaccinium myrtillus* L.), брусника обыкновенная (*Vaccinium vitis-idaea* L.), клюква обыкновенная (*Vaccinium oxycoccus* L.) (рис. 8, 9, 10, 11).



http://floralib.msk.ru/osoka_chern2.html

Рис. 3. Осока черная (*Carex nigra*)



https://www.plantarium.ru/dat/plants/5/540/523540_bb687246.jpg

Рис. 4. Пушица влагалищная (*Eriophorum vaginatum*)



<https://fruittree.ru/sorta/rasteniya-na-podokonnike/rosyanka.html>

Рис. 5. Росянка круглолистная (*Drosera rotundifolia*)



<https://us-okna.ru/andromeda-mnogolistnaya-andromeda-polifolia-l-cvetok-andromeda-mnogolistnaya/>

Рис. 6. Подбел обыкновенный (*Andromeda polifolia* L.)



<https://medictimes.ru/kak-ispolzovat-bagulnik-s-polzoy>

Рис. 7. Багульник болотный (*Ledum palustre* L.)



<http://my-krai.ru/photo/2-1>

Рис. 8. Голубика обыкновенная (*Vaccinium uliginosum* L.)



<https://yandex.by/collections/card/5b1e52c6bec8f20d84c1eea1/>

Рис. 9. Черника миртолистная (*Vaccinium myrtillus* L.)



<https://www.nastol.com.ua/download/115363/1600x1200/>

Рис. 10. Брусника обыкновенная (*Vaccinium vitis-idaea* L.)



<https://receptoed.ru/wp-content/uploads/2018/11/klyukva.jpg>

Рис. 11. Клюква обыкновенная (*Vaccinium oxycoccus* L.)

Анализировали образцы сфагнома, его очёса, листья и стебли растений (филлосфера), поверхность корней (ризоплана) и почву под указанными растениями. Образцы были ранее отобраны в начале июня 2017 года. Исследуемые растения (примерно по 5-10 экземпляров) последовательно отбирали в четырех выбранных точках, достаточно удаленных друг от друга (на расстоянии 50-100 м). Растения извлекали из общего торфяного массива вручную, с помощью стерильных перчаток, а затем помещали в небольшие стерильные пластиковые пакеты, которые в тот же день в охлажденном виде доставляли в лабораторию для дальнейших исследований.

Другим объектом исследования были регрессивные пятна на грядово-мочажинном сфагновом безлесном болоте «Большой Роговской Мох» ($56^{\circ}08'20''$ с.ш., $32^{\circ}06'06''$ в.д.) (рис. 12).



Рис. 12. Вид на одно из озерков болота «Большой Роговской Мох»

Это болото является также одной из пробных площадей Западнодвинского лесоболотного стационара Института лесоведения РАН в Тверской области. Отложения болота представлены торфом, возраст которого

8590±179 тыс. лет; подстилаются органо-минеральным сапропелем. Залежь сложена верховым торфом до 2 м – слаборазложившимся (3-15%); от 2 до 3 м – среднеразложившимся (25-35%). pH варьирует сверху вниз по профилю от 2,7 до 4,3. Регрессивные пятна на исследуемом торфяном массиве овальной формы и имеют размер в среднем 50×100 см (рис. 13, 14).

Образцы отбирали в августе 2015 года, который характеризуется как сухой период, так как за месяц общее количество выпавших осадков составило 6,9 мм, а также в августе 2017 года – во влажный период, когда количество выпавших осадков за месяц составило 87,9 мм. Образцы регрессивных пятен отбирали из 5 пятен, удаленных друг от друга на расстоянии 3–7 м в 10-ти кратной повторности. Для сравнительного анализа проводили отбор образцов *Sphagnum magellanicum* Bird. и верхового торфа (с глубины 0-10 см) с участков болота, незатронутых регрессией. Образцы извлекали из торфяного массива вручную, с помощью стерильных перчаток, затем помещали в стерильные пластиковые пакеты, которые в тот же день в охлажденном виде доставляли в лабораторию для дальнейших исследований.



Рис. 13. Растительность регрессивного пятна (слева) и растительность на участке незатронутым регрессией (справа) болота «Большой Роговской Мох».



Рис. 14. Растительность регрессивного пятна (слева) и растительность на участке болота, незатронутом регрессией (справа)

2.2. Методы исследования

Численность и суммарную биомассу бактерий определяли прямым методом с использованием люминесцентной микроскопии (Методы почвенной микробиологии и биохимии, 1991). Предварительно десорбировали клетки на ультразвуковом диспергаторе «Bandelin Sonopuls HD 2070» (Germany) в течение 2 минут при мощности 50%. Для исследования поверхности корней растений (ризопланы) использовали предварительно отмытые корни. Для одного образца готовили 6 препаратов, которые окрашивали раствором акридина оранжевого (1:10000). Окрашенные препараты просматривали на люминесцентном микроскопе ЛЮАМ-ИЗ (Россия) (светофильтры ЖС-19, ЖС-18, объектив $\times 90$ Л, окуляры $\times 4$ или $\times 5$). Количество клеток бактерий, содержащихся в 1 г свежего образца, вычисляли по формуле: $N = S_{1an} / v S_{2c}$, где: N – число клеток бактерий в 1 г

свежего образца; S_1 – площадь препарата (мкм^2); a – среднее число бактерий в поле зрения; n – показатель разведения суспензии (мл); v – объем капли, наносимой на стекло (мл); S_2 – площадь поля зрения микроскопа (мкм^2); c – навеска образца (г).

Численность и таксономический состав бактерий также определяли методом посева на агаризованную глюкозо-пептонно-дрожжевую среду (ГПД) в чашках Петри. Для ингибирования грибов в среду добавляли 50 мг нистатина на 0,5 л среды. Посев проводили в 5-кратной повторности из экспериментально подбираемых 10-кратных разведений. Посевы инкубировали при комнатной температуре в течение 2-3 недель. Общую численность бактерий выражали в колониеобразующих единицах (КОЕ) на 1 г образца.

Основных представителей бактерий выделяли в чистую культуру. Идентификацию выделенных штаммов до рода осуществляли на основании морфологических, культуральных и хемотаксономических признаков (Определитель бактерий Берджи, 1997; Добровольская с соавт. 2010). Идентификацию доминирующих таксонов бактерий проводили по результатам секвенирования нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК с использованием программы BLAST (Манучарова Н.А., 2014).

Биоразнообразие прокариотного комплекса в ризосферной почве под болотными растениями, верховом торфе и регрессивных пятнах определяли методом высокопроизводительного секвенирования консервативного участка гена 16S рРНК. Для экстракции тотальной ДНК применяли стандартные методы PowerSoil DNA Isolation Kit (MO BIO, США), руководствуясь инструкциями производителя. Амплификацию фрагментов гена 16S рРНК осуществляли с помощью вырожденных праймеров, комплементарных последовательностям как бактерий, так и архей: PRK341F (CCTACGGGRBGCASCAG) и PRK806R (GGACTACYVGGGTATCTAAT). Полученные ПЦР-фрагменты очищали на колонках QIAquick согласно протоколу производителя. Каждый ПЦР-фрагмент растворяли в 50 мкл ТЕ-буфера, полученного материала было достаточно для дальнейшего анализа.

Нуклеотидные последовательности переменных фрагментов генов 16S рибосомальных РНК из образцов метагеномной ДНК определяли с помощью высокопроизводительного секвенирования. Секвенирование проводили на полигеномном секвенаторе Illumina Miseq, время прочтения 39 часов, количество pair-end reads (парных прочтений) – 8 миллионов. После проведенных прочтений с обоих концов ДНК формировали файл с прямыми и обратными прочтениями, которые представляли собой текстовое описание первичной структуры линейных макромолекул в виде последовательности мономеров.

Обработку данных секвенирования осуществляли с использованием автоматизированного алгоритма QIIME 1.9.1, включающего объединение прямых и обратных прочтений, удаление технических последовательностей, фильтрацию последовательностей с низкими показателями достоверности прочтения отдельных нуклеотидов (качество менее Q20), фильтрацию химерных последовательностей, выравнивание прочтений на референсную последовательность 16S рРНК, распределение последовательностей по таксономическим единицам с использованием базы данных Silva версии 132. Использовали алгоритм классификации операционных таксономических единиц (OTE) с открытым референсом (Open-reference OTU) порог классификации 97%.

Физиологическое разнообразие и трофическую специализацию гидролитического бактериального блока определяли комплексным структурно-функциональным методом (Якушев, 2015). Гидролитический бактериальный блок рассматривали, как совокупность бактерий способных расти на полимерах, в том числе и легкодоступных. Изучали ассоциации микроорганизмов, возникающие после внесения суспензии растения в набор жидких питательных сред с биополимерами, внесенными в ячейки культуральной планшеты.

Рост в жидких средах с полимерами определяли на иммуноферментном анализаторе «Sunrise» (Tecan, Австрия) по оптической плотности.

В инициированных сообществах анализировали кинетические параметры сукцессионных изменений. Поскольку сукцессия происходит в контролируемых условиях, то её можно представить, как рост и отмирание смешанной

периодической культуры, описываемой классическими кинетическими параметрами, в том числе микробным экономическим коэффициентом (Y). Исследовали поддающиеся культивированию аэробные и факультативно-анаэробные бактерии. Для ингибирования грибов в среду вносили нистатин и циклогексимид. В качестве единственного источника углерода использовали полимеры, представленные очищенными коммерческими препаратами: кератин, хитин, целлюлоза, пектин, крахмал, ксилан, инулин, декстран, агароза, твин 20, казеин, нуклеиновая кислота.

Физиологическое разнообразие гидролитического бактериального блока оценивали по эмпирически выведенному методом главных компонент параметру – среднеарифметическому микробному экономическому коэффициенту ($\bar{Y}$) инициированных сообществ, сформировавшихся на 12 средах с полимерами. Экономический коэффициент конкретного инициированного сообщества $Y = \frac{x_m - x_0}{s_0}$, где s_0 – исходная концентрация полимера (2,5 г/л); x_m – максимальная концентрация клеток, достигаемая на питательной среде, x_0 – исходная концентрация микроорганизмов в инокулируемой суспензии. Высокие значения Y свидетельствуют о высокой продуктивности сообщества и об эффективном усваивании того или иного полимера, низкие значения Y – о неподходящих условиях культивирования, либо о неспособности расти на всех полимерах как единственном источнике углерода.

Методом главных компонент эмпирически выведен параметр $Y_{\text{разн}}$ – разность средних Y на средах с труднодоступными (хитин, целлюлоза, агароза, кератин) и легкодоступными (декстран, инулин, пектин, ксилан, крахмал, твин 20, казеин) полимерами. Поскольку в трофической классификации микроорганизмов «гидролитики» – деструкторы труднодоступных полимеров, а «копиотрофы» – деструкторы легкодоступных, то $Y_{\text{разн}}$ отражает трофическую специализацию гидролитического блока.

Определение азотфиксации проводили методом газовой хроматографии (Методы почвенной микробиологии и биохимии, 1991). Для определения

актуальной азотфиксации навески анализируемых субстратов (2-3 г) помещали в пенициллиновые флаконы объемом 15 мл. Флаконы герметично закрывали резиновыми пробками с металлическими зажимами, вводили 1 мл ацетилена и инкубировали 2 часа. Инкубацию проб проводили как в темноте (в термостате, при температуре 25°C), так и на свету – при комнатной температуре. Затем из флаконов шприцем отбирали 1 мл пробы и анализировали количество образовавшегося этилена на хроматографе «Кристалл 2000» (Россия) с пламенно-ионизационным детектором (длина колонки – 1м, диаметр – 3мм, наполнитель – Porapak N 80/100) температура колонки – 60°C, температура детектора – 160°C, температура испарителя – 100°C, расход газа-носителя (N₂) – 50 мл/мин, воздуха – 280 мл/мин, водорода – 28 мл/мин. Определение проводили в 3-5 кратной повторяемости. Активность азотфиксации выражали в нгC₂H₄/г час.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ¹

3.1. Численность, биомасса и таксономический состав бактериальных сообществ в разных элементах микрорельефа

Начнём с анализа численности и биомассы бактерий в различных элементах микрорельефа. Численность исследуемых бактерий в мхе сфагнуме, отобранном с ровных болотных поверхностей, установленная методом прямого счёта, в результате составила 7×10^9 кл./г – в зелёной части растения и 9×10^9 кл./г – в очёсе сфагнума. В слоях под отобранным очёсом, общая бактериальная численность в дальнейшем последовательно и планомерно возрастала до 63×10^9 кл./г – в исследованном слое 6-10см, а также до 96×10^9 кл./г – в исследованном слое 10-20см. Далее вниз по профилю численность практически не изменялась, сохраняя высокий уровень (таблица 2).

В кочках численность бактерий варьировала от 20×10^9 до 94×10^9 кл./г субстрата в зависимости от положения образца в вертикальном градиенте. Количество подсчитанных бактерий на зеленом живом сфагнуме, активно растущем на самой верхушке купола исследованной кочки, составило 20×10^9 кл./г отобранного субстрата. В буром очёсе сфагнума выявленный бактериальный титр также увеличивался вдвое. Также, далее, при движении вниз по общему вертикальному градиенту исследуемой кочки численность выявленных бактерий продолжала постепенно возрастать и достигать своего максимума - 94×10^9 кл./г отобранного сфагнума в самом её основании (таблица 2). Кроме того, сравнительный анализ исследованных кочек, а также ровных поверхностей, в итоге показал, что они имеют как сходный характер последовательного

¹ Все представленные результаты опубликованы в статьях № 1, 2, 3, 4, 5 (см. Главу 6. Список публикаций)

распределения общей численности бактерий по общему вертикальному градиенту, так и достаточно близкие установленные абсолютные значения. Какие-либо различия ярко проявляются только при последовательном исследовании болотных сфагновых дернин. Так было показано, что общая бактериальная численность во мхе сфагнуме, растущем на возвышенных кочках, в общем была выше, по сравнению с пологими ровными поверхностями: в 3 раза – на зелёных частях и в 4 раза – в его очёсе (таблица 2).

В исследуемых образцах суммарная прокариотная биомасса колебалась в пределах от 0,1 до 2,2 мг/г субстрата. В образцах сфагнума, произрастающего на кочках, она варьировала от 0,4 мг/г в зелёных частях и до 0,8 мг/г в очёсе. По сравнению с суммарной прокариотной биомассой образцов сфагнума, растущего на ровных поверхностях, в образцах сфагнума, произрастающего на кочках, она была в 4 раза больше. В других слоях торфяного профиля и самой кочки прокариотная биомасса изменялась в достаточно узком диапазоне: от 1 до 2 мг/г (таблица 2).

Доминирование бактерий наблюдалось в структуре прокариотной биомассы всех отобранных образцов. Менее 5% приходилось на долю актиномицетного мицелия. Определённая с помощью метода посева численность бактерий сапротрофного комплекса мало изменялась при движении по профилю. Однако в профиле под пологой ровной поверхностью общая численность исследуемых бактерий была всего на 1-2 порядка ниже, по сравнению со сфагновой кочкой (рис. 15,16).

Так, полученные результаты хорошо согласуются со значительно повышенной общей эмиссией углекислого газа из сфагновых кочек, которая при этом может быть даже в 2-5раз больше, если сравнивать ее с ровными поверхностями болот (по данным Глуховой (2014)). С учетом большей концентрации кислорода в кочках это свидетельствует о более благоприятных условиях для существования и развития микроорганизмов в этих элементах микрорельефа.

Таблица 2

Показатели обилия прокариотного комплекса в разных элементах микрорельефа
верхового торфяника

Тип исследуемого биотопа	Численность		Суммарная биомасса бактерий и АМ**	Относительное обилие в прокариотном комплексе	
	Бактерии	АМ**		Бактерии	АМ**
Глубина (см)	10 ⁹ клеток/г	м/г	мг/г	%	
КОЧКИ					
0-3 (зелёная часть мха*)	20±2	247	0,4	98	2
3-6 (очёс мха*)	40±3	600	0,8	97	3
6-10	51±3	675	1,1	97	3
10-20	80±10	811	1,6	98	2
20-35	94±9	1041	1,9	98	2
35-50	69±7	1458	1,4	96	4
РОВНЫЕ ПОВЕРХНОСТИ					
0-3 (зелёная часть мха*)	7±0,5	0	0,1	100	0
3-6 (очёс мха*)	9±1	172	0,2	96	4
6-10	63±6	487	1,3	99	1
10-20	96±8	1186	2,0	98	2
20-35	93±10	2714	2,0	95	5

Примечание. * – *Sphagnum magellanicum*; ** – актиномицетный мицелий

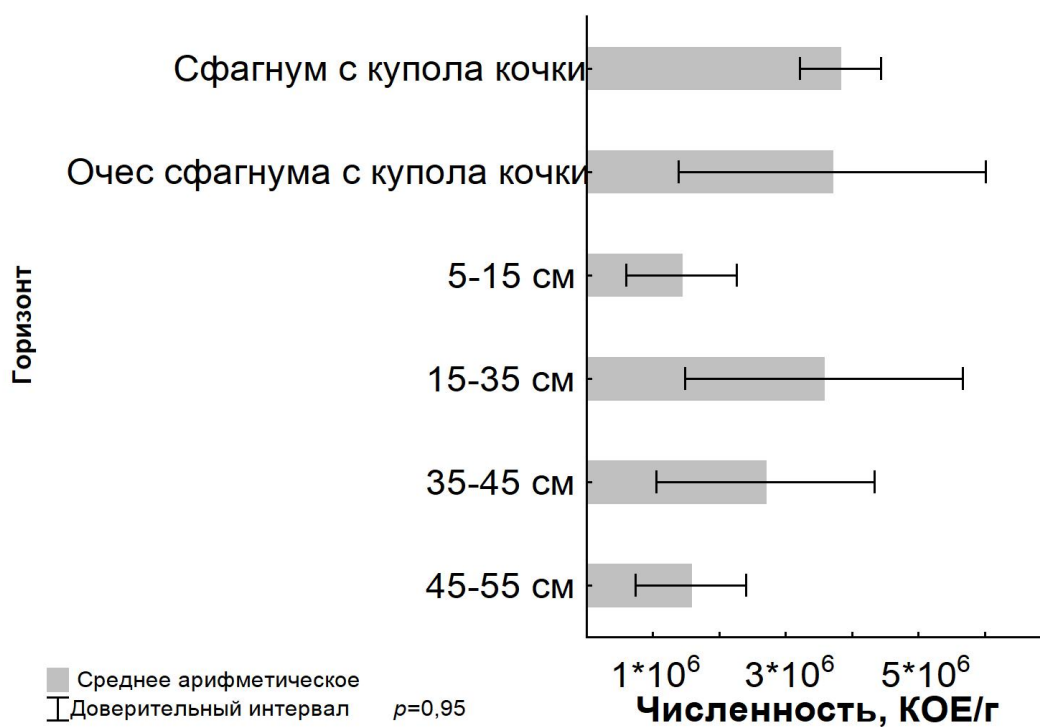


Рис. 15. Распределение численности бактерий по профилю кочки

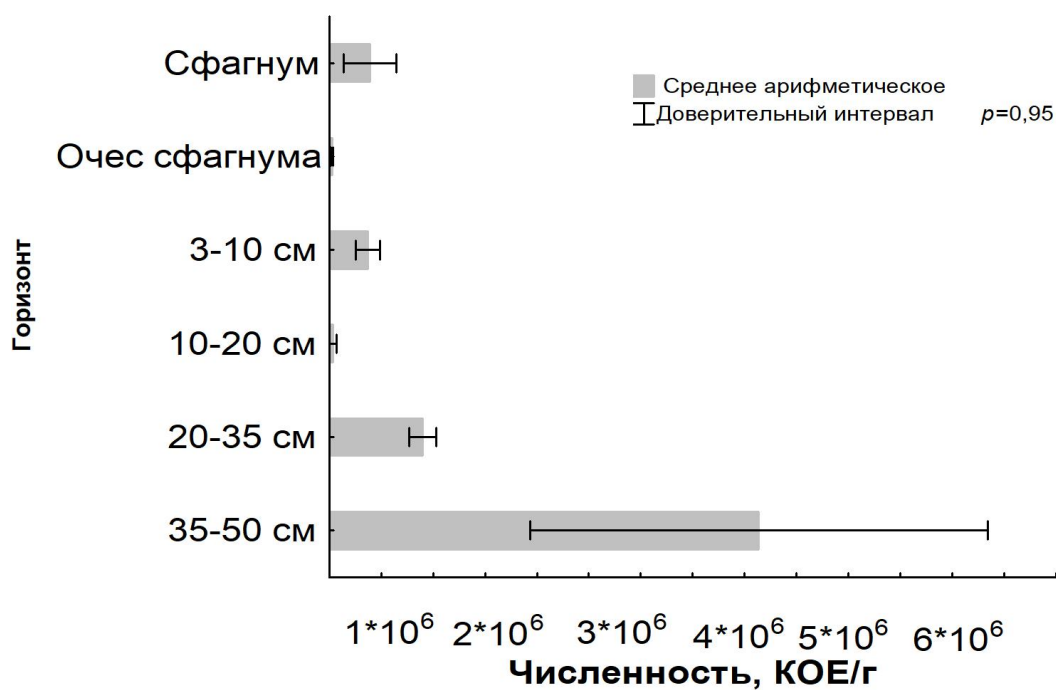


Рис. 16. Распределение численности бактерий по профилю ровной поверхности

Теперь перейдём к анализу таксономического состава бактериальных сообществ на разных элементах микрорельефа. Поскольку во всех микролокусах доминировали протеобактерии, была проведена идентификация выделенных культур бактерий на основании секвенирования нуклеотидных последовательностей гена 16s рРНК. Бактериальные доминанты были в общем представлены всего 4 родами, а именно: *Pseudomonas* и *Acinetobacter*, а также *Dyella* и *Burkholderia* (таблица 3), (рис. 17, 18, 19, 20). (по данным Юрченко Е.Н., Влияние микрорельефа верхового торфяника на структуру и функции бактериальных сообществ, 2015).

Таблица 3

Таксономическое положение доминирующих родов протеобактерий*

Название рода	Класс	Порядок	Семейство
<i>Pseudomonas</i>	γ -Proteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae
<i>Acinetobacter</i>			Moraxellaceae
<i>Dyella</i>			Xanthomonadaceae
<i>Burkholderia</i>	β –Proteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae

*по данным Юрченко Е.Н., Влияние микрорельефа верхового торфяника на структуру и функции бактериальных сообществ, 2015

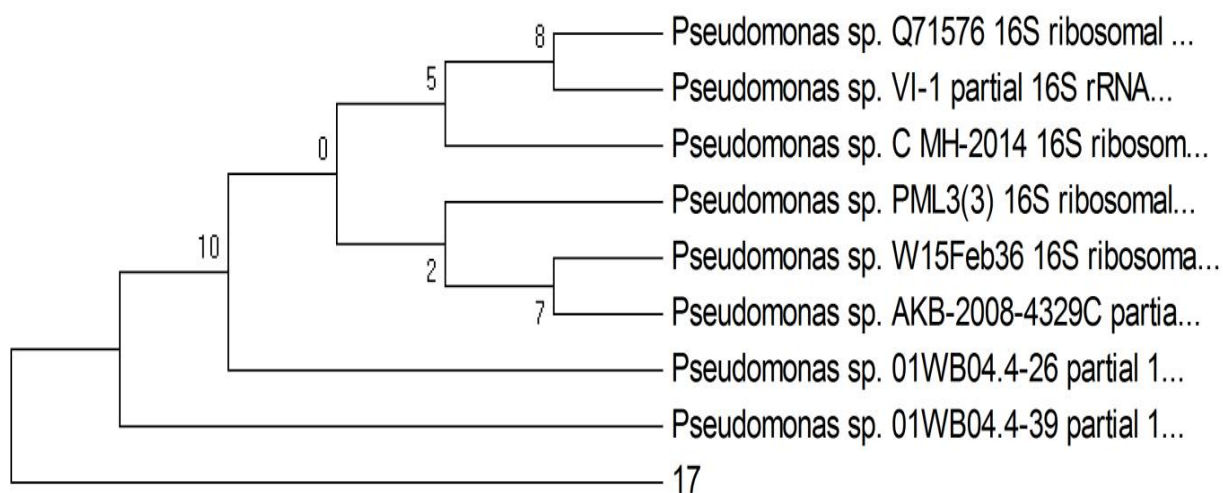


Рис. 17. Дендрограмма выделенной культуры рода *Pseudomonas*

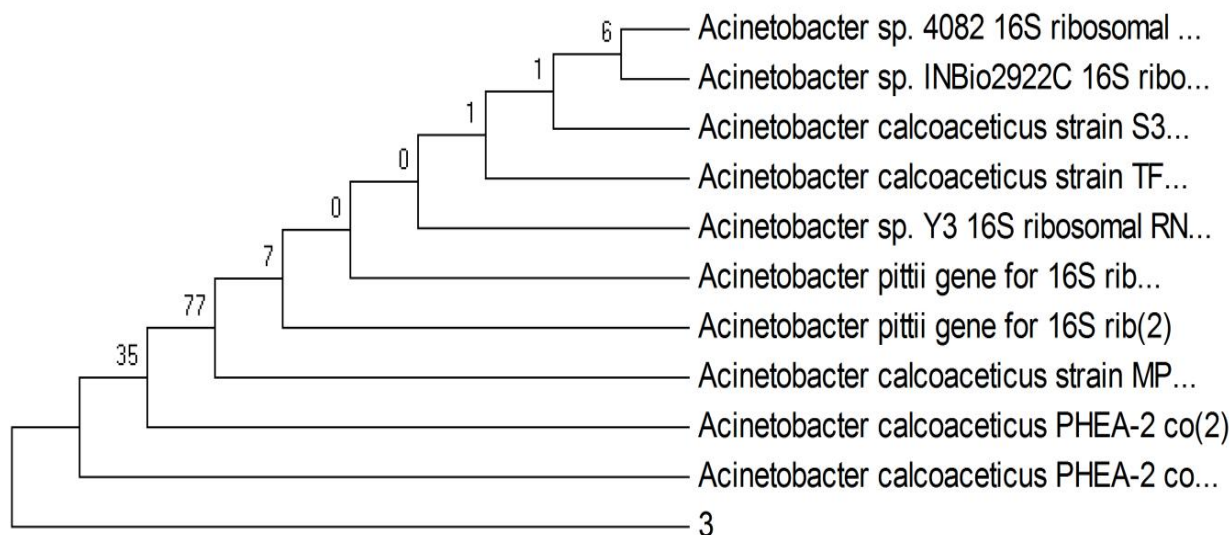


Рис. 18. Дендрограмма выделенной культуры рода *Acinetobacter*

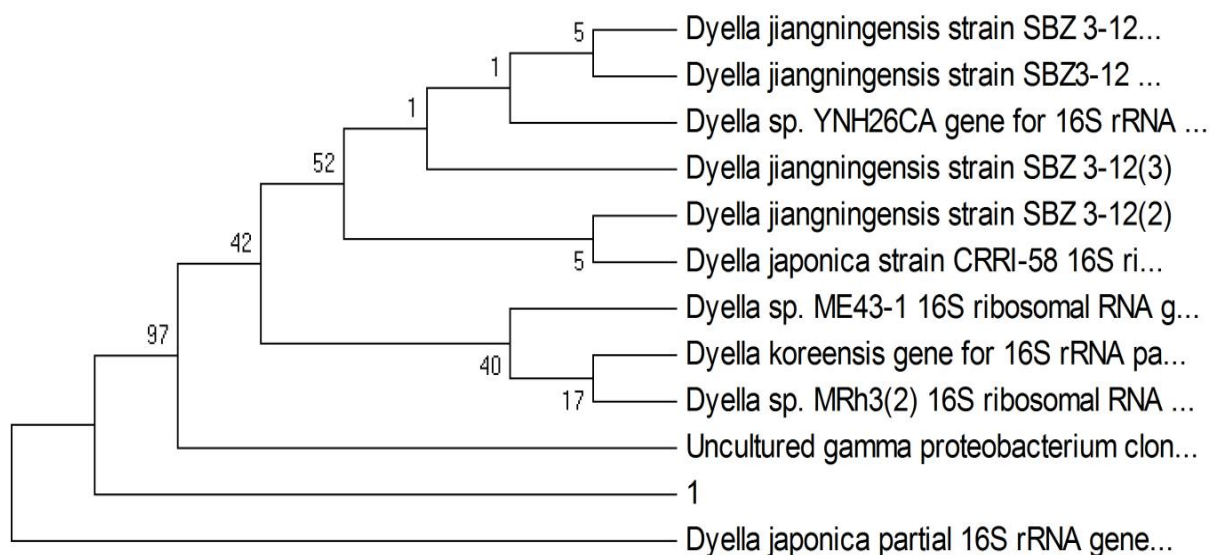


Рис. 19. Дендрограмма выделенной культуры рода *Dyella*

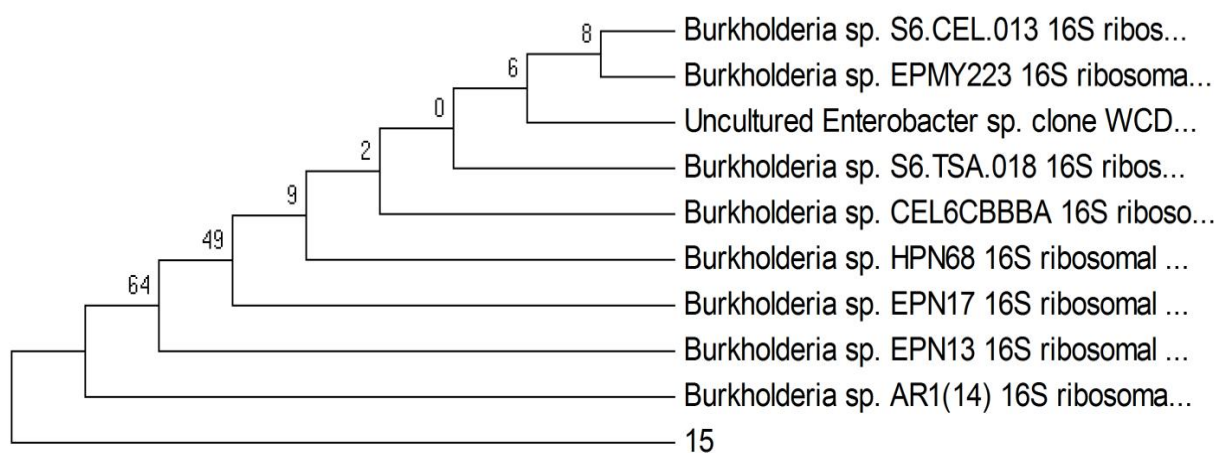


Рис. 20. Дендрограмма выделенной культуры рода *Burkholderia*

Представители перечисленных первых трех общих родов относятся хотя и к разным филогенетическим семействам, но все же к одному общему классу (γ -Proteobacteria), а также порядку (Pseudomonadales), а род *Burkholderia* - к классу β -Proteobacteria. Бактерии указанных родов относятся к такой экологотрофической группе, как копитрофы, и являются неспособными к гидролизу более сложных полимеров. Все выделенные бактерии являются аэробами. Роды *Pseudomonas* и *Burkholderia* упоминаются во многих работах русских и

зарубежных исследователей и считаются характерными представителями сфагновых болот. О выделении представителей родов *Dyella* и *Acinetobacter* из сфагновых болот ранее не сообщалось.

Представители родов *Acinetobacter* и *Burkholderia* присутствовали во всех типах рассматриваемого микрорельефа - как в очёсе, так и в торфянистых горизонтах (таблица 4). В большинстве случаев они были доминантами. На кочке общая доля буркхольдерий в итоге составляла от 65 до 88% от всего общего количества обнаруженных протеобактерий, при этом на пологой, ровной поверхности болота они были впоследствии обнаружены лишь в очёсе сфагноума (15%). Кроме того, акинетобактер доминировал в основном в буром очёсе сфагноума болотной кочки, на пологих ровных площадках, при этом его доля значительно колебалась в пределах 7-37% и увеличивалась при этом с глубиной. А представители бактериальных родов *Dyella* и *Pseudomonas* были обнаружены только в живом сфагнуме, для *Pseudomonas* это была кочка, для *Dyella* – ровная поверхность.

Таблица 4

Распределение бактерий разных родов по профилю торфяников

Положение в рельефе	Горизонт/глубина, см	Название рода	Доля, %
Кочка	сфагнум с основания кочки	<i>Pseudomonas</i>	70
	очес сфагноума с купола кочки	<i>Acinetobacter</i>	85
	5-15 см		1
	5-15 см	<i>Burkholderia</i>	65
	15-35 см		85
	35-45 см		88
	45-55 см		78

Окончание таблицы 4

Распределение бактерий разных родов по профилю торфяников

Положение в рельефе	Горизонт/глубина, см	Название рода	Доля, %
Ровная поверхность	сфагнум (0-3 см)	<i>Dyella</i>	59
	3-10 см	<i>Burkholderia</i>	15
	3-10 см	<i>Acinetobacter</i>	7
	10-20 см		21
	20-35 см		31
	35-50 см		37

Представители таких родов, как *Pseudomonas* и *Flavobacterium*, а также *Burkholderia* и *Dyella*, были выделены ранее из мха сфагнума, произрастающего на болоте, в качестве его эндофитных бактерий - характерных обитателей гаметофитов сфагнума (Щербаков, 2014). Следует отметить также работы зарубежных исследователей (Warmink et al., 2009 и др.), в которых сообщается, что бактерии родов *Burkholderia* и *Dyella* обнаружены в торфяных почвах в микосфере, где складываются положительные взаимодействия между этими бактериями и грибами. Ими было также установлено, что обычно ассоциированные с определенными грибами бактерии вида *Burkholderia terrae* постоянно защищают эти грибы от различных антагонистических агентов.

Теперь перейдём к оценке физиологического разнообразия исследуемых бактериальных сообществ на разных элементах микрорельефа. На рис. 21 представлены результаты определения максимальной удельной скорости роста и метаболической готовности к росту ассоциаций на полимерах. Оба показателя были значительно выше в кочке, чем на ровной поверхности. Поскольку среди доминирующих бактерий преобладали протеобактерии, их функции сводятся, в основном, к использованию таких простых веществ как сахара, органические

кислоты, аминокислоты. Учитывая, что общее время жизни сфагновых мхов на болотных повышениях больше, то можно с уверенностью сказать, что в целом повышение микрорельефа является более стабильной формой микрорельефа во времени. И всё это, также сочетаясь со значительно большей концентрацией доступного кислорода в сфагновых кочках, при общем сравнении с ровными поверхностями, наглядно свидетельствует о значительно более благоприятных природных условиях для последовательного развития и продолжительного функционирования исследуемых микроорганизмов в болотных кочках. Однако, говорить о разной степени общей деструкции верхового торфа в таких разных элементах болотного микрорельефа невозможно, учитывая низкую общую скорость разложения в целом верхового торфа. Из приведённых нами данных следует, что даже на глубине 50 см степень деструкции сфагнового торфа составляет всего лишь 16%. Только в нижележащих горизонтах с переходным древесно-травяным типом торфа она приближается к 50%. Однако, кроме сложных полимеров, входящих в состав сфагноума, которые с трудом поддаются гидролизу микроорганизмами, в тканях живого мха также присутствует достаточно большая фракция из легкодоступного для большинства микроорганизмов суммарного органического вещества. Легко гидролизуемые и водорастворимые соединения составляют 42-52% в сфагновых мхах. На долю же углеводов приходится около 40-80% от общей органической массы зеленых растений. Также у зеленых сфагновых мхов стабильно наблюдается большое общее содержание таких органических кислот, как щавелевая и яблочная, а также янтарная и лимонная (по данным Montenegro, 2009). Таким образом, развивающиеся на поверхности и внутри клеток сфагноума бактерии могут потреблять эти вещества. Недаром, как установлено многими авторами и подтверждено в наших исследованиях, в олиготрофных верховых торфах доминируют обычные протеобактерии, и среди них значительно преобладают копиотрофы, а также олиготрофы – то есть бактерии, обычно неспособные к гидролизу достаточно сложных полимеров, но при этом хорошо растущие на доступных сахарах и органических кислотах, а также аминокислотах.

К последовательному гидролизу значительно более сложных органических полимеров (например, хитин, целлюлоза и кератин) потенциально были готовы бактериальные сообщества очёса сфагнома - рост был на всех полимерах. Из ячеек, содержащих в себе среды с целлюлозой, а также хитином, удалось в итоге выделить и чистые культуры бактерий, а кроме того, определить эти культуры до рода. В результате представители таких родов, как *Cytophaga* и *Chitinophaga* доминировали на целлюлозе и хитине соответственно. Эта связь может прослеживаться в связи с многочисленными контактами микроорганизмов кочки с различными полимерами высших растений и грибов, произрастающих на кочках.

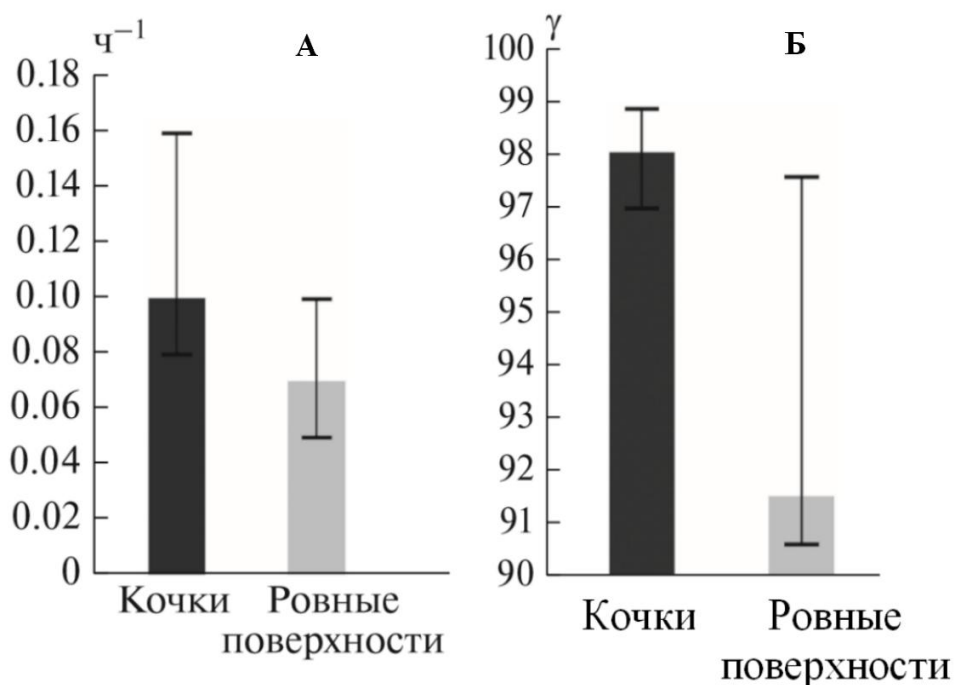


Рис. 21. Бактериальный гидролитический комплекс очёса сфагнома.

А - максимальная удельная скорость роста. Б - метаболическая готовность к росту

3.2. Численность и таксономическая структура бактериальных сообществ болотных растений

Численность бактерий, установленная прямым люминесцентным методом, варьировала на разных типах и органах травянистых растений от $0,6$ до $4,2 \cdot 10^9$ клеток/г. При этом минимальные значения численности были зафиксированы на росянке. Различий в численности бактерий на листьях и корнях практически не было. Бактериальная численность, определённая методом посева, была на всех растениях выше на 1-2 порядка на листьях, по сравнению с корнями, достигая максимума в филлосфере пушицы (таблица 5). Численность бактерий на разных органах вересковых растений, установленная прямым счётом, варьировала в пределах одного порядка от 1×10^9 до $3,4 \times 10^9$ кл./г. Максимальная численность бактерий была выявлена на корнях клюквы и багульника (таблица 6).

Таблица 5

Численность бактерий на листьях и корнях травянистых растений

Растение	Орган растения	Численность бактерий	
		прямой метод, кл/г	метод посева, КОЕ/г
Осока черная (<i>Carex nigra</i>)	листья	$2,4 \cdot 10^9$	$1,1 \cdot 10^7$
	корни	$4,2 \cdot 10^9$	$1,0 \cdot 10^5$
Пушица влагалищная (<i>Eriophorum vaginatum</i>)	листья	$2,3 \cdot 10^9$	$4,3 \cdot 10^8$
	корни	$2,2 \cdot 10^9$	$1,9 \cdot 10^6$
Росянка круглолистная (<i>Drosera rotundifolia</i>)	листья	$0,6 \cdot 10^9$	$1,4 \cdot 10^6$
	корни	$0,9 \cdot 10^9$	$2,1 \cdot 10^5$

Таблица 6

Численность бактерий на вегетативных органах вересковых растений и мхов

Растение	Вегетативный орган	Численность бактерий	
		прямой метод 10 ⁹ клеток/г	метод посева 10 ⁵ КОЕ/г
Подбел обыкновенный (<i>Andromeda polifolia</i> L.)	листья	2,0±0,3	10,4±0,3
	стебли	2,1±0,1	13,3±3,1
	корни	1,5±0,1	9,7±1,8
Багульник болотный (<i>Ledum palustre</i> L.)	листья	1,4±0,1	9,2±1,8
	стебли	2,0±0,3	11,4±2,1
	корни	3,0±0,2	10,3±1,7
Черника миртолистная (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.)	листья	2,5±0,2	75,0±7,2
	стебли	1,9±0,2	12,0±1,9
	корни	2,6±0,1	12,0±2,3
Брусника обыкновенная (<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L.)	листья	2,5±0,1	142,0±12,2
	стебли	2,5±0,1	122,0±10,5
	корни	2,7±0,1	13,0±2,1
Клюква обыкновенная (<i>Vaccinium oxycoccus</i> L.)	листья	2,3±0,3	115,0±15,3
	стебли	1,8±0,05	13,3±1,3
	корни	3,4±0,1	4,7±0,7
Голубика обыкновенная (<i>Vaccinium uliginosum</i> L.)	листья	1,1±0,1	7,4±1,8
	стебли	1,7±0,2	14,3±2,2
	корни	2,3±0,1	1,7±0,2
Сфагнум бурый (<i>Sphagnum fuscum</i> (Schimp.) H. Klinggr)	листья, стебли	1,5±0,07	0,3±0,04
	ризоиды	2,5±0,1	0,7±0,02

Численность бактерий на вегетативных органах вересковых растений и
МХОВ

Растение	Вегетативный орган	Численность бактерий	
		прямой метод 10 ⁹ клеток/г	метод посева 10 ⁵ КОЕ/г
Сфагнум магелланский (<i>Sphagnum magellanicum</i> Bird.)	листья, стебли	1,5±0,07	0,5±0,03
	ризоиды	2,2±0,07	0,7±0,04
Сфагнум обманчивый (<i>Sphagnum fallax</i> H. Klinggr)	листья, стебли	2,0±0,1	1,8±0,2
	ризоиды	2,4±0,07	2,1±0,3

Численность бактерий эпифитно-сапротрофного комплекса на вересковых растениях колебалась в пределах 10⁵ - 10⁸ КОЕ/г, достигая максимума в филлосфере брусники и клюквы (таблица 6). На листьях и ризоидах сфагнума концентрация бактерий, определённая прямым методом, была примерно такой же, как на вересковых растениях. Однако, по методу посева в сфагнуме бактериальная численность была на 1-2 порядка ниже, чем на вересковых растениях, составляя от 0,3 до 1,8 10⁵ КОЕ/г, увеличиваясь незначительно на листьях, по сравнению с ризоидами.

Таким образом, численность бактерий на всех видах исследованных растений, определённая прямым люминесцентным методом, колебалась в пределах одного порядка - от 0,6 до 4,2 10⁹ кл/г. Бактериальная численность на исследованных растениях, установленная путём подсчёта колоний на чашках с питательной средой (ГПД), изменялась в пределах 1-3 порядков в зависимости как от органа, так и вида растения, достигая максимума на листьях брусники и клюквы. Факторный дисперсионный анализ подтвердил, что численность бактерий достоверно определял как орган растения (Критерий Фишера (F)=199 при p<0,001), так и вид растения (F=179, при p<0.001).

Теперь рассмотрим таксономический состав бактериальных комплексов на травянистых растениях, вересковых кустарничках и сфагнуме. Вследствие доминирования протеобактерий на большинстве органов исследуемых растений выделенные культуры протеобактерий были идентифицированы на основании 16SpPHK. В результате было установлено, что почти на всех исследуемых растениях, как травянистых, так и вересковых кустарничках, присутствуют представители одного и того же вида бактерий *Stenotrophomonas rhizophila* (таблица 7) (рис. 22).

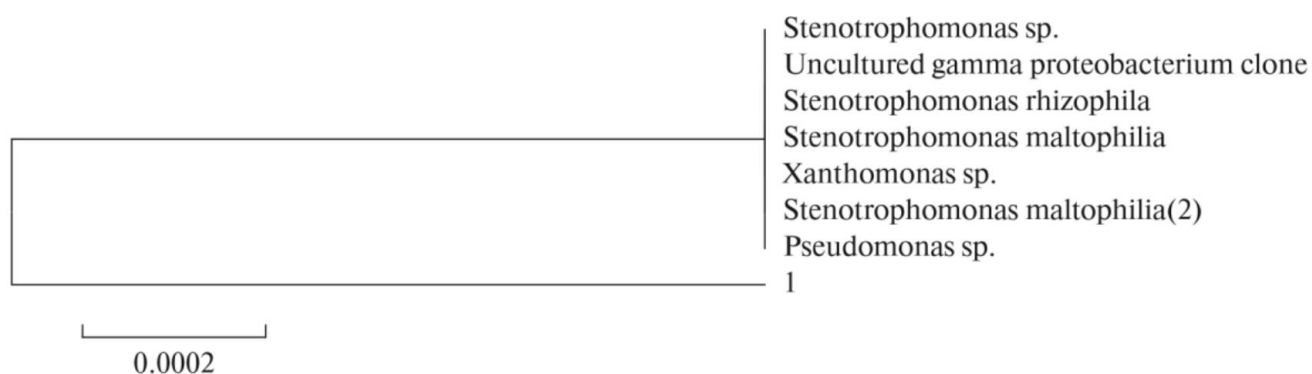
Таблица 7

Доминирующие таксоны в бактериальных сообществах болотных растений

Вид растения	Роды и виды бактерий
Осока черная (<i>Carex nigra</i> L.)	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> <i>Ochrobactrum rhizosphaera</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Erwinia</i>
Пушица влагалищная (<i>Eriophorum vaginatum</i> L.)	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> <i>Pseudomonas</i> , <i>Erwinia</i>
РосЯнка круглолистная (<i>Drosera rotundifolia</i> L.)	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>
Клюква обыкновенная (<i>Vaccinium oxycoccus</i> L.)	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>
Брусника обыкновенная (<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L.)	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>
Голубика обыкновенная (<i>Vaccinium uliginosum</i> L.)	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> <i>Serratia grimesii</i> , <i>Serratia</i> <i>proteamaculans</i>
Черника миртолистная (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.)	<i>Pseudomonas koreensis</i>

Доминирующие таксоны в бактериальных сообществах болотных растений

Вид растения	Роды и виды бактерий
Подбел обыкновенный (<i>Andromeda polifolia</i> L.)	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> , <i>Chryseobacterium polytichastri</i> , <i>Chryseobacterium soli</i>
Багульник болотный (<i>Ledum palustre</i> L.)	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> <i>Pseudomonas viridiflava</i>
Сфагнум магелланский (<i>Sphagnum magellanicum</i> Bird.)	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> <i>Chryseobacterium soli</i>

Рис. 22. Дендрограмма выделенной культуры *Stenotrophomonas rhizophila*.

Масштаб показывает эволюционное расстояние, соответствующее 2 нуклеотидным заменам на каждые 10000 нуклеотидов

Только в бактериальных сообществах черники доминирующими оказались бактерии *Pseudomonas koreensis*, а бактерии рода *Stenotrophomonas* – минорными компонентами. В качестве второго доминанта на осоке и пушице были выявлены представители факультативно-анаэробных бактерий рода *Erwinia*, а на осоке ещё и род *Ochrobactrum*. На багульнике обнаружили представителей вида *Pseudomonas viridiflava*, на подбеле – бактерии видов *Chryseobacterium soli* и

Chryseobacterium polytichastri, на голубике – факультативно анаэробные бактерии видов *Serratia grimesii* и *Serratia proteamaculans* (таблица 7) (рис. 23).

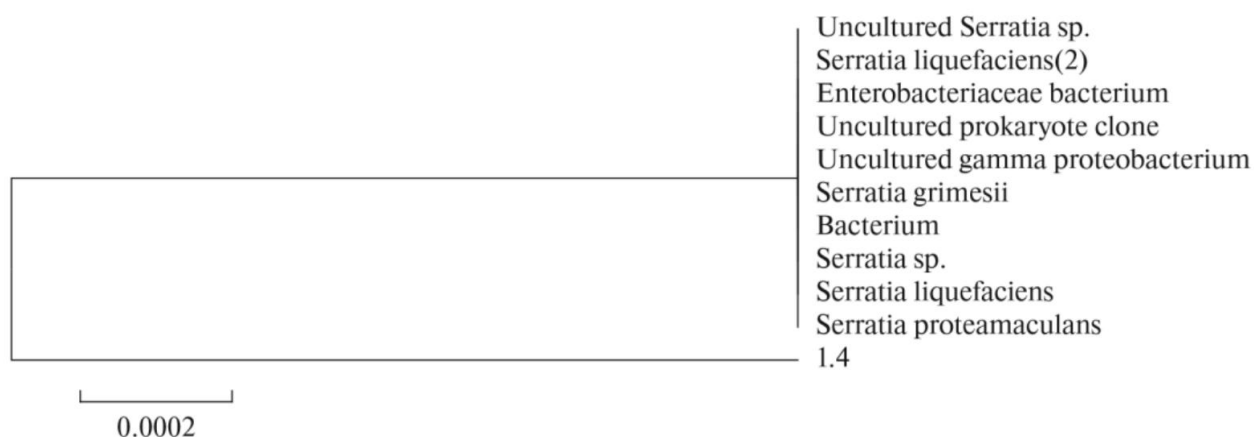


Рис. 23. Дендрограмма выделенной культуры *Serratia proteamaculans*. Масштаб показывает эволюционное расстояние, соответствующее 2 нуклеотидным заменам на каждые 10000 нуклеотидов

В сфагнуме протеобактерии были представлены двумя теми же родами, что и на исследуемых растениях - *Stenotrophomonas* и *Chryseobacterium*. Следует отметить, что все обнаруженные роды относятся к подклассу гамма-протеобактерий, кроме рода *Ochrobactrum* – подкласс альфа-протеобактерии и рода *Chryseobacterium*, входящего в филум Bacteroidetes, класс Flavobacteria (таблица 7).

Теперь следует проанализировать экологические функции доминирующих таксонов протеобактерий. Бактерии вида *Stenotrophomonas rhizophila* были впервые изолированы из ризосферы картофеля и описаны как новый вид (Wolf et al. 2002). Было установлено, что они способны стимулировать рост различных растений и, кроме того, подавлять рост опасных фитопатогенных грибов. Известно также про использование этих бактерий, как и представителей других видов рода *Stenotrophomonas*, для биоремедиации почв благодаря их способности деградировать ксенобиотики (Binks et al. 1995).

Род *Chryseobacterium* – результат переклассификации 5 видов рода *Flavobacterium* (Vandamme et al. 1994). Представителей этого рода выделяли из самых разных местообитаний: корни растений, почва, вода, рыба. Обнаруженный в качестве доминанта на подбеле вид *Chryseobacterium soli* был изолирован из почвы и описан корейскими учеными (Weon et al. 2008). Бактерии другого вида *Chryseobacterium polytichastri* удалось выделить из Тибетского мха – *Polytrichastrum formosum*. Бактерии этих видов способны расти при 4°C и pH 5 и использовать казеин, твин, крахмал, тирозин (Chen et al. 2015).

Что касается рода *Serratia*, относящегося к семейству Enterobacteriaceae, то многие виды этого рода, являются условно патогенными бактериями. В то же время обнаружены представители рода *Serratia*, которые способны стимулировать рост растений и обладают антагонизмом по отношению к фитопатогенным грибам, могут уничтожать их за счёт высокой хитиназной активности. Такие свойства присущи тем видам, которые были обнаружены на голубике (Grimont et al. 1981; Madhuprakash et al. 2013).

Бактерии рода *Pseudomonas* фактически являются типичными копиотрофами, которые ассоциированы с различными растениями, а также почвами. Они участвуют в деструкции органического вещества, но не способны использовать трудно гидролизуемые соединения. У выделенного из багульника вида *Pseudomonas viridiflava* была выявлена способность к образованию экомицинов. Эти вещества обладают высокой антагонистической активностью по отношению к широкому спектру патогенных грибов, вызывающих болезни человека и растений (Miller et al. 1998). Бактерии вида *Ochrobactrum rhizosphaerae* были впервые выделены из ризосферы картофеля (Kampfer et al., 2008). Они являются типичными копиотрофами, использующими различные сахара, органические кислоты, твины. Таким образом, большинство выделенных из болотных растений бактерий, судя по литературным данным, обладают полезными, экологически значимыми свойствами, способными поддерживать жизнестойкость этих растений.

3.3. Таксономическая структура и функции бактериальных сообществ в ризосферной почве под болотными растениями

Поскольку ранее нами было установлено, что на разных типах исследованных болотных растений доминируют представители одних и тех же родов бактерий, в дальнейших исследованиях по изучению бактериального разнообразия в ризосферной почве под болотными растениями были выбраны только 3 вида растений: вересковый кустарничек - багульник, и травянистые растения - пушица и осока. Эти исследования проводились **с помощью метода высокопроизводительного секвенирования консервативного участка гена 16S рРНК**. В результате было установлено, что протеобактерии в ризосферной почве под исследуемыми видами болотных растений представлены следующими филумами: Proteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteria, Verrucomicrobia, Bacteroidetes, Planctomycetes, Cyanobacteria, Firmicutes, Chloroflexi, WPS-2 (рис. 24). Суммарно они составляют 96–99% бактериального сообщества.

Наибольшую долю в микробиомах имеют филумы Proteobacteria (35–49% от общего числа сиквенсов) и Acidobacteria (28–39%). Представители Actinobacteria и Verrucomicrobia составляют не более 10% от общего числа сиквенсов. Доля остальных групп (Bacteroidetes, Planctomycetes, Cyanobacteria, Firmicutes, Chloroflexi и не имеющих культивированных представителей филума кандидат WPS-2) низка и варьирует от 1 до 3%. Протеобактерии в микробиомах принадлежат к трем классам: α -Proteobacteria, γ -Proteobacteria и δ -Proteobacteria. Среди них преобладают представители α -Proteobacteria (22–42% общего числа сиквенсов). Доля γ -Proteobacteria варьирует от 5 до 8%, δ -Proteobacteria – от 2 до 7%. В ризосферной почве под багульником выявлена максимальная доля альфа-протеобактерий. Она в два раза превосходит таковую для осоки и пушицы. Доля ацидобактерий, напротив, выше в почве под осокой и пушицей (рис. 24).

Таким образом, для бактериальных сообществ ризосферной почвы, независимо от вида болотного растения, характерно доминирование ацидобактерий и альфа-протеобактерий. Благодаря использованию метода

высокопроизводительного секвенирования консервативного участка гена 16S рРНК в исследуемой ризосферной почве удалось выявить 24 рода бактерий. Максимальное их число зафиксировано среди альфа-протеобактерий, актинобактерий и ацидобактерий. В других филумах обнаружили лишь по одному–два рода (таблица 8).

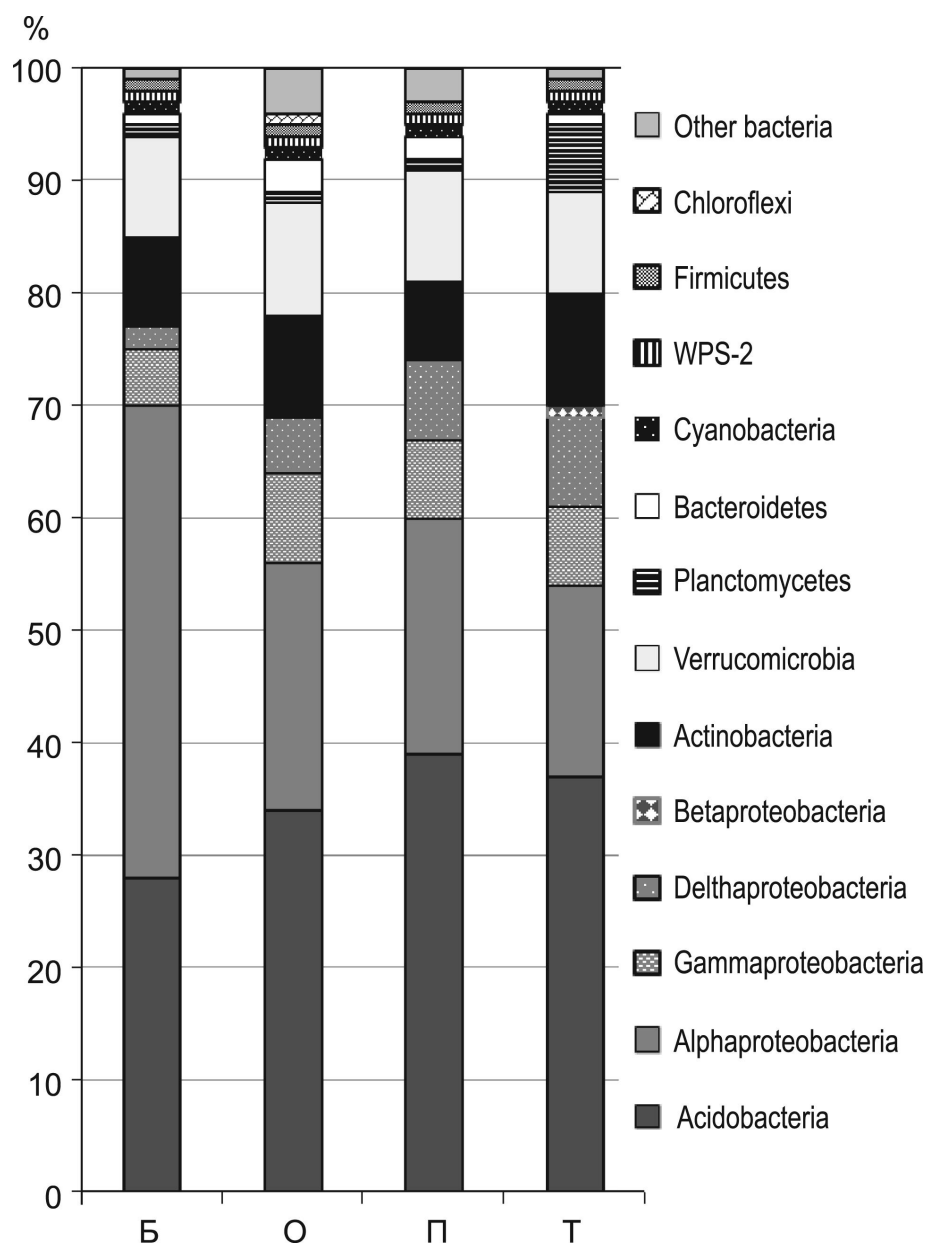


Рис. 24. Таксономическая структура (на уровне филумов) бактериальных сообществ ризосферной почвы под растениями и в поверхностном слое (0 – 5 см) верхового болота: Б – багульник, О – осока, П – пушица, Т – торф (результаты для образцов торфа по данным Serkebaeva Y.M. et al., 2013)

Таблица 8

Спектр родов бактерий, обнаруженных в ризосферной почве под типичными растениями верховых болот

Таксон			Растение		
Класс	Семейство	Род	Багуль- ник	Осока	Пушица
Alphaproteobacteria	Bradyrhizobiaceae	<i>Bradyrhizobium</i>	+	+	+
	Roseiarcaceae	<i>Roseiarcus</i>	+	+	+
	Xanthobacteraceae	<i>Nitrobacter</i>	–	+	–
		<i>Pseudolabris</i>	–	–	+
	Acetobacteraceae	<i>Acidocella</i>	+	+	+
	Magnetospirillaceae	<i>Telmatospirillum</i>	+	+	–
Gammaproteobacteria	*	<i>Acidibacter</i>	+	+	+
Acidobacteria	Acidobacteriaceae	<i>Occallatibacter</i>	+	+	+
		<i>Acidicapsa</i>	+	–	–
		<i>Granulicella</i>	+	+	+
		<i>Acidipila</i>	–	–	+
	Solibacteraceae	<i>Bryobacter</i>	+	+	–
Actinobacteria	Mycobacteriaceae	<i>Mycobacterium</i>	+	–	–
	Acidothermaceae	<i>Acidothermus</i>	+	+	+
	Nocardiaceae	<i>Nocardia</i>	+	–	–
		<i>Rhodococcus</i>	–	+	–
	Conexibacteriaceae	<i>Conexibacter</i>	+	+	+
		<i>Solirubrobacter</i>	+	–	–

Примечание. Плюс (+) – таксон обнаружен; минус (–) – таксон не обнаружен; звездочка (*) – нет ни семейства, ни порядка.

Окончание таблицы 8

Спектр родов бактерий, обнаруженных в ризосферной почве под типичными растениями верховых болот

Таксон			Растение		
Класс	Семейство	Род	Багульник	Осока	Пушица
Verrucomicrobia	Opitutaceae	<i>Opitutus</i>	+	+	+
	Chtoniobacteraceae	<i>Chtoniobacter</i>	+	+	+
Planctomycetes	Planctomycetaceae	<i>Aquisphaera</i>	+	+	+
		<i>Singulisphaera</i>	+	–	–
Bacteroidetes	Sphingobacteriaceae	<i>Mucilaginibacter</i>	+	+	–
		<i>Cytophaga</i>	–	+	–

Примечание. Плюс (+) – таксон обнаружен; минус (–) – таксон не обнаружен; звездочка (*) – нет ни семейства, ни порядка.

Альфа-протеобактерии в исследуемых субстратах представлены родами *Bradyrhizobium*, *Roseiarcus*, *Nitrobacter*, *Pseudolabris*, *Acidocella* и *Telmatospirillum*. Бактерии родов *Rhizobium* и *Bradyrhizobium*, как известно, образуют клубеньки на корнях бобовых растений. Однако в последние годы из почв Европы и Японии выделены бактерии рода *Bradyrhizobium*, которые не способны к образованию клубеньков, а у некоторых культур отсутствуют и гены азотфиксации (Jones F.P. et al. 2016, Vaninsberghe D. et al. 2015). Функции этих бактерий сводятся к деградации ароматических соединений и денитрификации. В качестве субдоминанта род *Bradyrhizobium* упоминается в работе Брагиной (Bragina et al. 2012), в которой исследовались бактериальные сообщества в сфагнуме альпийских болот Австрии.

Бактерии рода *Roseiarcus* выделены впервые из метанотрофных сообществ кислого сфагнового болота и описаны как новый род и новое семейство *Roseiarcaceae*, входящее в класс *Alphaproteobacteria*, порядок *Rhizobiales*

(Kulichevskaya et al., 2014). Это бактериохлорофиллсодержащие бактерии, растущие на некоторых сахарах и органических кислотах в микроаэрофильных условиях. Если бактерии рода *Nitrobacter* – типичные нитрит-окисляющие, встречающиеся в большинстве почв и водоемах, то бактерии рода *Pseudolabris* впервые были выделены из краснозема Тайваня и описаны как новый род и вид *Pseudolabris taiwanensis* (Kampfer P. et al., 2006). Бактерии этого рода не растут на сахарах, используют только ацетат, фумарат и лактат. От ближайшего рода *Labrys* они отличаются, в основном, по составу жирных кислот.

Род *Acidocella* описан в результате перенесения двух видов рода *Acidiphilum* (*A. facilis* и *A. amynolitica*) в новый род *Acidocella* (Kishimoto N. et al., 1995). Бактерии этого рода выделяли из различных кислых почв и кислых термальных источников, а также в качестве доминантов из живого сфагнума. Они являются облигатными ацидофильными организмами, растущими при pH сол. 2,5–6,0, способными к развитию на различных ароматических соединениях (бензойная кислота, фенол, нафталин), а также на некоторых сахарах. Некоторые штаммы устойчивы к тяжелым металлам (кадмий, никель, медь, цинк) (Bragina et al., 2012).

Бактерии рода *Telmatospirillum* – факультативно-анаэробные ацидотолерантные компоненты метаногенного сообщества, выделены из мезотрофного болота Сибири (Sizova et al., 2007). В аэробных условиях они могут расти как хемоорганотрофы – на глюкозе и некоторых органических кислотах, а при анаэробных условиях – как автотрофы, используя водород и углекислый газ. **Таким образом, среди альфа-протеобактерий представители трех родов способны к деградации различных ароматических соединений, остальные используют сахара, органические кислоты, аминокислоты.**

Бактерии класса Gammaproteobacteria представлены в ризосферной почве под исследуемыми растениями только одним родом – *Acidibacter*. Представители этого рода впервые были выделены из озера, образовавшегося на заброшенных горных выработках в Испании (Falagan et al., 2014). Это умеренные ацидофилы, способные расти на гексозах, дисахаридах и некоторых других органических

соединениях. Их особенность – устойчивость к высоким концентрациям железа, алюминия и способность окислять железо в строго анаэробных условиях.

Спектр ацидобактерий включает представителей пяти родов: *Occalatibacter*, *Acidicapsa*, *Granulicella*, *Acidipila* и *Bryobacter*. Бактерии рода *Occalatibacter* впервые были выделены из пойменной почвы Намибии и описаны как новый род, содержащий два вида – *O. ripars* и *O. savannae* (Foesel B.U et al., 2016). Это ацидотолерантные бактерии, использующие для роста многие сахара и полисахариды. Они способны к гидролизу пектина и хитина, но не крахмала и целлюлозы. Другие представители ацидобактерий (обнаруженные только под багульником) – аэробные, ацидофильные бактерии рода *Acidicapsa* были выделены ранее из сфагнового болота и описаны как новый род (Kulichevskaya et al., 2012). Предпочтительные субстраты – сахара, пектин, галактуриновая и глюкуроновая кислоты.

Бактерии рода *Granulicella* впервые были выделены также из кислых сфагновых болот и описаны как новый род, содержащий четыре вида (Pankratov et al., 2010). Это ацидофильные психротолерантные бактерии, способные использовать многие сахара и полисахариды, включая пектин, ксилан, крахмал, лихенан, но не целлюлозу и хитин.

Бактерии рода *Acidipila* (выявлены под пушицей) впервые выделены из кислых почв Японии и описаны как новый род и вид - *Acidipila rosea* (Okamura K. et al., 2011). Это ацидофильные хемоорганотрофные бактерии, которые могут использовать различные сахара, а также пептон, глюконовую кислоту и некоторые аминокислоты.

Бактерии рода *Bryobacter* впервые выделены из сфагнового болота и описаны как новый род и вид *B. aggregatus* (Kulichevskaya et al., 2010). Это ацидотолерантные бактерии, способные использовать некоторые полисахариды, сахара и органические кислоты.

Таким образом, судя по характеристике родов ацидобактерий, все их представители способны к деструкции пектина и других полисахаридов, использованию большинства сахаров, некоторых органических кислот,

аминокислот и ароматических соединений. Ацидобактерии только одного рода *Occallatibacter* могут разлагать хитин.

Из актинобактерий в ризосферной почве под растениями удалось обнаружить шесть родов: *Acidothermus*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Conexibacter* и *Solirubrobacter* (таблица 9). Бактерии рода *Acidothermus* впервые выделены из кислых термальных источников и описаны как новый род и вид *A. cellulolyticus* (Mohagheghi et al., 1986). Впоследствии бактерии этого рода были выделены из лесных почв наряду с другими целлюлолитическими бактериями при поиске продуцентов ферментов, необходимых для деградации целлюлозы (Talia et al., 2012) а также из пустынных почв Монголии (Курапова и др., 2012).

Бактерии рода *Mycobacterium*, несмотря на то, что среди представителей этого рода, как известно, доминируют патогенные организмы, обнаружены в почвах в качестве сапротрофных и экологически значимых. Так, из мерзлотных торфянистых почв Якутии бактерии родов *Mycobacterium* и *Streptomyces* выделялись в качестве субдоминантов (Иванова и др., 2012). Быстрорастущие сапротрофные представители рода *Mycobacterium* обнаружены в почвах, загрязненных полициклическими ароматическими углеводородами (Leys et al., 2005). Известно, что микробные препараты, содержащие разные виды углеводородокисляющих микобактерий, используются для рекультивации почв, загрязненных нефтью.

Бактерии родов *Nocardia* и *Rhodococcus* фактически являются типичными и распространенными обитателями почв и ризосферы разных типов растений (Зенова и др., 2002). Специфические функции нокардий в почве описаны Е.З. Теппер (Теппер и др., 2018) и Н.А. Манучаровой (Манучарова, 2014). Исследование общих физиолого-биохимических свойств у различных видов представителей *Nocardia* продемонстрировало их способность к достаточно медленному использованию, например, гуминовой кислоты, а также родственных ей соединений (например, ароматические, а также азотсодержащие гетероциклические сложные соединения). Упомянутые выше авторы также обращают особое внимание на общую специфику также и ферментативного

аппарата исследованных нокардий, отличающегося фактическим отсутствием у многих видов нокардий протеиназы и амилазы, а также инвертазы и, кроме прочего, некоторых других значимых гидролитических ферментов. Такая их особенность значительно ограничивает возможность активного участия данных исследуемых организмов в последовательном преобразовании любых свежих и неразложившихся органических остатков, а также предопределяет такое использование ими наиболее устойчивых из продуктов распада, таких, как: углеводороды и лигнин, а также гумусовые вещества исследуемой почвы.

Также актинобактерии такого рода, как *Rhodococcus* способны легко окислять как высокомолекулярные n-алканы, так и достаточно сложные по своей структуре хлорорганические молекулярные соединения, которые очень трудно поддаются любой биодegradации (например, бензол и толуол, нафталин и полихлорбифенилы, а также некоторые гербициды). Кроме того, доминирование бактерий рода *Rhodococcus* выявлено в городских почвах, особенно при их загрязнении нефтью и полихлорбифенилами (Лысак и др., 2018). Отдельные штаммы родококков в настоящее время используются при производстве бактериальных препаратов, применяемых для биоремедиации почв, загрязненных нефтью.

Бактерии рода *Conexibacter* впервые выделены из лесных почв Италии и описаны как новый род и вид *C. woesei* (Monciardini et al., 2003). Бактерии этого вида растут при $pH_{\text{сол}}$ 7–7,5 и температуре 28–37°. Позднее был описан другой вид – *C. arvalis* (Seki T. et al., 2012). Его представители были выделены из почвы, используемой в сельском хозяйстве Японии. В отличие от типового вида *C. woesei*, бактерии этого вида способны расти в диапазоне $pH_{\text{сол}}$ 5–10 и при температуре 5–37°. В качестве источников углерода бактерии этого рода используют многие сахара и некоторые органические кислоты, гидролизуют желатин и эскулин, редуцируют нитраты.

Актинобактерии рода *Solirubrobacter* (обнаруженные под багульником) выделены впервые из норы дождевого червя сельскохозяйственной почвы и описаны как новый род и вид – *Solirubrobacter pauli* (Singleton D.R. et al., 2003).

Бактерии этого вида используют в качестве источников питания различные сахара, некоторые аминокислоты (аланин, лизин, аргинин), не растут на спиртах. **Таким образом, среди актинобактерий, обнаруженных в ризосферной почве под растениями верховых болот, выявлены роды, представители которых обладают способностью к деградации сложных полимеров и полициклических ароматических углеводов.**

Под исследуемыми видами болотных растений выявлены два рода, принадлежащих к филуму Verrucomicrobia (*Opitutus* и *Chthoniobacter*) (таблица 9). Бактерии рода *Opitutus* выделены впервые из почвы рисовых полей и описаны как новый род и вид – *Opitutus terrae* (Chin K.J. et al., 2001). Это облигатные анаэробы, которые могут использовать различные моно-, ди- и полисахариды, но не могут расти на спиртах, амино- и органических кислотах. Основные продукты их метаболизма – пропионат, ацетат, водород, этанол; кроме того, они могут редуцировать нитраты. Бактерии этого рода выявлены и в поверхностных слоях верхового торфа Ярославской обл. (Serkebaeva et al., 2013).

Представители рода *Chthoniobacter* были выделены впервые из почвы под клевером и райграсом в Австралии и описаны как новый род и вид – *Chthoniobacter flavus* (Sangwan et al., 2004). Бактерии этого вида – аэробы, растут на растительных полисахаридах, но не способны к росту на аминокислотах, органических кислотах и спиртах, т.е. используют те же субстраты, что и бактерии рода *Opitutus*.

Планктомицеты в ризосферной почве под исследуемыми растениями представлены двумя родами – *Aquisphaera* и *Singulisphaera* (таблица 9). Бактерии рода *Aquisphaera* впервые выделены из осадков аквариума, наполненного свежей водопроводной водой, и описаны как новый род и вид *A. giovannonii* (Bondoso J. et al., 2011). Это почкующиеся аэробные гетеротрофные бактерии, растущие при pH_{сол} 7,5–8,5 и температуре 30–35°. Они ассимилируют сахара, органические кислоты и аминокислоты, способны разлагать крахмал, желатин и пептон.

Планктомицеты рода *Singulisphaera* были выделены из кислых сфагновых болот Ярославской обл. и описаны как новый род и вид *S. acidiphila*

(Kulichevskaya et al., 2008). Это почкующиеся кокковидные бактерии, аэробные, но способные к росту и в микроаэробных условиях, умеренно ацидофильные, растущие при $\text{pH}_{\text{сол}}$ 4,2–7,5 и температуре 4–33°. Бактерии этого вида используют многие сахара и некоторые аминокислоты, могут гидролизовать пектин, желатин, ксилан, лихенан. Таким образом, оба рода планктомицетов являются типичными копиотрофами, осуществляющими свои функции в широком диапазоне значений pH и температуры. Обнаружение в ризосферной почве под болотными растениями бактерий рода *Singulisphaera*, выделенных впервые из верхового торфяника, закономерно, а рода *Aquisphaera*, по-видимому, случайно.

Бактерии из филума Bacteroidetes представлены в исследуемых субстратах родами *Mucilaginibacter* и *Cytophaga*. Бактерии рода *Mucilaginibacter* выделены впервые из кислого сфагнового болота Сибири и описаны как новый род и два вида – *M. paludis* и *M. gracilis* (Pankratov et al., 2007). Это органотрофные аэробные и факультативно-анаэробные бактерии, ацидо- и психротолерантные, растущие в широком диапазоне $\text{pH}_{\text{сол}}$ 4,5–10 и температур 4–37°. Предпочтительные субстраты – сахара (ферментируют глюкозу и сахарозу), способны также разлагать крахмал, пектин, ксилан, ламинарин и некоторые другие полисахариды (но не целлюлозу и хитин).

Бактерии рода *Cytophaga*, описанные еще в 1929 года С.Н. Виноградским в качестве активных целлюлолитиков, были обнаружены впоследствии в различных типах почв, подстилках, ризосфере многих растений. В верховом торфянике их доля составляла 19% от общего числа бактериальных таксонов в поверхностном слое и 10–12% – в толще 10–50 см (Добровольская и др., 2013).

Итак, в результате проведённого нами анализа экологических функций всех 24 родов бактерий, выявленных в исследуемой ризосферной почве под типичными болотными растениями, следует, что именно сосудистые растения, в отличие от сфагнома, обеспечивают существование широкого спектра бактерий, обладающих весьма разнообразными функциями, обеспечивающими как жизнеспособность растений, так и деструкцию разнообразных веществ, накапливающихся в верховом торфе.

Сравнить полученный нами родовой состав бактерий в ризосферной почве с таковым, полученным авторами, изучавшими бактериальные комплексы торфа аналогичным методом, практически невозможно, так как такие работы единичны и посвящены преимущественно изучению отдельных групп – метаногенам, метилотрофам, ацидобактериям. Тем не менее, удалось обнаружить общие роды в исследуемой почве под растениями и в поверхностных слоях верхового торфа, приводимые в разных литературных источниках, но для выявления четких различий таких данных пока недостаточно. Необходимо изучить бактериальные комплексы ризопланов, филлопланов болотных растений, торфянистых горизонтов современными методами, что пока не сделано. Однако на уровне крупных таксонов бактерий такая работа проведена (Bragina et al., 2015). Проанализировано 46 образцов разных видов сосудистых растений, мхов и лишайников сфагновых болот в Австрии. На основании использования разных индексов, в том числе и альфа-разнообразия, установлено, что нет значительных различий в разнообразии бактерий между разными видами растений. Те немногочисленные роды бактерий, которые приводятся в этой работе, соответствуют таковым, выявленным нами в ризосферной почве. Это роды *Aquisphaera*, *Singulisphaera* (планктомицеты), *Acidocella* (альфа-протеобактерии), *Chtoniobacter* и *Opitus* (веррукомикробии).

Использование комплексного структурно-функционального метода позволило установить, что величина показателя $\bar{Y}$, характеризующего физиологическое разнообразие гидролитического бактериального блока филлосферы, была существенно выше у вересковых растений, чем у мхов, растущих рядом (рис. 25).

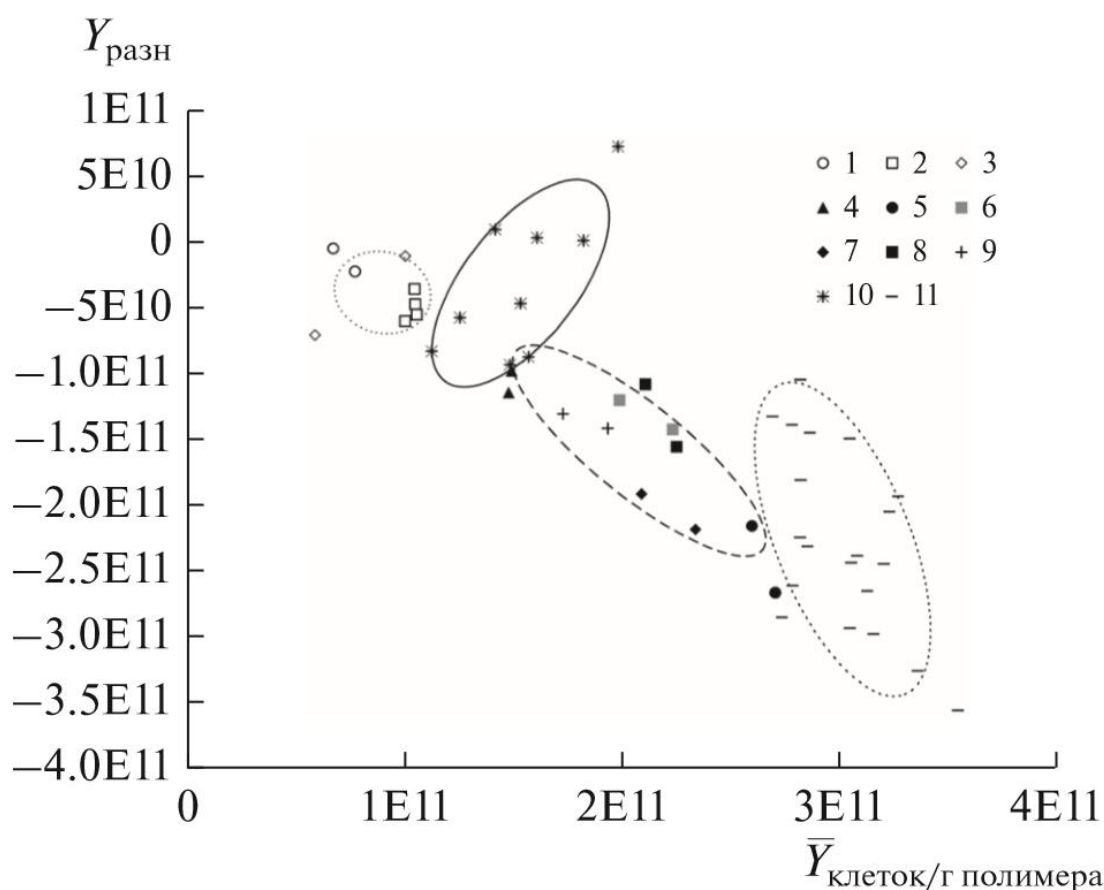


Рис. 25. Физиологическое разнообразие ($\bar{Y}_{\text{клеток/г полимера}}$) и трофическая специализация ($Y_{\text{разн}}$) гидролитического бактериального блока. Корреляционные эллипсы приведены для $p = 0,95$. Мхи: 1 – *Sphagnum fuscum*, 2 – *Sphagnum fallax*, 3 – *Polytrichum strictum*; вересковые кустарнички: 4 – багульник, 5 – голубика, 6 – клюква, 7 – подбел, 8 – черника 9 – брусника; 10 – верховой торф горизонт Т1, 11 – низинный торф горизонт Т1

По сравнению с вересковыми у мхов обнаружен олиготрофный и слабо специализированный характер бактериального блока из-за небольшого уровня выделения экссудатов через листья.

Актуальная нитрогеназная активность в ризосферной почве под болотными растениями колебалась от 0,098 (под осокой) до 0,619 нг C_2H_4 /г суб.*ч (под голубикой). Под всеми ягодными кустарничками (кроме клюквы) азотфиксирующая активность была выше, чем под травами, багульником и сфагнумом. Следует отметить высокую активность азотфиксации в

бактериальных сообществах очёса сфагнома, что весьма логично с учётом высокого количества и разнообразия бактерий именно в очёсе, где происходят процессы деструкции различных полимеров. Во всех вариантах опыта, кроме сфагнома, наблюдали значительное увеличение (в 2-3 раза) азотфиксирующей активности бактериальных сообществ почвы при добавлении глюкозы. Противоположные закономерности были выявлены в функционировании бактериальных комплексов сфагнома и его очёса – уменьшение показателей нитрогеназной активности при внесении глюкозы (таблица 9). Возможно, это связано с тем, что в торфяниках преобладают diaзотрофные бактерии, использующие в качестве энергетических субстратов метан и метанол (Кравченко, Дорошенко, 2003).

Таблица 9

Азотфиксирующая активность в ризосферной почве под разными видами болотных растений

Название растения	АФ, нг C ₂ H ₄ /г суб.*ч	АФ с глюкозой, нг C ₂ H ₄ /г суб.*ч
Осока чёрная (<i>Carex nigra</i>)	0,098	0,235
Пушица влагалищная (<i>Eriophorum vaginatum</i>)	0,286	0,302
Росяска круглолистная (<i>Drosera rotundifolia</i>)	0,318	0,297
Подбел обыкновенный (<i>Andromeda polifolia</i> L.)	0,158	0,233
Багульник болотный (<i>Ledum palustre</i> L.)	0,227	0,423
Черника миртолистная (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.)	0,382	0,891
Брусника обыкновенная (<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L.)	0,363	1,115
Голубика обыкновенная (<i>Vaccinium uliginosum</i> L.)	0,619	1,852
Клюква обыкновенная (<i>Vaccinium oxycoccus</i> L.)	0,318	0,297
Сфагнум магелланский (<i>Sphagnum magellanicum</i> Bird.), зелёная часть	0,291	0,117
Сфагнум магелланский (<i>Sphagnum magellanicum</i> Bird.), очес	0,397	0,193

3.4. Структура и функции бактериальных сообществ регрессивных пятен верхового торфяника

В результате деструкции сфагнового покрова на поверхности торфяников образуются регрессивные пятна. В структуре биомассы регрессивных пятен преобладала биомасса водорослей, которая составляла 74–87%. Доля же бактерий варьировала в пределах от 7 до 15%, максимальные значения приходились на сухой период исследования (таблица 10). Иной была структура биомассы в образцах верхового торфа. Её характерной отличительной чертой являлось доминирование общего грибного мицелия (75–81%), на долю бактерий приходилось не более 5%, на долю водорослей – только 2%. По абсолютным показателям бактериальная биомасса в регрессивных пятнах многократно превышала таковую в верховом торфе и составила 1–3,5 мг/г (таблица 10).

Регрессивные пятна характеризовались высокой численностью бактерий. Она варьировала с учётом пространственного фактора от 50×10^9 до 144×10^9 кл./г и была в 2,5-7 раз выше, чем в образцах верхового торфа (таблица 10).

Таблица 10

Диапазон значений численности, биомассы и доли бактерий в регрессивных пятнах и верховом торфе

Субстрат	Численность, $\times 10^9$ клеток/г	Биомасса, мг/г	Доля в общей биомассе, %
Регрессивные пятна	50–144	1–3,5	7–15
Верховой торф	20–23	0,4–0,5	4–5

Бактериальная численность изучаемого эпифитно-сапротрофного комплекса, ранее установленная методом микробиологического посева, значительно варьировала в исследуемых регрессивных пятнах верхового болота от 4×10^4 КОЕ/г и до 90×10^4 КОЕ/г. Примерно такие же значения были выявлены в

верховом торфе. Что касается таксономического состава бактерий, то в пятнах были обнаружены 2 группы – бациллы и протеобактерии. Бациллы либо доминировали (*B. lentus*, *B. firmus*), либо составляли равные доли с протеобактериями (таблица 11). В один из сроков отбора образцов в период летней засухи в качестве доминанта (кроме бацилл) были обнаружены бактерии рода *Azotobacter*. Их доля в бактериальном комплексе составляла 50-70%. Протеобактерии преобладали при высокой влажности. В образцах верхового торфа, отобранных с площадок без регрессии, наблюдали монодоминирование бацилл.

Таблица 11

Численность бактерий (10^4 КОЕ/г) эпифитно-сапротрофного комплекса и относительное обилие таксономических групп бактерий (%) в регрессивных пятнах в различные периоды исследования

№ пятна	Сухой период			Влажный период	
	Численность	Относительное обилие*		Численность	Относительное обилие*
		Bacillus	Proteobacteria		Proteobacteria
1	92±7	71	29	54±5	100
2	13±3	84	16	57±6	
3	15±2	47	53	38±3	
4	15±3	51	49	34±1	
5	25±3	64	36	45±4	

* – относительное обилие таксономической группы от числа учитываемых бактерий на ГПД среде

На основании метода 16SpPHK была установлена родовая и видовая принадлежность доминирующих в бактериальных сообществах регрессивных

пятен культур протеобактерий - *Chryseobacterium gregarium* и *Chryseobacterium yeoncheonense*, *Stenotrophomonas rhizophila*, *Pseudomonas koreensis*, *Chromobacterium vacinii* (таблица 12). Представители родов *Chryseobacterium* и *Stenotrophomonas* были обнаружены и в верховом торфе. В исследуемых субстратах род *Stenotrophomonas* был представлен одним и тем же видом, а род *Chryseobacterium* – разными видами (таблица 12). Род *Chryseobacterium* – результат переклассифицирования 5 видов рода *Flavobacterium* (Vandamme et al. 1994). Представителей этого рода обнаруживали в самых разных местообитаниях – корни растений, почва, вода, рыба, клинический материал. Бактерии вида *Chryseobacterium gregarium* были впервые выделены из разлагающегося растительного материала и компостов и описаны как новый вид (Behrendt et al. 2008).

Таблица 12

Доминирующие роды и виды бактерий в регрессивном пятне и верховом торфе

Регрессивные пятна	Верховой торф
<i>Chryseobacterium gregarium</i>	
<i>Chryseobacterium yeoncheonense</i>	—*
<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	
<i>Pseudomonas koreensis</i>	—*
<i>Chromobacterium vacinii</i>	—*

* – не обнаружен

Культуры этого вида обладали способностью разлагать крахмал, желатин, эскулин, твин 80, но не могли проводить какую-либо деструкцию труднодоступных органических полимеров: хитина, а также целлюлозы. Бактерии другого вида, обнаруженного нами в регрессивных пятнах – *Chryseobacterium yeoncheonense*, были впервые изолированы корейскими исследователями из почв

под плантациями женьшеня (Hoang et al. 2013). От других видов этого рода они отличались лишь по составу жирных кислот и хинонов.

Бактерии вида *Stenotrophomonas rhizophila* были выделены из ризосферы картофеля и описаны как новый вид (Wolf et al. 2002). Установлено, что они способны стимулировать активный рост растений, а также и подавлять рост опасных фитопатогенных грибов. Известно также про использование этих бактерий, как и представителей других видов рода *Stenotrophomonas*, для биоремедиации почв благодаря их способности деградировать ксенобиотики (Binks et al. 1995).

Бактерии вида *Pseudomonas koreensis* впервые были изолированы из сельскохозяйственных почв Кореи и описаны как новый вид (Kwon et al. 2003). Как и многие другие представители рода *Pseudomonas* бактерии этого вида являются типичными копитрофами, ассоциированными как с растениями, так и с почвами, участвующими в деструкции органического вещества, но не способные использовать трудногидролизуемые полисахариды.

Сравнительный анализ прокариотной компоненты регрессивных пятен и верхового торфа с помощью метода высокопроизводительного секвенирования консервативного участка гена 16S рРНК позволил выявить следующие особенности – при общем доминировании протеобактерий и ацидобактерий, их доля выше в верховом торфе. Проявились чёткие различия в соотношении филума Verrucomicrobia, который составил 37% в регрессивных пятнах и лишь 10%. в верховом торфе. Остальные филумы, обнаруженные в обоих исследуемых субстратах, являются минорными компонентами (рис. 26).

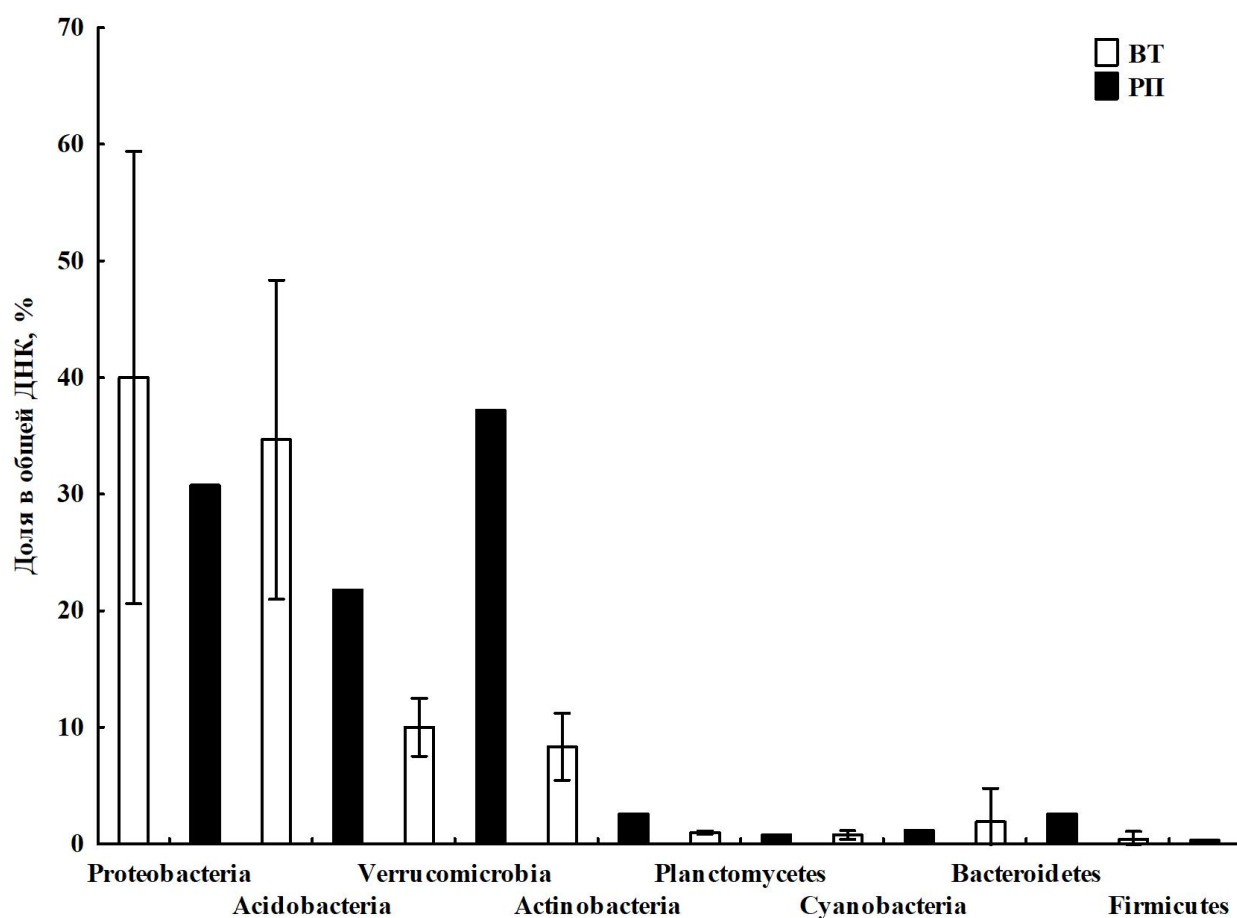


Рис. 26. Доля ДНК разных филумов бактерий в верховом торфе и регрессивном пятне

Обработка метагеномных данных методом главных компонент подтвердила выявленные закономерности (рис. 27). Из рисунка следует, что компонент ГК1, определяющий различия между регрессивным пятном и верховым торфом, по вкладу дисперсии примерно в 3 раза более значимый, чем фактор ГК2, обуславливающий различия между разными вариантами верхового торфа.

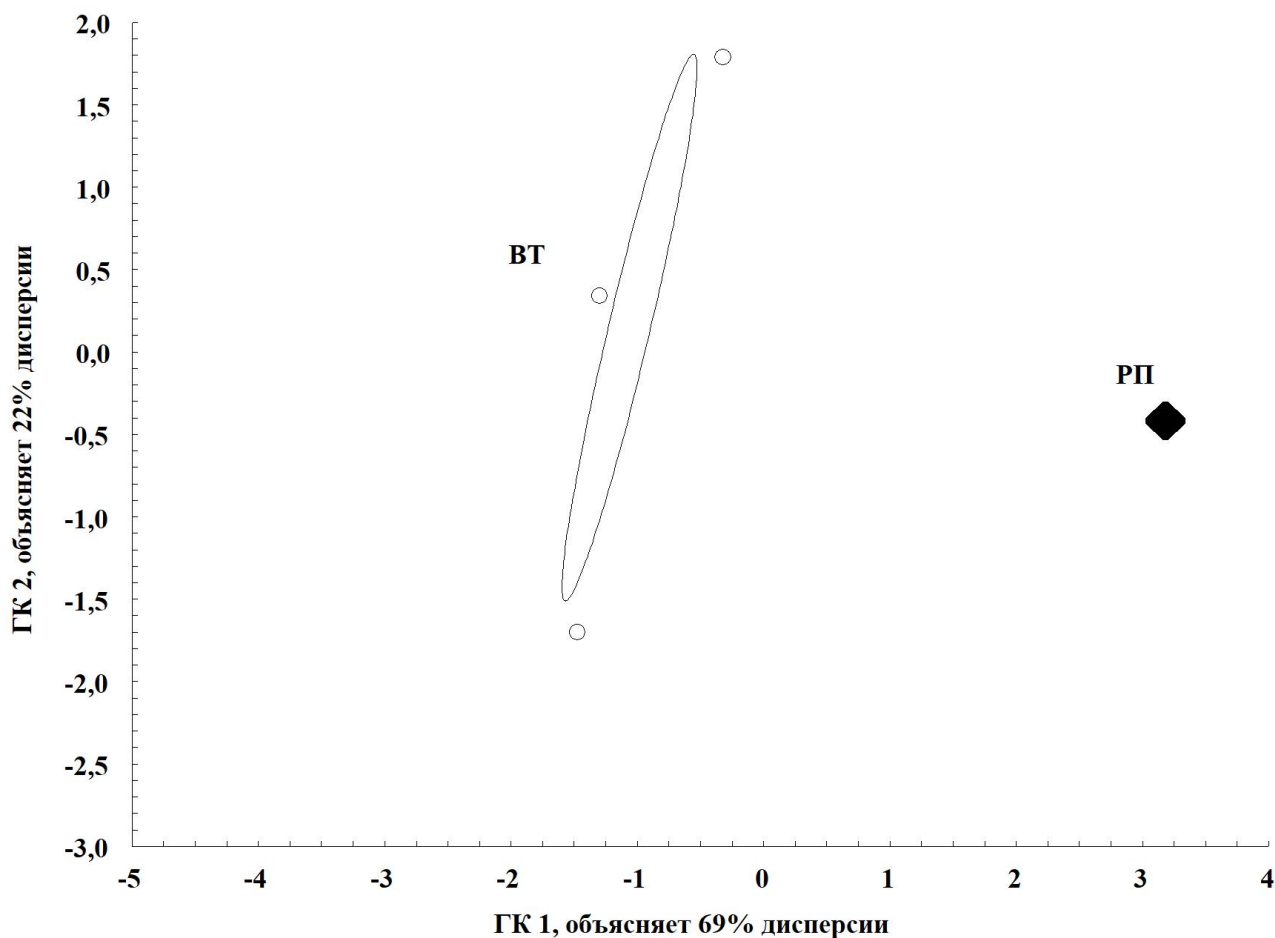


Рис. 27. Анализ метагеномных данных методом главных компонент

РП – регрессивное пятно, ВТ – верховой торф, а – положение бактериальных комплексов в факторной плоскости ГК1 и ГК2. Корреляционный эллипс ограничивает область с уровнем значимости $p=0.95$.

Представители *Verrucomicrobia* изучены плохо, так как большинство бактерий являются некультивируемыми. Так, из веррукомикробий, обнаруженных в регрессивных пятнах, 95% относятся к некультивируемым формам. Веррукомикробии, определённые до рода *Chthoniobacter* (Sangwan et al. 2004), были выявлены как в пятнах, так и в верховом торфе. Среди ацидобактерий, определённых до рода, преобладали *Acidipila* (в пятне), *Acidocella* и *Acidothermus* (в верховом торфе). В исследуемых субстратах зарегистрировано два общих рода – *Bryobacter* и *Granulicella* (таблица 13).

Таблица 13

Спектр родов бактерий, обнаруженных в регрессивных пятнах и в верховом торфе на основании использования метода высокопроизводительного секвенирования консервативного участка гена 16S рРНК.

Субстрат Таксоны	Регрессивные пятна	Верховой торф
Альфа-протеобактерии	—*	<i>Bradyrhizobium</i>
	—	<i>Nitrobacter</i>
	—	<i>Acidocella</i>
	<i>Roseiarcus</i>	
Филум Acidobacteria	<i>Bryobacter</i>	
	<i>Granulocella</i>	
	<i>Acidipila</i>	—
Филум Verrucomicrobia	<i>Chtoniobacter</i>	
Филум Actinobacteria	—	<i>Acidothermus</i>

* – не обнаружено

Бактерии рода *Bryobacter* были выделены впервые из кислых сфагновых болот Сибири и описаны как новый род и типовой вид *Bryobacter aggregatus* (Kulichevskaya et al. 2010). Культуры представляют собой ацидофильные, медленно растущие хемоорганотрофные бактерии, строгие аэробы, использующие только сахара и некоторые полисахариды, появляющиеся в процессе деструкции сфагнома. Бактерии рода *Granulocella* были впервые изолированы из верховых торфяников Сибири и Ярославской области. Они были описаны как новый род *Granulocella* с описанием четырех видов (Pankratov, Dedysh, 2010). Культуры этого рода близки по большинству признаков к представителям рода *Bryobacter*. Различия определяются формированием

внутриклеточных гранул (определяющих название рода), цветом колоний (розово-красный каротиноидный пигмент), и некоторыми физиолого-биохимическими и генетическими особенностями.

В регрессивных пятнах и в верховом торфе внутри подкласса альфа-протеобактерий обнаружены представители рода *Roseiarcus*, принадлежащие к порядку Rhizobiales (таблица 13). Они являются метанотрофами, выделенными из кислых сфагновых болот. Описан и новый вид этого рода – *Roseiarcus fermentans*, относящийся к умеренно ацидофильным микроаэрофильным бродильщикам (Kulichevskaya et al. 2014). При росте на свету в этих бактериях обнаружили везикулярные мембраны (характерные для пурпурных бактерий) и бактериохлорофилл. Бактерии этого вида способны использовать широкий спектр субстратов, в том числе сахара и органические кислоты. Следует отметить большее разнообразие родов альфа-протеобактерий в верховом торфе, представленных родами *Bradyrhizodium* и *Nitrobacter*. Эти роды не были обнаружены в регрессивном пятне (таблица 13).

Таким образом, несмотря на различия в составе крупных филумов и классов, в бактериальных сообществах регрессивных пятен и верхового торфа обнаружены общие представители родов: *Roseiarcus*, *Bryobacter*, *Granulicella*, *Cthoniobacter*. Это закономерно, так как регрессивные пятна образуются на поверхности олиготрофных болот в результате деструкции сфагнового покрова.

Следует также сравнить таксономический состав бактериальных сообществ в верховом торфе и регрессивных пятен с таковым, выявленным в ризосферной почве под сосудистыми болотными растениями, определёнными на основании одного и того же метода – высокопроизводительного секвенирования консервативного участка гена 16S рРНК. В результате установлено, что все 9 родов, выявленных в верховом торфе и регрессивных пятнах, были обнаружены и в почве под кустарничками и травянистыми растениями. При этом, количество родов бактерий в почве под сосудистыми растениями почти в 3 раза больше – 24

рода. Это логично, учитывая множество разнообразных экссудатов, выделяемых сосудистыми растениями, по сравнению со сфагнумом.

В регрессивных пятнах комплексным структурно-функциональным методом установлено высокое физиологическое разнообразие гидролитического бактериального блока ($\bar{Y}$) за счёт разложения легкодоступных полимеров растительного и водорослевого происхождения (ксилан, пектин, крахмал, инулин), при этом трофическая специализация снижается $\bar{Y}_{\text{разн}}$ (рис. 28). По сочетанию параметров $\bar{Y}$ и $\bar{Y}_{\text{разн}}$ регрессивные пятна приближаются к низинным торфам, возможно за счёт формирования фрагментарной и эфемерной водорослевой биоплёнки на поверхности пятна. По данным Богдановской-Гиенэф (1956) образовавшаяся чёрная прослойка, улучшая условия азотно-минерального питания растений, способствует восстановлению сфагнового покрова, которое пойдет особенно успешно, если увлажнение уменьшится благодаря ряду сухих лет или каким-нибудь другим обстоятельствам.

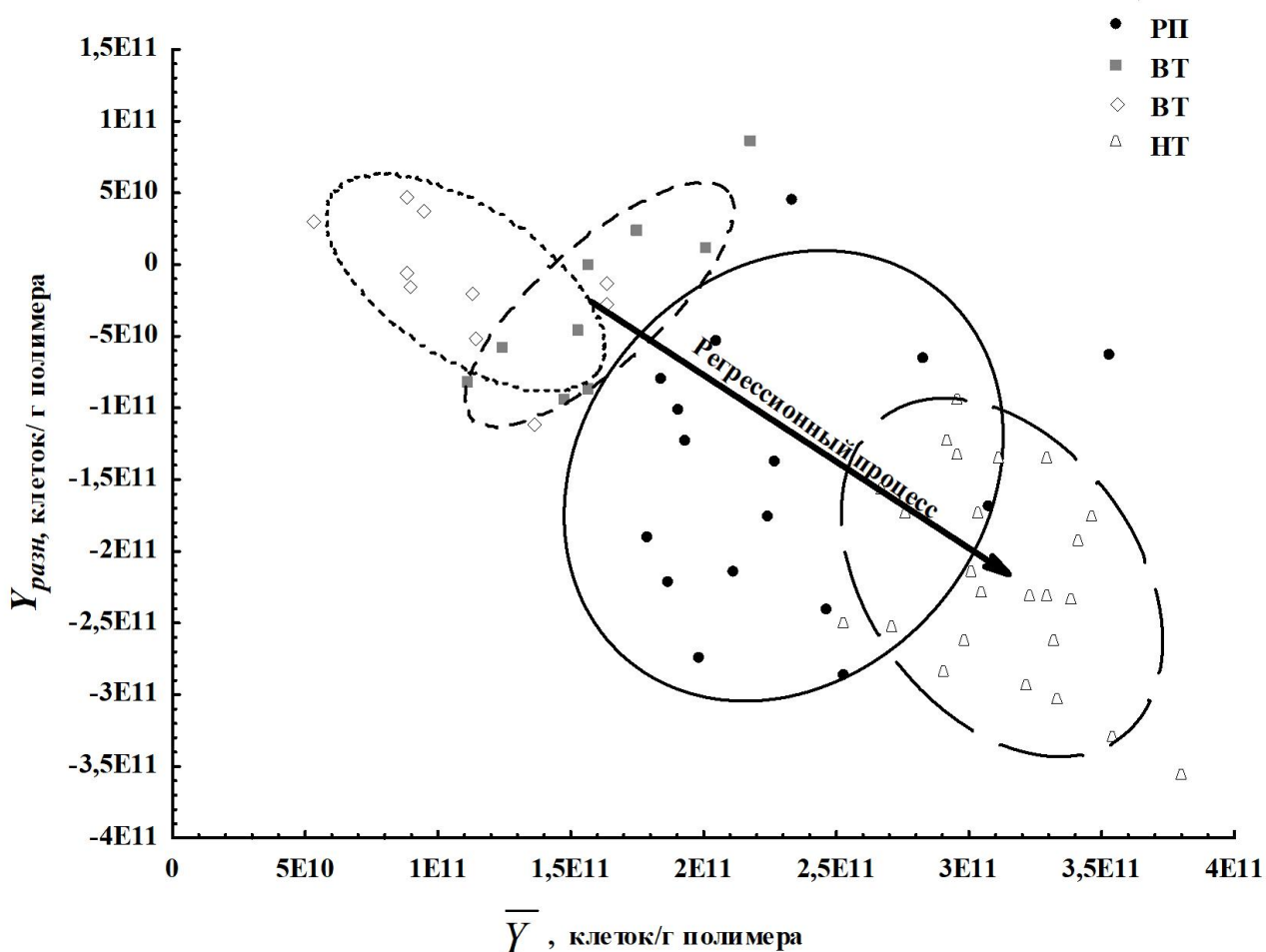


Рис. 28. Физиологическое разнообразие ($\bar{Y}$) и трофическая специализация ($\bar{Y}_{\text{разн}}$) гидролитического бактериального блока регрессивной плёнки (РП), верховых (Т1 ВТ, Т2 ВТ) и низинных торфов (Т1 НТ). Корреляционные эллипсы ограничивают область с уровнем значимости $p=0,95$

Азотфиксирующая активность в исследованных регрессивных пятнах при этом варьировала в достаточно широком диапазоне – от 0,744 до 6,167 нг $\text{C}_2\text{H}_4/\text{г}$ суб.×ч на свету и от 1,638 до 19,928 – в темноте (таблица 14). **В целом, уровень азотфиксации, отмеченный нами в регрессивных пятнах болот, достаточно высокий, он превышает значения, полученные нами ранее как для ризосферной почвы под болотными растениями (таблица 8), так и для таежных почв (Умаров и др. 2007, Мамай и др., 2013). Азотфиксация, определяемая при инкубации на свету, была несколько ниже, по-видимому, за счет более низкой температуры инкубации. Однако в регрессивном пятне 2**

азотфиксация на свету почти в 2 раза превышала активность этого процесса, измеренную в темноте, что может свидетельствовать об участии в процессе азотфиксации фототрофных микроорганизмов. В зелёной части сфагнома нитрогеназная активность составила всего лишь 0,290 нг C_2H_4 /г суб.×ч, в очёсе – 0,397 нг C_2H_4 /г суб.×ч, т.е. она оказалась значительно ниже, чем в пятнах. Полученные результаты весьма логичны, так как в регрессивных пятнах значительную долю составляют водоросли, являющиеся источниками питания для бактерий-копиотрофов.

Таблица 14

Азотфиксирующая активность в регрессивных пятнах и сфагнуме

Номер регрессивного пятна	АФ на свету, нг C_2H_4 /г суб.×ч	АФ в темноте, нг C_2H_4 /г суб.×ч
№1	1,192	1,638
№2	6,167	3,379
№3	1,418	2,791
№4	0,744	19,928
№5	1,316	2,971
Сфагнум, зелёная часть*	0,291	—**
Сфагнум, очёс*	0,397	—**

* – *Sphagnum magellanicum*;

** – измерений не проводили.

Таким образом, установлено, что в регрессивных пятнах значительно выше численность, биомасса бактерий, а также азотфиксирующая активность бактериальных сообществ по сравнению с верховым торфом. Это объясняется, прежде всего, присутствием в регрессивных пятнах большого количества водорослей, служащих источником питания для обитающих в них разнообразных

бактерий. На основании метода 16S рРНК была установлена родовая и видовая принадлежность доминирующих в бактериальных сообществах регрессивных пятен протеобактерий. Представители всех этих родов и видов являются типичными копиотрофами. Использование структурно-функционального метода позволило подтвердить этот факт - высокое физиологическое разнообразие гидролитического бактериального блока ($\bar{Y}$), обусловленное разложением легкодоступных полимеров растительного и водорослевого происхождения. Анализ функций бактерий, доминирующих в регрессивных пятнах, проведённый нами на основании литературных источников, позволяет сделать вывод об экологической значимости бактерий, доминирующих в этих биотопах. **Установлено, что многие из этих бактерий являются стимуляторами роста растений, антагонистами фитопатогенных микроорганизмов, используются для биоремедиации почв.** Сравнительный анализ прокариотной компоненты регрессивных пятен и верхового торфа с помощью метода высокопроизводительного секвенирования позволил выявить чёткие различия в структуре бактериальных филумов. Несмотря на доминирование протеобактерий и ацидобактерий в обоих биотопах, их доля выше в верховом торфе. В регрессивных пятнах доминируют бактерии филума Verrucomicrobia, которые являются минорными компонентами в верховом торфе. Несмотря на различия, выявлены общие роды, входящие, в основном, в состав ацидофильных бактерий.

3.5. Заключение и итоги выполненного исследования

Установлено, что общие показатели обилия исследованного прокариотного комплекса, ранее определённые с помощью люминесцентно-микроскопического метода исследования, в среднем в 3-4 раза превосходили таковые в дернинах сфагновых кочек болота, по сравнению с дернинами ровных поверхностей. Кроме того, численность бактерий, которая определялась методом микробиологического посева на ГПД среду, также преобладала на целых 2 порядка в исследованных кочках, что хорошо согласуется с установленной исследователями ранее

повышенной эмиссией углекислого газа из таких кочек (такое превышение может достигать от 2 до 5 раз). А учитывая, что общее время жизни сфагновых мхов на таких повышениях больше, можно говорить о большей стабильности этих повышений микрорельефа болота во времени. И всё это, также вместе со значительно большей концентрацией доступного кислорода в болотных кочках, ясно свидетельствует о значительно более благоприятных локальных условиях для постепенного развития и общего функционирования различных микроорганизмов в сфагновых кочках. Поскольку среди доминирующих бактерий преобладают протеобактерии, их функции сводятся, в основном, к использованию таких простых веществ как сахара, органические кислоты, аминокислоты.

Численность бактерий на всех видах исследованных болотных растений, определённая прямым люминесцентным методом, колебалась в пределах одного порядка - от $0,6$ до $4,2 \cdot 10^9$ кл/г. Бактериальная численность на исследованных растениях, установленная методом посева, изменялась в пределах 1-3 порядков, в зависимости как от органа, так и вида растения, достигая максимума на листьях брусники и клюквы. Факторный дисперсионный анализ подтвердил, что численность бактерий достоверно определял как орган растения, так и вид растения. Однако резких различий в численности бактериальных комплексов между разными видами и разными органами исследованных растений не было найдено.

Анализ таксономического состава доминирующих культур бактерий на травянистых растениях, вересковых кустарничках и сфагнуме, проведённый на основании метода секвенирования нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК, позволил установить, что на всех исследуемых растениях доминируют представители одного и того же рода и вида бактерий - *Stenotrophomonas rhizophila*. Все другие преобладающие роды так же относятся к классу гамма-протеобактерий, кроме рода *Ochrobactrum* – (класс альфа-протеобактерии) и рода *Chryseobacterium* (филум Bacteroidetes, класс Flavobacteria). Следует отметить, что максимальное разнообразие среди доминирующих протеобактерий было обнаружено на осоке (4 рода). Обзор литературы по таксономии и экологии

бактерий, выделенных из исследуемых растений в качестве доминантов, позволил обратить внимание на уникальные функции этих бактерий, связанные как с их антагонистическими свойствами по отношению к фитопатогенным грибам, так и с образованием ими веществ, стимулирующих рост растений. Физиологическое разнообразие гидролитического бактериального блока оказалось существенно выше у вересковых растений, чем у сфагновых мхов. Следует отметить ещё одну особенность, свойственную изолированным из растений бактериям – способность расти при низких температурах (4°C) и значениях pH (5), т.е. условиях, характерных для верховых болот. Таким образом, все исследуемые растения являются источниками бактерий, которые поддерживают жизнестойкость этих растений. Кроме того, чистые культуры этих бактерий могут быть использованы в практических целях – в борьбе с фитопатогенными грибами и для стимулировании роста сельскохозяйственных растений.

Анализ таксономического состава бактериальных сообществ в ризосферной почве под различными болотными растениями, проведённый на основании метода высокопроизводительного секвенирования консервативного участка гена 16S рРНК, позволил выявить представителей 24 родов, относящихся к 7 классам. В результате проведённого нами обсуждения экологических функций всех этих родов бактерий, следует вывод о том, что именно сосудистые растения, в отличие от сфагнома, обеспечивают существование широкого спектра бактерий, обладающих весьма разнообразными функциями, обеспечивающими деструкцию разнообразных веществ, накапливающихся в верховом торфе.

Установлено, что в регрессивных пятнах, появляющихся в результате дистрофной стадии развития верховых торфяников, значительно выше показатели обилия бактерий, а также азотфиксирующая активность по сравнению с верховым торфом. Это объясняется, прежде всего, присутствием в регрессивных пятнах значительного количества водорослей, служащих дополнительным источником питания для бактерий. В регрессивных пятнах доминируют бактерии филума *Verrucomicrobia*, которые являются минорными компонентами в верховом торфе.

Доля протеобактерий и ацидобактерий в регрессивных пятнах меньше, чем в верховом торфе. Сравнение таксономического состава бактериальных сообществ в верховом торфе и регрессивных пятнах с таковым, выявленным в ризосферной почве под сосудистыми болотными растениями, определённым на основании одного и того же метода (высокопроизводительного секвенирования консервативного участка гена 16S рРНК), позволило установить, что все 9 родов, выявленных в верховом торфе и регрессивных пятнах, были обнаружены и в почве под кустарничками и травянистыми растениями. При этом, количество родов бактерий в почве под сосудистыми растениями почти в 3 раза больше – 24 рода. Это логично, учитывая множество разнообразных экссудатов, выделяемых сосудистыми растениями, по сравнению со сфагнумом.

Использование структурно-функционального метода позволило установить высокое физиологическое разнообразие гидролитического бактериального блока в регрессивных пятнах, обусловленное разложением легкодоступных полимеров растительного и водорослевого происхождения. Этими же факторами объясняется и максимальные значения азотфиксирующей активности бактериальных сообществ в регрессивных пятнах исследуемого верхового торфяника.

Полученные результаты позволяют значительно расширить представление о таксономическом разнообразии и функционировании бактериальных комплексов верховых торфяников, что подтверждает высказанный нами ранее взгляд на торфяные почвы как банки бактериального разнообразия (Головченко и др., 2010).

4. ВЫВОДЫ

1. Установлено, что на кочках и ровных поверхностях наблюдается сходный характер распределения численности бактерий по общему вертикальному градиенту и выявлены близкие значения бактериальной численности. Количество бактерий, определенное методом посева, и суммарная прокариотная биомасса в сфагнуме кочек были выше в 3-4 раза по сравнению с образцами мха с ровных поверхностей;

2. Выявлено доминирование в живом сфагнуме на кочке представителей рода *Pseudomonas*, на ровной поверхности – *Dyella*. В торфянистых горизонтах в обоих типах исследуемого микрорельефа доминировали так же протеобактерии, представленные родами *Acinetobacter* и *Burkholderia*;

3. Максимальная удельная скорость роста и метаболическая готовность к росту бактериальных ассоциаций были значительно выше на кочке, чем на ровных поверхностях. Способность бактерий к гидролизу полимеров оказалась также выше на кочках, чем на ровных поверхностях;

4. Численность бактерий на всех видах исследованных болотных растений, определённая прямым люминесцентным методом, колебалась в пределах одного порядка, а по методу посева - 1-3 порядков в зависимости от органа и вида растения, достигая максимума на листьях брусники и клюквы;

5. Анализ таксономического состава бактериальных комплексов на травянистых растениях, вересковых кустарничках и сфагнуме позволил выявить среди доминирующих протеобактерий общие роды (*Chryseobacterium*, *Pseudomonas*, *Erwinia*) и даже наличие одного общего вида - *Stenotrophomonas rhizophila*;

6. Использование комплексного структурно-функционального метода позволило установить, что физиологическое разнообразие гидролитического блока бактерий филлосферы существенно выше у вересковых растений, чем у мхов;

7. Анализ бактериальных сообществ в ризосферной почве под болотными

растениями, проведённый на основании метода высокопроизводительного секвенирования 16S рРНК, позволил выявить представителей 24 родов, относящихся к 7 филумам;

8. Максимальная актуальная азотфиксация была зафиксирована в почве под голубикой и в очёсе сфагнома, минимальная – в почве под осокой. При добавлении глюкозы наблюдалось увеличение азотфиксации под всеми растениями, но её уменьшение в образцах живого сфагнома и очёса;

9. В структуре биомассы регрессивных пятен преобладают водоросли, верхового торфа – грибной мицелий. Бактериальная биомасса в регрессивных пятнах многократно превышала таковую в верховом торфе, численность бактерий, определенная методом посева, была близка к таковой в верховом торфе;

10. В бактериальных сообществах регрессивных пятен и верхового торфа в результате идентификации культур доминирующих родов протеобактерий выявлены 4 рода, среди которых 2 общих рода и вида - *Chryseobacterium gregarium* и *Stenotrophomonas rhizophila*;

11. На основе метода высокопроизводительного секвенирования 16S рРНК в регрессивных пятнах и верховом торфе выявлено 9 родов, среди которых 4 рода общих. При этом все 9 родов бактерий, относящиеся к филумам Alphaproteobacteria, Acidobacteria, Verrucomicrobia, Actinobacteria, были обнаружены и в ризосферной почве под болотными растениями;

12. Физиологическое разнообразие бактериальных сообществ регрессивных пятен близко к низинному торфу за счёт обилия бактерий, использующих легкодоступные субстраты. Азотфиксирующая активность бактериальных сообществ значительно выше в регрессивных пятнах, по сравнению со сфагнумом.

4.1. Рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы

Полученные в данном исследовании результаты могут быть использованы в курсах лекций для студентов ВУЗов по экологии и микробиологии торфяных почв.

Полученные в данном исследовании результаты могут быть использованы в курсах лекций для студентов ВУЗов по экологии и микробиологии торфяных почв.

В дальнейшем возможно расширить данную работу, проведя анализ бактериальных сообществ филлосферы и ризосферы болотных растений, а также верхового торфа на разных глубинах методом высокопроизводительного секвенирования консервативного участка гена 16S рРНК, с целью дальнейшего подтверждения высказанного исследователями ранее взгляда на верховые торфяники как банки бактериального разнообразия.

5. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аболин Р.И. К вопросу о классификации болот Северо-Западной области // Материалы по опытному мелиоративному делу. М., 1928. Т. 2. С. 3–55.
2. Бахнов В.К. Биогеохимические аспекты болотообразовательного процесса. Новосибирск. Наука. 1986. 192с.
3. Белова С.Э., Панкратов Т.А., Дедыш С.Н. Бактерии рода *Burkholderia* как типичный компонент микробного сообщества сфагновых болот // Микробиология. 2006. Т. 75. № 1. С. 110-117.
4. Богданова О.Ю., Головченко А.В., Лысак Л.В., Глухова Т.В., Звягинцев Д.Г. Жизнеспособность бактерий в торфяниках // Почвоведение. 2014. № 4. С. 462-472.
5. Богдановская-Гиенэф И.Д. Образование и развитие гряд и мочажин на болотах // Советская ботаника. 1936. № 6. С. 35-52.
6. Богдановская-Гиенэф И.Д. О некоторых регрессивных явлениях на верховых болотах // Сборник работ к 75-летию со дня рождения академика В.Н. Сукачёва. Изд-во АН СССР. М.-Л. 1956.С.90-107.
7. Богдановская-Гиенэф И.Д. Закономерности формирования сфагновых болот верхового типа (на примере Полистово-Ловатской болотной системы). Л.: Наука, 1969. 185 с.
8. Боч М.С., Мазинг В.В. Экосистемы болот СССР. Л.:Наука. 1979. 188с.

9. Вильямс В.Р. Почвоведение. М. 1926.
10. Воробьев П.К. Приведение экспериментальных характеристик деятельного слоя залежи к расчетной поверхности микроландшафт //Тр. ГГИ. Л., 1979. Вып. 261. С. 90–95.
11. Глухова Т.В., Вомперский С.Э., Ковалев А.Г. Годовая эмиссия CO₂ олиготрофных болот южнотаёжной зоны ЕТР с учётом микрорельефа //Почвоведение. 2014. №1. С. 48-57.
12. Головченко А.В., Добровольская Т.Г., Звягинцев Д.Г. Микробиологические основы оценки торфяника как профильного почвенного тела //Вестник Томского государственного педагогического университета. 2008. № 4 (78). Серия: Биологические науки. С. 46-53.
13. Головченко А.В., Панкратов Т.А., Добровольская Т.Г., Кухаренко О.С. Торфяные почвы как банк бактериального разнообразия // Труды Института экологического почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова «Роль почв в биосфере». 2010. Выпуск 10. С. 181-209.
14. Головченко А.В., Полянская Л.М., Добровольская Т.Г. и др. Особенности пространственного распределения и структуры микробных комплексов болотно-лесных экосистем // Почвоведение. 1993. № 10. С. 78-89.
15. Головченко А.В., Санникова Ю.В., Добровольская Т.Г., Звягинцев Д.Г. Сапротрофный бактериальный комплекс верховых торфяников Западной Сибири // Микробиология. 2005. Т. 74. № 4. С. 545-551.
16. Головченко А.В., Добровольская Т.Г., Звягинцев Д.Г. Микробиологические основы оценки торфяника как профильного почвенного тела // Вестник Томского

государственного педагогического университета. 2008. № 4 (78). Серия: Биологические науки. С. 46–53.

17. Гришин И.С. Влияние снежного покрова на формирование микрорельефа торфяных месторождений верхового типа их природных комплексов // Изучение состава и свойств торфа в целях его использования в народном хозяйстве. М., 1977. С 109–123.
18. Данилова О.В., Белова С.Э., Гагаринова И.В., Дедыш С.Н. Состав микробного сообщества и разнообразие микроорганизмов болота субарктической зоны России // Микробиология. 2016. Т. 85, № 5.
19. Добровольская Т.Г., Скворцова И.Н., Лысак Л.В. Методы выделения и идентификации почвенных бактерий. М.: Изд-во МГУ. 1989. 71 с.
20. Добровольская Т.Г. Структура бактериальных сообществ почв. М.: ИКЦ «Академкнига», 2002. 282 с.
21. Добровольская Т.Г., Головченко А.В., Лысак Л.В. Бактериальные сообщества верховых торфяников // Материалы Всероссийской с международным участием X школы молодых учёных «Болота и биосфера». Тверь: ООО «Наукоёмкие технологии», 2018. С. 31–37.
22. Добровольская Т.Г., Головченко А.В., Кухаренко О.С., Якушев А.В., Семёнова Т.А., Инишева Л.И. Структура микробных сообществ верховых и низинных торфяников Томской области // Почвоведение. 2012. № 3. С. 317–326.
23. Добровольская Т.Г., Кухаренко О.С., Головченко А.В. Особенности таксономического состава бактериальных комплексов торфяников разного

генезиса // Болота и Биосфера. Материалы 4-ой научной школы. 12-15 сентября 2005 г. Томск. С. 164-169.

24. Добровольская Т.Г., Головченко А.В., Панкратов Т.А., Лысак Л.В., Звягинцев Д.Г. Оценка бактериального разнообразия почв: эволюция подходов и методов // Почвоведение. 2009. № 10. С. 1222-1232.
25. Добровольская Т.Г., Головченко А.В., Звягинцев Д.Г. и др. Функционирование микробных комплексов верховых торфяников – анализ причин медленной деструкции торфа. М. КМК. 2013. 128с.
26. Добровольская Т.Г., Головченко А.В., Лысак Л.В., Зенова Г.М. Физикохимия и биология торфа. Методы оценки численности и разнообразия бактериальных и актиномицетных комплексов торфяных почв: учебное пособие. Томск: Изд-во ТГПУ, 2010. 100 с.
27. Добровольская Т.Г., Головченко А.В., Лысак Л.В. Бактериальные сообщества верховых торфяников // Материалы всероссийской с международным участием десятой школы молодых ученых сборнике «Болота и биосфера». 2018. с. 31-37
28. Дорошенко Е.В., Булыгина Е.С., Спиридонова Е.М., Турова Т.П., Кравченко И.К. Выделение и характеристика азотфиксирующих бактерий рода *Azospirillum* из почвы сфагнового болота // Микробиология. 2007. Т. 76. № 1. С. 107–115.
29. Зенова Г.М., Звягинцев Д.Г. Разнообразие актиномицетов в наземных экосистемах. М., 2002.
30. Иванова Т.И., Кузьмина Н.П., Исаев А.П. Микробиологическая характеристика мерзлотных почв острова Тит-Ары (Якутия) // Сибир. экол. журн. 2012. № 6.

31. Иванов К.Е. Образование грядово-мочажинного микрорельефа как следствие условий стекания влаги с болот //Вестник. ЛГУ, 1956. № 12. Вып.2. С. 58-72.
32. Иванов К.Е. Трофность среды обитания растительного покрова болот и гидролого–географический метод оценки некоторых ее показателей //Тр. ГГИ, 1988. Вып. 333. С. 3–20.
33. Иванова Н.А., Юмагулова Э.Р. Эколого-физиологические механизмы адаптации и типы стратегии сосудистых растений верховых болот: Монография. Нижневартонск: Изд-во Нижневарт. гуманит. ун-та, 2009. — 186с.
34. Илометс М.А. Изучение динамики прироста сфагнома и сфагнового торфа в целях стратиграфического расчленения торфяной залежи //Автореф. дисс. кан. г.-м. наук. Таллинн, 1981, 21 с.
35. Кац Н.Я., Кирилович М., Лебедева Н. Движение поверхности сфагновых болот и формирование их микрорельефа //Землеведение, 1936. Т. 38. Вып. 1. С. 1–34.
36. Кравченко И.К., Дорошенко Е.В. Азотфиксирующая активность торфяной почвы верхового болота // Микробиология. 2003. Т. 72. № 1. С. 111–116.
37. Краснов И.И. О болотной солифлюкации и трансгрессии болот на среднем и северном Урале и прилегающих равнинах // Изв. ВГО. 1943. № 1. С. 34-37.
38. Куличевская И.С., Панкратов Т.А., Дедыш С.Н. Выявление представителей Planctomycetes в сфагновых болотах с использованием молекулярных и культуральных подходов // Микробиология. 2006. Т. 75. № 3. С. 389-396.

39. Куличевская И.С., Белова С.Э., Кевбрин В.В., Дедыш С.Н., Заварзин Г.А. Анализ бактериального сообщества, развивающегося при разложении сфагнома // Микробиология. 2007. Т. 76. № 5. С. 702-710.
40. Кузьмин Г.Ф. Развитие олиготрофных болотных систем и перспективы их использования // Автореф. дисс. к. г. н. Л., 1980. 21 с.
41. Курапова А.И., Зенова Г.М., Судницын И.И. и др. Термотолерантные и термофильные актиномицеты почв зоны пустынных степей Монголии // Микробиология. 2012. Т. 81, № 1.
42. Кухаренко О.С., Якушев А.В., Добровольская Т.Г., Головченко А.В. Влияние аномальной жары на численность, структуру и физиологическое состояние бактериальных комплексов торфяников // Материалы Третьего международного полевого симпозиума «Западно-Сибирские торфяники и цикл углерода: прошлое и настоящее». Ханты-Мансийск: Новосибирск, 2011. С. 34–35.
43. Лопатин В.Д. О наиболее существенных экологических особенностях болот // Экология. 1997. № 6. С. 419-422.
44. Лопатин В.Д. О новой трактовке определения болот // Экология. 1986. № 1. С. 70-72.
45. Лысак Л.В., Лапыгина Е.В., Конова И.А., Кадулин М.С. Численность, жизнеспособность и разнообразие фильтрующих форм прокариот в сфагновом верховом торфянике // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. 2014. № 3. С. 241-235.
46. Лысак Л.В., Лапыгина Е.В. Разнообразие бактериальных сообществ городских почв // Почвоведение. 2018. № 9.

47. Мамай А.В., Степанов А.Л., Федорец Н.Г. Микробная трансформация соединений азота в почвах средней тайги // Вестник Московского университета. Серия 17. Почвоведение. 2013. № 4. С. 32–38.
48. Манучарова Н.А. Гидролитические прокариотные комплексы наземных экосистем. М., 2014.
49. Манучарова Н. А. Молекулярно-биологические методы в почвоведении и экологии : учебное пособие / «Университетская книга», 2014. 68 с.:
50. Методы почвенной биохимии и микробиологии. М.: Изд-во Московского университета, 1991. 304 с.
51. Метс Л.О. О движении воды и развитии микрорельефа в грядово- озерковом комплексе верховых болот // Уч. зап. Тартуского ун-та, 1978. № 440. С. 46–55.
52. Мигловец М.Н. Эмиссия метана в растительных сообществах мезоолиготрофного болота средней тайги // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 1.
53. Ниценко А.А. О понятиях верхового, низинного и переходного в современном болотоведении // Основные принципы изучения болотных биогеоценозов. Л. : Наука. 1972. С. 17-22.
54. Определитель бактерий Берджи. М.: Мир, 1997. Т. 1, 2. 800 с.
55. Панов В.В. Структурно-динамические особенности развития микрорельефа моховых болот// Болотные экосистемы севера Европы: разнообразие, динамика, углеродный баланс, ресурсы и охрана: Материалы международного симпозиума.

Петрозаводск. 30 августа – 2 сентября 2005 г. Карельский научный центр РАН. С. 2006 – 2010.

56. Смоляницкий Л.Я. Некоторые закономерности формирования дернин сфагновых мхов // Бот. журн., 1977. № 9. Т. 52. С. 1269–1272.
57. Теппер Е.З. Микроорганизмы рода *Nocardia* и разложение гумуса. М., 2018.
58. Чернов В.М., Гоголев Ю.В., Мухаметшина Н.Е., Абдрахимов Ф.А., Чернова О.А. Адаптация микоплазм к биогенным и абиогенным стрессорам: нанотрансформация и мини-тела *Acholeplasma laidkawii* // Доклады Академии наук. 2004. Т. 396. № 3. С. 417-420.
59. Щербаков А.В. Эндوفитные сообщества сфагновых мхов как источник бактерий - эффективных ассоциантов сельскохозяйственных. АВТОРЕФЕРАТ диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – Микробиология. Санкт-Петербург – 2014.
60. Щербаков А.В., Брагина А.В., Кузьмина Е.Ю., Берг К., Мунтян А.Н., Макарова Н.М., Мальфанова Н.В., Кардинале М., Берг Г., Чеботарь В.К., Тихонович И.А. Эндوفитные бактерии сфагновых мхов как перспективные объекты сельскохозяйственной микробиологии // Микробиология. 2013. Т. 82. № 3. С. 312–322.
61. Умаров М.М., Кураков А.В., Степанов А.Л. Микробиологическая трансформация азота в почве. М.: Геос, 2007. 138 с.
62. Юрченко Е.Н. Дипломная работа «Влияние микрорельефа верхового торфяника на структуру и функции бактериальных сообществ», 2015

63. Якушев А.В. Комплексный структурно-функциональный метод характеристики микробных популяций // Почвоведение. 2015. № 4. с. 429–446.
64. Albino U., Saridakis D. P. Ferreira M. C., Hungria M., Vinuesa P., Andrade G. High diversity of diazotrophic bacteria associated with the carnivorous plant *Drosera villosa* var. *villosa* growing in oligotrophic habitats in Brazil // Plant Soil. 2006. 287:199–207.
65. Behrendt U., Ulrich A., Schumann P. *Chryseobacterium gregarium* sp. nov., isolated from decaying plant material // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2008. V. 58. P. 1069–1074.
66. Binks P.R., Nicklin S., Bruce N.C. Degradation of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) by *Stenotrophomonas maltophilia* PB1 // Appl. Environ. Microbiol. 1995. V. 61. № 4. P. 1318–1322.
67. Bondoso J., Albuquerque L., Nobre M.F. et al. *Aquisphaera giovannonii* gen. nov., sp. nov., a planctomycetes isolated from a freshwater aquarium // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2011. Vol. 61, N 12.
68. Bragina A., Berg C., Berg G. The core microbiome bonds the Alpine bog vegetation to a transkingdom metacommunity // Molec. Ecol. 2015. Vol. 24.
69. Bragina A., Berg C., Cardinale M., Shcherbakov A., Chebotar V., Berg G. Sphagnum mosses harbour highly specific bacterial diversity during their whole lifecycle // ISME J. 2012 Apr; V. 6. № 4. P. 802–813.
70. Chin K.J., Liesack W., Janssen P.H. *Opitutus terrae* gen. nov., sp. nov., to accommodate novel strains of the division “Verrucomicrobia” isolated from rice paddy soil // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2001. Vol. 51.

71. Chen X.Y., Zhao R., Chen Z.L., Liu L., Li X.D., Li Y.H. *Chryseobacterium polytrichastri* sp. nov., isolated from a moss (*Polytrichastrum formosum*), and emended description of the genus *Chryseobacterium* // Antonie van Leeuwenhoek. 2015. 107:403–410
72. Dake X.U., Xiuying XI.A, Na X.U., Lijia A.N. Isolation and identification of a novel endophytic bacterial strain with antifungal activity from the wild blueberry *Vaccinium uliginosum* // Annals of Microbiology. 2007. V. 57. № 4. P. 673–676.
73. Dedysh S.N., Derakshani M., Liesack W. Detection and enumeration of methanotrophs in acidic *Sphagnum* peat by 16S rRNA fluorescence in situ hybridisation, including the use of newly developed oligonucleotide probes for *Methylocella palustris* // Appl. Environ. Microbiol. 2001. V. 67. P. 4850-4857.
74. Dedysh S.N., Pankratov T.A., Belova S.E. et al. Phylogenetic analysis and in situ identification of bacteria community composition in an acidic *Sphagnum* peat bog // Appl. Environ. Microbiol. 2006. V. 72 (3). P. 2110 - 2117.
75. Dedysh S.N. Cultivating Uncultured Bacteria from Northern Wetlands: Knowledge Gained and Remaining Gaps // Front. Microbiol. 2011; 2: 184.
76. Falagan C., Johnson D.B. *Acidibacter ferrireducens* gen. nov., sp. nov.; an acidophilic ferric iron-reduction gammaproteobacterium // Extremophilus. 2014. Vol. 18, N 6.
77. Foesel B.U., Mayer S., Luckner M. et al. *Occallatibacter riparius* gen. nov., sp. nov. and *Occallatibacter avannae* sp. nov., acidobacteria isolated from Namibian soils, and emended description of the family Acidobacteriaceae // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2016. Vol. 66, N 1.

78. Grimont P., Grimont F. The genus *Serratia*. The prokaryotes: A handbook on habitats, isolation, and identification of bacteria. Berlin: Springer-Verlag Berlin, 1981. P. 1187–1203.
79. Hoang V.A., Kim Y.J., Nguyen N.L., Yang D.C. *Chryseobacterium yeoncheonense* sp. nov., with ginsenoside converting activity isolated from soil of a ginseng fie // Archives of Microbiology. 2013. V. 195. № 7. P. 463–471.
80. Jones F.P., Clark I.M., King R. et al. Novel European free-living, non-diazotrophic Bradyrhizobium isolates from contrasting soils that lack nodulation and nitrogen fixation genes – a genome comparison // Sci. Rep. 2016. Vol. 6. Article number: 25858.
81. Kampfer P., Young C.C., Arun A.B. et al. *Pseudolabrys taiwanensis* gen. nov., sp. nov., an alphaproteobacterium isolated from soil // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2006. Vol. 56, N 10.
82. Kampfer P., Sessitsch A., Schlöter M., Huber B., Busse H. and Scholz H. *Ochrobactrum rhizosphaerae* sp. nov. and *Ochrobactrum thiophenivorans* sp. nov., isolated from the environment International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (2008), 58, 1426–1431.
83. Kishimoto N., Kosako N., Wakao N. et al. Transfer of *Acidiphilium facilis* and *Acidiphilium aminolytica* to the genus *Acidocella* gen. nov., and emendation of the genus *Acidiphilium* // Syst. Appl. Microbiol. 1995. Vol. 18, N 1.
84. Kostka J.E., Weston D.J., Glass J.B., Lilleskov J.B., et al. The Sphagnum microbiome: new insights from an ancient plant lineage // New Phytologist. 2016. 211: 57–64.
85. Kotsyurbenko O.R., Friedrich M.W., Simankova M.V. et al. Shift from acetoclastic to H₂-dependent methanogenesis in a West Siberian peat bog at low pH and isolation of an

acidophilic *Methanobacterium* strain // Appl. Environ. Microbiol. 2007. V.73. № 7. P. 2344-2348. doi:10.1128/AEM.02413-06.

86. Kulichevskaya I.S., Danilova O.V., Tereshina V.M., Kevbrin V.V., Dedysh S.N. Descriptions of *Roseiarcus fermentans* gen. nov. sp. nov., a bacteriochlorophyll a-containing fermentative bacterium phylogenetically related to alphaproteobacterial methanotrophs, and of the Roseiarcaceae fam. nov. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2014. V. 64. P. 2558–2565.
87. Kulichevskaya I.S., Ivanova A.O., Baulina O.I. et al. *Singulisphaera acidiphila* gen. nov., sp. nov., a non-filamentous, isosphaera-like Planctomycete from acidic northern wetlands // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2008. V. 58. P. 1186-1193.
88. Kulichevskaya I.S., Ivanova A.O., Belova S.E. et al. *Schlesneria palidicola* gen. nov., sp. nov., the first acidophilic member of the order Planctomycetales, from *Sphagnum*-dominated boreal wetlands // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2007. V. 57. P. 2680-2687.
89. Kulichevskaya I.S., Kostina L.A., Valášková V.W. et al. *Acidicapsa borealis* gen. nov., sp. nov. and *Acidicapsa ligni* sp. nov., subdivision 1 Acidobacteria from *Sphagnum* peat and decaying wood // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2012. Vol. 62, N 7.
90. Kulichevskaya I.S., Pankratov T.A., Dedysh S.N. Detection of representatives of the Planctomycetes in *Sphagnum* peat bogs by molecular and cultivation approaches // Microbiology. 2006. Vol. 75.
91. Kulichevskaya I.S., Suzina N.E., Liesack W., Dedysh S.N. *Bryobacter aggregatus* gen. nov., sp. nov., a peat-inhabiting, aerobic chemoorganotroph from subdivision 3 of the Acidobacteria // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2010. V. 60. P. 301–306.

92. Kwon S.W., Kim J.S., Park I.C., Yoon S.H., Park D.H., Lim C.K., Go S.J. *Pseudomonas koreensis* sp. nov., *Pseudomonas umsongensis* sp. nov. and *Pseudomonas jinjuensis* sp. nov., novel species from farm soils in Korea // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2003. V. 53. P. 21–27.
93. Leys N.M., Ryngaert A., Bastiaens L. et al. Occurrence and community composition of fast-growing *Mycobacterium* in soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons // FEMS Microbiol. Ecol. 2005. Vol. 51, N 3.
94. Madhuprakash J., Singh A., Kumar S., Sinha M., Kaur P., Sharma S., Podile A.R., Singh T.P. Structure of chitinase D from *Serratia proteamaculans* reveals the structural basis of its dual action of hydrolysis and transglycosylation // Int. J. Biochem. Mol. Biol. 2013. V. 4. № 4. P. 166.
95. Manucharova N.A., Vlasenko A.N., Tourova T.P., Panteleeva A.N., Stepanov A.L., Zenova G.M. Thermophilic Chitinolytic Microorganisms of Brown Semidesert Soil // Microbiology. 2008. V. 77. № 5. P. 610–615.
96. Mason C.J., Zeldin E.L., Currie C.R., Raffa K.F., McCown B.H. Populations of uncultivated American cranberry in sphagnum bog communities harbor novel assemblages of Actinobacteria with antifungal properties // Botany. 2014. V. 92. P. 589–595.
97. Miller C.M., Miller R.V., Garton-Kenny D., Redgrave B., Sears J., Condrón M.M., Teplow D.B., Strobel G.A. Ecomycins, unique antimycotics from *Pseudomonas viridiflava* // J. Appl. Microbiol. 1998. V. 84. P. 937–944.
98. Mohagheghi A. Isolation and characterization of *Acidotherrmus cellulolyticus* gen. nov., sp. nov., a new genus of thermophilic, acidophilic, cellulolytic bacteria // Int. J. Syst. Bacteriol. 1986. Vol. 36.

99. Monciardini P., Cavaletti L., Schumann P. et al. *Conexibacter woesei* gen. nov., sp. nov., a novel representative of a deep evolutionary line of descent within the class Actinobacteria // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2003. Vol. 53, N 2.
100. Okamura K., Kawai A., Yamada T. et al. *Acidipila rosea* gen. nov., sp. nov., an acidophilic chemoorganotrophic bacterium belonging to the phylum Acidobacteria // FEMS Microbiology Letters. 2011. Vol. 317, N 2. doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02224.x
101. Opelt K., Chobot V., Hadacek F., Schonmann S., Eberl L., Berg G. Investigations of the structure and function of bacterial communities associated with Sphagnum mosses // Environ. Microbiol. 2007. V. 9. № 11. P. 2795–2809.
102. Pankratov T.A., Tindall B.J., Liesack W., Dedysh S.N. *Mucilaginibacter paludis* gen. nov., sp. nov. and *Mucilaginibacter gracilis* sp. nov., pectin-, xylan- and laminarin-degrading members of the family Sphingobacteriaceae from acidic Sphagnum peat bog // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2007. V. 57. P. 2349-2354.
103. Pankratov T.A., Serkebaeva Y.M., Kulichevskaya E.S. et al. Substrate-induced growth and isolation of *Acidobacteria* from acidic *Sphagnum* peat // The ISME Journal. 2008. V. 2. P. 551-560.
104. Pankratov T.A., Dedysh S. N., *Granulicella paludicola* gen.nov.,sp. nov., *Granulicella pectinivorans* sp. nov., *Granulicella aggregans* sp. nov. and *Granulicella rosea* sp. nov., acidophilic, polymer-degrading acidobacteria from Sphagnum peat bogs // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2010. V.60. P. 2951–2959.

105. Pouliot R., Rochefort L., Karofeld E., Mercier C. Initiation of *Sphagnum* moss hummocks in bogs and the presence of vascular plants: Is there a link? // *Acta Oecologica*. 2011. V. 37. P. 346–354.
106. Sangwan P., Chen X., Hugenholtz P., Janssen P.H. *Chthoniobacter flavus* gen. nov., sp. nov., the First Pure-Culture Representative of Subdivision Two, Spartobacteria classis nov. of the Phylum Verrucomicrobia // *Appl. Environ. Microbiol.* 2004. V. 70. № 10. P. 5875–5881.
107. Seki T., Matsumoto A., Shimada R. et al. *Conexibacter arvalis* sp. nov., isolated from a cultivated field soil sample // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2012. Vol. 62, N 10.
108. Serkebaeva Y.M., Kim Y., Liesack W., Dedysh S.N. *Pyrosequencing*-based assessment of the Bacteria diversity in surface and subsurface peat layers of a northern wetland, with focus on poorly studied phyla and candidate divisions // *PLOS ONE*. 2013. Vol. 8, N 5: e63994. doi: 10.1371/journal.pone.0063994
109. Singleton D.R., Furlong M.A., Peacock A.D. et al. *Solirubrobacter pauli* gen. nov., sp. nov., a mesophilic bacterium within the Rubrobacteridae related to common soil clones // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2003. Vol. 53, N 2.
110. Sizova M.V., Panikov N.S, Tourova T.P. and Flanagan P.W. Isolation and characterization of oligotrophic acido-tolerant methanogenic consortia from a *Sphagnum* peat bog // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2003. V. 45. P. 301-315.
111. Stępniewska Z., Goraj W., Kuźniar A., Łopacka N., Małysza M. Enrichment culture and identification of endophytic methanotrophs isolated from peatland plants // *Folia Microbiol.* 2017. V. 62. P. 381–391.

112. Talia P., Sede S.M., Campos E. et al. Biodiversity characterization of cellulolytic bacteria present on native Chaco soil by comparison of ribosomal RNA genes // Res. Microbiol. 2012. Vol. 163, N 3.
113. Upton M., Hill B., Edwards C. et al., Combined molecular ecological and confocal laser scanning microscopic analysis of peat bog methanogen populations // FEMS Microbiol. Letters. 2000. V. 193. P. 275-281.
114. Vandamme P., Bernardet J.F., Segers P., Kerssters K., Holmes B. New Perspectives in the Classification of the Flavobacteria: Description of *Chryseobacterium* gen. nov., *Bergeyella* gen. nov. and *Empedobacter* nom. rev. // Int. J. Syst. Bacteriol. 1994. V. 44. № 4. P. 827–831.
115. Vaninsberghe D., Maas K.R., Cardenas E. et al. Non-symbiotic *Bradyrhizobium* ecotypes dominate North American forest soils // ISME J. 2015. Vol. 9.
116. Warmink J. A. and. van Elsas J. D. Migratory Response of Soil Bacteria to *Lyophyllum* sp. strain Karsten in Soil Microcosms // Appl Environ Microbiol. 2009. V. 75. № 9. P. 2820–2830.
117. Weon H.Y., Kim S.H., Kwon S.W., Stackebrandt E., Go S.J. *Chryseobacterium soli* sp. nov. and *Chryseobacterium jejuense* sp. nov., isolated from soil samples from Jeju, Korea // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2008. V. 58. P. 470–473.
118. Wolf A., Fritze A., Hagemann M., Berg G. *Stenotrophomonas rhizophila* sp. nov., a novel plant-associated bacterium with antifungal properties // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2002. V. 52. P. 1937–1944.

119. Yurgel S.N., Douglas G.M., Dusault A., Percival D., Langille M.G.I. Dissection Community Structure in Wild Blueberry Root and Soil // *Front. Microbiol.* 2018. V. 9. 1187. P. 1–14. doi: 10.3389/fmicb.2018.01187

6. СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

Статьи в рецензируемых журналах из списков RSCI, Web of Science, Scopus, а также в изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности:

1. *Dobrovolskaya T.G., Golovchenko A.V., Yakushev A.V., Yurchenko E.N.**, *Manucharov N.A.*, Chernov I.Yu Bacterial complexes of a high moor related to different elements of microrelief // Eurasian Soil Science - 2017. - V.50 № 4 - p. 470-475 (ИФ РИНЦ: 2,81; ИФ WoS: 1,369; DOI:10.1134/S1064229317040020);

2. *Dobrovolskaya T.G., Golovchenko A.V., Yurchenko E.N.**, *Yakushev A.V., Manucharova N.A., Glukhova T.V.* Abundance, taxonomic structure, and functions of bacterial communities of heather plants in ombrotrophic bogs// Microbiology - 2019.- V. 88, № 5, p. 624-630 (ИФ РИНЦ: 2,233; ИФ WoS: 1,156; DOI:10.1134/S0026261719050060);

3. *Добровольская Т.Г., Головченко А.В., Юрченко Е.Н.**, *Костина Н.В.* Структура бактериальных сообществ основных типов растений верхового болота // Вестник Московского университета. - 2019. - Серия 17: Почвоведение, № 1 - С. 42-46 (ИФ РИНЦ: 0,655; DOI: 10.3103/S0147687419010046);

4. *Dobrovolskaya T.G., Golovchenko A.V., Yurchenko E.N.**, *Yakushev A.V., Manucharova N.A., Lysak L.V., Kostina N.V.* Bacterial communities of regressive spots in ombrotrophic bogs: Structure and functions// Microbiology - 2020.- V. 89, № 1, p. 107-114 (ИФ РИНЦ: 2,233;; ИФ WoS: 1,156; DOI: 10.1134/S0026261720010063);

5. *Добровольская Т.Г., Головченко А.В., Лысак Л.В., Юрченко Е.Н.** Таксономическая структура бактериальных сообществ ризосферной почвы под растениями верховых болот // Вестник Московского университета. - 2020. - Серия 17: Почвоведение, № 2 - С. 45-52 (ИФ РИНЦ: 0,655; DOI: 10.3103/S0147687420020039).

Прочие статьи, тезисы, материалы конференций:

1. Якушев А.В., Добровольская Т.Г., Головченко А.В., **Юрченко Е.Н.***
Отличительные особенности физиологического разнообразия, физиологического состояния и преобладающей экологической стратегии среди членов гетеротрофного бактериального комплекса верховых болот // Материалы докладов Международной научной конференции «Роль почв в биосфере и жизни человека». - М. МГУ им. М.В.Ломоносова, 2015. - С. 272-274;

2. Якушев А.В., Добровольская Т.Г., Головченко А.В., **Юрченко Е.Н.***
Экофизиологические особенности бактериальных сообществ верховых болот // Материалы докладов Международной молодежной научной школы «Технологии экологического развития», посвященной Международному году почв. - М. МГУ имени М.В.Ломоносова, 2015. - С. 97-106;

3. Добровольская Т.Г., Головченко А.В., Якушев А.В., Манучарова Н.А., **Юрченко Е.Н.*** Влияние микрорельефа верховых болот на структуру бактериальных комплексов // Тезисы докладов VII съезда Общества почвоведов им. В.В. Докучаева и Всероссийской с международным участием научной конференции “Почвоведение – продовольственной и экологической безопасности страны”, Белгород, 2016. - Часть II - С. 116-117.

*в 2019 году автор сменил фамилию с Юрченко Е.Н. на Першина Е.Н. в связи с замужеством