

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ имени М.В. ЛОМОНОСОВА

*На правах
рукописи*



Першина Елизавета Николаевна

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

03.02.08 – экология

03.02.03 – микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание

ученой степени кандидата

биологических наук

Москва – 2021

Работа выполнена на кафедре биологии почв факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова

**Научный
руководитель**

Добровольская Татьяна Глебовна, кандидат биологических наук, доцент, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», факультет почвоведения, кафедра биологии почв, лаборатория почвенной микробиологии, ведущий научный сотрудник

**Официальные
оппоненты**

Волкова Елена Михайловна, доктор биологических наук, доцент, ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет», кафедра биологии, заведующий кафедрой биологии

Васильева Лина Васильевна, доктор биологических наук, без звания, Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный Исследовательский Центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, старший научный сотрудник

Ванькова Анна Андреевна, кандидат биологических наук, доцент, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», кафедра микробиологии и иммунологии, доцент кафедры микробиологии и иммунологии

Защита диссертации состоится «30» ноября 2021 г. в 15 ч. 30 мин. на заседании диссертационного совета МГУ.03.05 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, корп. 12, ауд. М-2. Тел: 8(495)939-22-89, электронная почта: natalia_kovaleva@mail.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на сайте ИАС «ИСТИНА»: <http://istina.msu.ru/dissertations/283955258>.

Автореферат разослан «25» октября 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета, д.б.н.



Ковалева Н.О.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы. 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 экотипов 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 сфагнума;
5. Оценить биоразнообразие прокариотного комплекса в ризосферной почве под характерными представителями болотных растений методом высокопроизводительного секвенирования консервативного участка гена 16S рРНК;
7. Сравнить физиологическое разнообразие бактериального блока филлосферы вересковых растений и сфагнума. Определить актуальную азотфиксацию бактериальных сообществ в ризосферной почве под болотными растениями и сфагнумом;
8. 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;
9. 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 были 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.

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 заключался 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.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе представлена характеристика формирования структуры микрорельефа верхового болота. Рассмотрены причины возникновения грядово–мочажинного комплекса. Даны характеристика сосудистых растений верховых болот и их влияние на микрорельеф и функции болотных экосистем. Рассмотрены регрессивные пятна на верховых болотах, как индикаторы дистрофной стадии их развития. Обсуждены структура и функции бактериальных сообществ верховых торфяников. Рассмотрены эндوفитные бактерии в сфагнуме.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты исследования

Торфяная почва под сосняком кустарничково-пушицево-сфагновым, являющаяся постоянной пробной площадью Западновинского лесоболотного стационара ФГБУН Института лесоведения РАН (56°09'с.ш., 32°10'в.д. и 56°09'с.ш., 32°08'в.д.) в Тверской области.

Результаты нивелировки поверхности исследуемого торфяника показали, что микропонижения занимают 52%, ровные поверхности 31% и микроповышения (кочки) 17% площади (Глухова и др., 2014). В данной работе изучали ровные поверхности и кочки. Образцы сфагнома (*Sphagnum magellanicum*), его очеса и торфянистых горизонтов на кочках и ровных поверхностях были отобраны с глубины 0-55 см в последней декаде августа 2015 года.

Объектами исследования также являлись разные типы болотных растений. Травянистые растения - осока черная (*Carex nigra*), пушица влагалищная (*Eriophorum vaginatum*), росянка круглолистная (*Drosera rotundifolia*). Вересковые кустарники - подбел обыкновенный (*Andromeda polifolia* L.), багульник болотный (*Ledum palustre* L.), 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.). Анализировали образцы сфагнома, его очёса, листья и стебли растений (филлосфера), поверхность корней (ризоплана) и почву под растениями. Образцы были отобраны в июне 2017 года. Растения (по 5-10 экземпляров каждого) отбирали в четырех точках, удаленных друг от друга на расстоянии 50-100 м. Растения 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.

Другим объектом исследования было грядово-мочажинное сфагновое безлесное болото «Большой Роговской Мох» (56°08'20"с.ш., 32°06'06"в.д.). Это болото является так же одной из пробных площадей Западновинского лесоболотного стационара Института лесоведения РАН в Тверской области. Регрессивные пятна на исследуемом торфяном массиве овальной формы и имеют размер в среднем 50×100 см. Образцы отбирали в августе 2015 года, а также в августе 2017 года.

Образцы регрессивных пятен отбирали из 5 пятен, удаленных друг от друга на расстоянии 3–7 м в 10 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.

2.2 Методы исследования

Численность и суммарную биомассу бактерий определяли прямым методом с использованием люминесцентной микроскопии. Препараты окрашивали раствором акридина оранжевого (Методы почвенной микробиологии и биохимии, 1991). Численность и таксономический состав бактерий также определяли методом посева на агаризованную глюкозо-

пептонно-дрожжевую среду (ГПД). 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). После выделения и амплификации полученных фрагментов идентификацию доминирующих таксонов бактерий проводили по результатам секвенирования нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК с использованием программы BLAST и референсной базы NCBI (Манучарова Н.А. Молекулярно-биологические методы в почвоведении и экологии: учебное пособие, 2014). Биоразнообразие прокариотного комплекса почвенных образцов определяли методом высокопроизводительного секвенирования консервативного участка гена 16S рРНК. Для экстракции тотальной ДНК применяли стандартные методы PowerSoil DNA Isolation Kit (МО ВЮ, США), руководствуясь инструкциями производителя. Физиологическое разнообразие и трофическую специализацию гидролитического бактериального блока определяли комплексным структурно-функциональным методом (Якушев, 2015). Определение азотфиксации проводили методом газовой хроматографии (Методы почвенной микробиологии и биохимии, 1991).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ¹

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

Численность исследуемых бактерий в сфагнуме, отобранном с ровных болотных поверхностей, установленная методом прямого счёта составила 7×10^9 кл./г – в зелёной части растения и 9×10^9 кл./г – в очёсе сфагнома. В слоях торфа под отобранным очёсом, общая бактериальная численность последовательно возрастала до 63×10^9 кл./г – в слое 6-10 см, и до 96×10^9 кл./г – в слое 10-20 см. Далее вниз по профилю численность практически не изменялась, сохраняя высокий уровень (таблица 1).

На кочках численность бактерий варьировала от 20×10^9 до 94×10^9 кл./г субстрата в зависимости от положения образца в профиле. Количество подсчитанных бактерий на зеленом живом сфагнуме, активно растущем на самой верхушке купола исследованной кочки, составило 20×10^9 кл./г. В буром очёсе сфагнома выявленный бактериальный титр увеличивался вдвое. При движении вниз по вертикальному градиенту исследуемой кочки численность выявленных бактерий продолжала постепенно возрастать и достигать своего максимума - 94×10^9 кл./г сфагнома в самом её основании (таблица 1). Кроме того, сравнительный анализ исследованных кочек, а также ровных поверхностей, показал, что они имеют как сходный характер последовательного 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, общая численность выявленных бактериальных популяций в сфагнуме, растущем на

¹Все представленные результаты опубликованы в статьях № 1, 2, 3, 4, 5 (см. Работы, опубликованные по теме диссертации)

возвышенных кочках, была выше, по сравнению с пологими ровными поверхностями: в 3 раза – на зелёных частях и в 4 раза – в его очёсе (таблица 1).

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

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.

Полученные результаты хорошо согласуются с повышенной в 2-5 раз эмиссией углекислого газа из сфагновых кочек по сравнению 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 1

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

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

Окончание таблицы 1

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	%	Глубина (см)
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

Поскольку во всех микролокусах доминировали протеобактерии, была проведена идентификация выделенных культур бактерий на основании секвенирования нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК. Бактериальные доминанты были представлены всего 4 родами, а именно: *Pseudomonas* и *Acinetobacter*, а также *Dyella* и *Burkholderia* (таблица 2).

Таблица 2

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

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* при этом относится к классу β-Proteobacteria. Бактерии указанных родов относятся к эколого-трофической группе копитрофов, и являются неспособными к гидролизу более сложных полимеров (например, хитина, целлюлозы и кератина). 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 3). В большинстве случаев они были доминантами. На кочке общая доля буркхольдерий в итоге составляла от 65 до 88% от общего количества обнаруженных протеобактерий, при этом на пологой, ровной поверхности болота они были обнаружены только в очёсе (15%). Кроме того, акинетобактер доминировал в основном в буром очёсе сфагнома болотной кочки, на пологих ровных площадках его доля значительно колебалась в пределах 7-37%, и увеличивалась 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 3

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 сфагнома 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
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

На рис. 1 представлены результаты определения максимальной удельной скорости роста и метаболической готовности к росту бактериальных сообществ на полимерах. Оба показателя были значительно выше на 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. К последовательному гидролизу значительно более сложных органических полимеров (например, хитин, целлюлоза и кератин) потенциально были готовы бактериальные сообщества из очёса сфагнома - рост был на всех полимерах. Из ячеек, содержащих в себе среды с полимерами - целлюлозой, а также хитином, удалось в итоге выделить и чистые культуры бактерий, а кроме того, определить эти культуры до рода. 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.

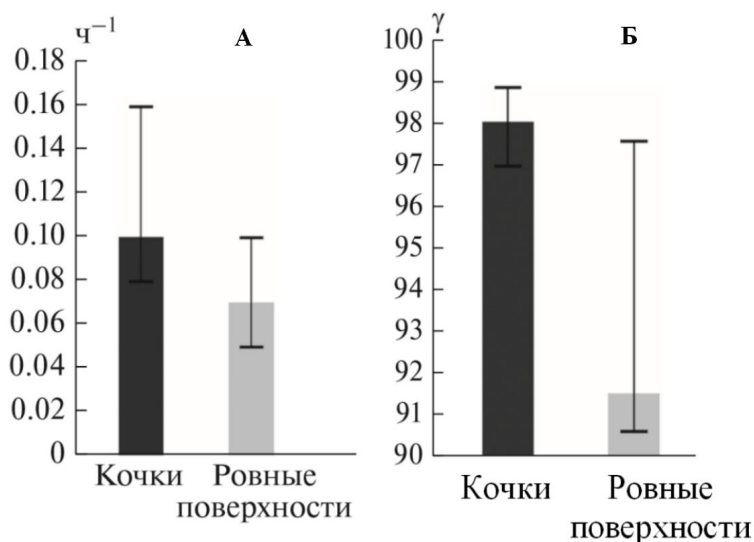


Рис. 1. Бактериальный гидролитический комплекс очеса сфагнома. А - максимальная удельная скорость роста, Б - метаболическая готовность к росту

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 $4,2 \cdot 10^9$ кл./г. При этом минимальные значения численности были зафиксированы на росянке. Различий в численности бактерий на листьях и корнях практически не было. Общая 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 4). Численность бактерий на разных органах вересковых растений, установленная прямым счётом, варьировала в пределах одного порядка от 1×10^9 кл./г до $3,4 \times 10^9$ кл./г. Максимальная численность бактерий была выявлена на корнях клюквы и багульника (таблица 5).

Таблица 4

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 5

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
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 10^5 - 10^8 КОЕ/г, достигая максимума в филлосфере брусники и клюквы (таблица 5). На листьях и ризоидах сфагнума концентрация бактерий, определённая прямым методом, была примерно такой же, как на вересковых растениях. Однако, по методу посева в сфагнуме общая бактериальная численность была на 1-2 порядка ниже, чем на вересковых растениях, составляя от 0,3 до $1,8 \cdot 10^5$ 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 $4,2 \cdot 10^9$ кл/г. Общая 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 $p<0.001$).

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 6).

Таблица 6

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>Pseudomonas</i> , <i>Erwinia</i> <i>Ochrobactrum rhizosphaere</i>
Пушица влагалищная (<i>Eriophorum vaginatum</i> L.)	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> <i>Pseudomonas</i> , <i>Erwinia</i>
Росяска 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 proteamaculans</i>
Черника миртолистная (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.)	<i>Pseudomonas koreensis</i>
Подбел обыкновенный (<i>Andromeda polifolia</i> L.)	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> , <i>Chryseobacterium soli</i> , <i>Chryseobacterium polytichastri</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>

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 6).

На сфагнуме протеобактерии, были представлены двумя теми же родами, что и на других 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 6).

Для изучения бактериального разнообразия в ризосферной почве под болотными растениями были выбраны 3 вида растений: вересковый

кустарничек - багульник, и травянистые растения - пушица и осока. В результате было установлено, что протеобактерии в ризосферной почве представлены следующими филумами: Proteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteria, Verrucomicrobia, Bacteroidetes, Planctomycetes, Cyanobacteria, Firmicutes, Chloroflexi, WPS-2 (рис. 2). 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 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. 2).

Таким образом, для бактериальных сообществ ризосферной почвы, независимо от вида болотного растения, характерно доминирование ацидобактерий и альфа-протеобактерий. 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 7).

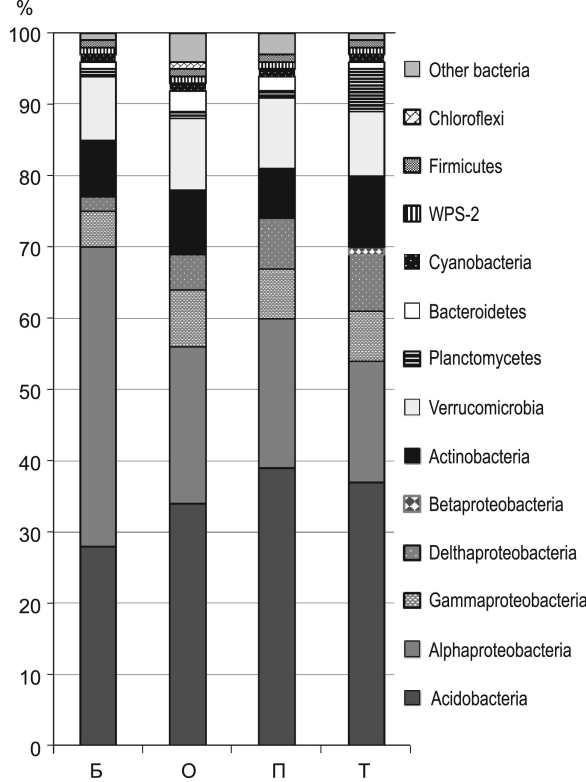


Рис. 2. Таксономическая структура (на уровне филумов) бактериальных сообществ ризосферной почвы под растениями и в поверхностном слое (0 – 5 см) верхового болота: Б – багульник, О – осока, П – пушица, Т – торф (результаты для образцов торфа по данным Serkebaeva Y.M. et al., 2013)

Таблица 7

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

Таксон			Растение		
Класс	Семейство	Род	Багуль-ник	Осока	Пуши-ца
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>	+	–	–
Verrucomicrobia	Opitutaceae	<i>Opitutus</i>	+	+	+
	Chtoniobacteracea	<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.

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 (рис. 3).

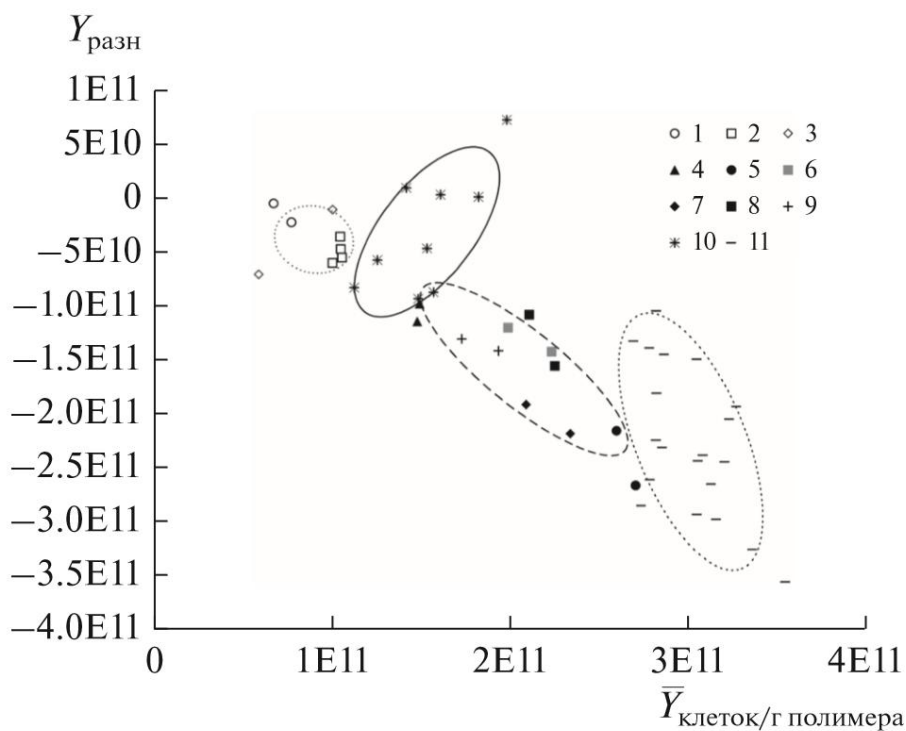


Рис. 3. Физиологическое разнообразие ($\bar{Y}_{\text{клеток/г полимера}}$) и трофическая специализация ($Y_{\text{разн}}$) гидролитического бактериального блока. Корреляционные эллипсы приведены для $r = 0,95$. Мхи: 1 – *Sphagnum fuscum*, 2 – *Sphagnum fallax*, 3 – *Polytrichum strictum*; вересковые кустарнички: 4 – багульник, 5 – голубика, 6 – клюква, 7 – подбел, 8 – черника, 9 – брусника; 10 – верховой торф горизонт T1, 11 – низинный торф горизонт T1.

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 $\text{C}_2\text{H}_4/\text{г суб.}^*\text{ч}$ (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 сфагнума, что весьма логично с учётом большого количества и разнообразия бактерий именно в очёсе, где происходят процессы деструкции различных полимеров. Во всех вариантах опыта, кроме сфагнума, наблюдали значительное увеличение (в 2-3 раза) азотфиксирующей активности бактериальных сообществ почвы при добавлении глюкозы. Противоположные закономерности были выявлены в функционировании бактериальных комплексов сфагнума и его очёса – уменьшение показателей нитрогеназной активности при внесении глюкозы (таблица 8). Возможно, это связано с тем, что в торфяниках преобладают диазотрофные бактерии, использующие в качестве энергетических субстратов метан и метанол (Кравченко, Дорошенко, 2003).

Таблица 8

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
Росянка 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
Сфагnum магелланский (<i>Sphagnum magellanicum</i> Bird.), зелёная часть	0,291	0,117
Сфагnum магелланский (<i>Sphagnum magellanicum</i> Bird.), очес	0,397	0,193

3.3. 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 9). 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 9).

Регрессивные пятна характеризовались высокой численностью бактерий. Она варьировала от 50×10⁹ до 144×10⁹ кл./г и была в 2,5-7 раз выше, чем в образцах верхового торфа (таблица 9).

Таблица 9

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

Субстрат	Численность, ×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 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.

На основании метода 16SpPHK была установлена родовая и видовая принадлежность доминирующих в бактериальных сообществах регрессивных пятен культур протеобактерий. 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 10).

Таблица 10

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

Сравнительный анализ прокариотной компоненты регрессивных пятен и верхового торфа 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. 4).

Обработка метагеномных данных методом главных компонент подтвердила выявленные закономерности (рис. 5). 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.

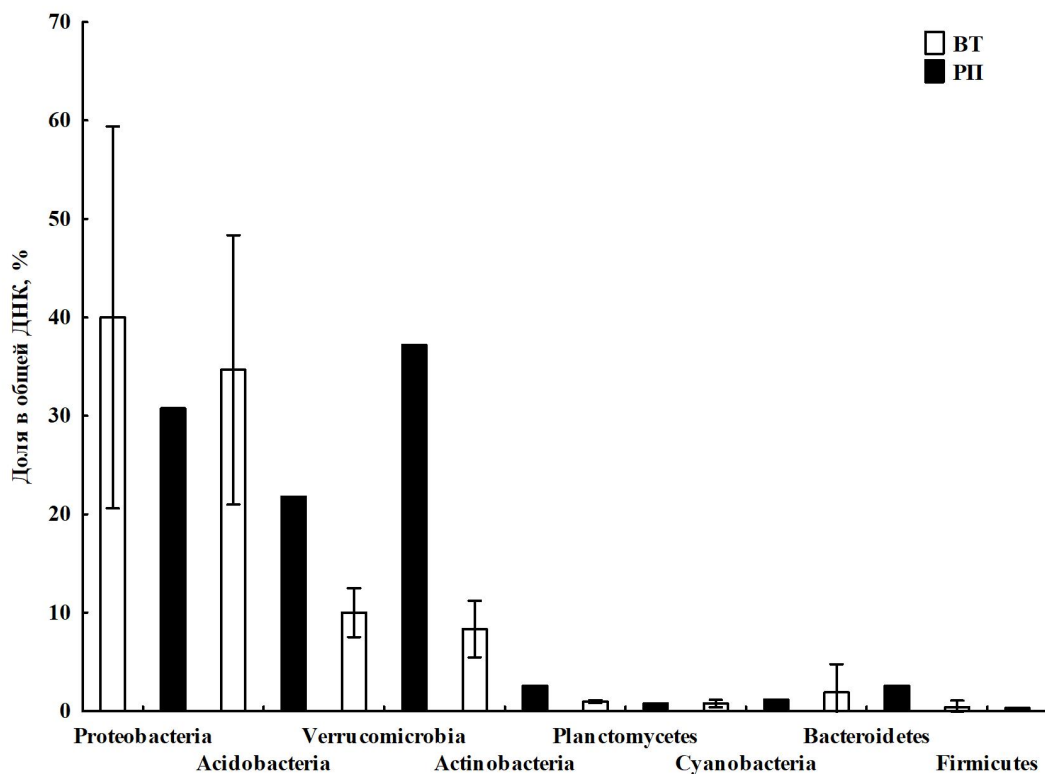


Рис. 4. Доля ДНК разных филумов бактерий в верховом торфе и регрессивном пятне

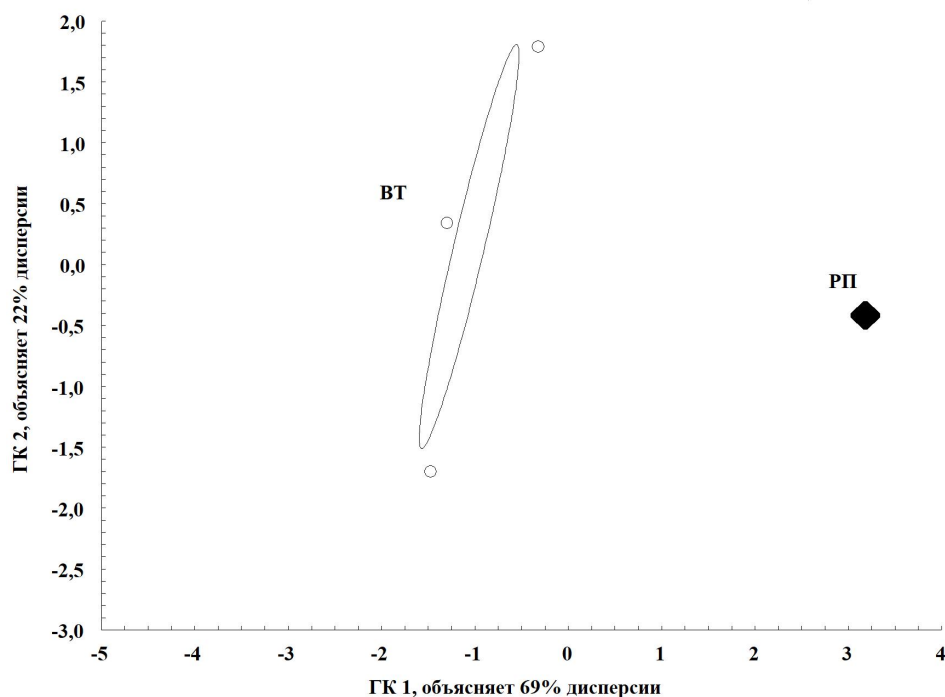


Рис. 5. Анализ метагеномных данных методом главных компонент
 РП – регрессивное пятно, ВТ – верховой торф, а – положение бактериальных комплексов в факторной плоскости ГК1 и ГК2. Корреляционный эллипс ограничивает область с уровнем значимости $p=0.95$.

Представители Verrucomicrobia изучены плохо, так как большинство

бактерий являются некультивируемыми. Так, из веррукомикробий, обнаруженных в регрессивных пятнах, 95% относятся к некультивируемым формам. Веррукомикробии рода *Chtoniobacter*, 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 11).

Таблица 11

Спектр родов бактерий, обнаруженных в регрессивных пятнах и в верховом торфе на основе использования метода высокопроизводительного секвенирования

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

В регрессивных пятнах и в верховом торфе внутри подкласса альфа-протеобактерий обнаружены представители рода *Roseiarcus*, принадлежащие к порядку Rhizobiales. Они являются метанотрофами, Следует отметить большее разнообразие родов альфа-протеобактерий в верховом торфе, представленных родами *Bradyrhizodium* и *Nitrobacter*. Эти роды не были обнаружены в регрессивном пятне (таблица 11).

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*, *Chtoniobacter* Это закономерно, так как регрессивные пятна образуются на поверхности олиготрофных болот в результате деструкции сфагнового покрова.

В регрессивных пятнах 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 $\bar{Y}_{разн}$ (рис. 6). По сочетанию параметров \bar{Y} и $\bar{Y}_{разн}$ 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.

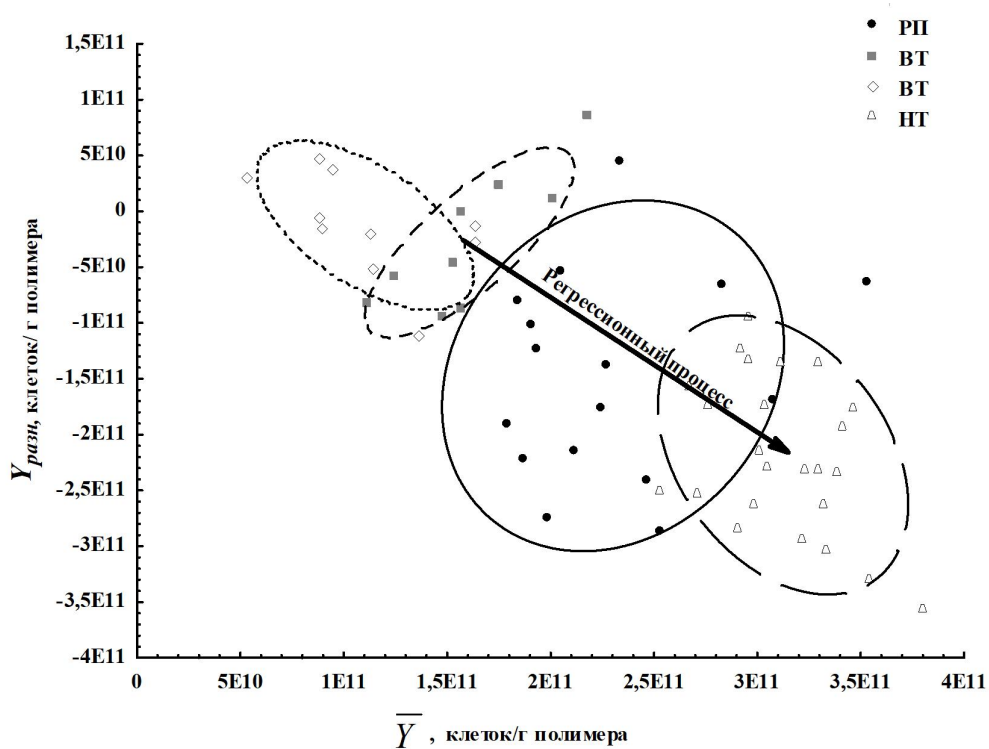


Рис. 6. Физиологическое разнообразие (\bar{Y}) и трофическая специализация ($\bar{Y}_{\text{разн}}$) гидролитического бактериального блока регрессивной плёнки (РП), верховых (Т1 ВТ, Т2 ВТ) и низинных торфов (Т1 НТ). Корреляционные эллипсы ограничивают область с уровнем значимости $p=0,95$

Азотфиксирующая активность в исследованных регрессивных пятнах 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. 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 $\text{C}_2\text{H}_4/\text{г}$ суб.×ч, в очёсе – 0,397 нг $\text{C}_2\text{H}_4/\text{г}$ суб.×ч, т.е. она оказалась значительно ниже, чем в пятнах.

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.

3.4 Заключение и итоги выполненного исследования

В результате проведённых исследований сравнен таксономический состав бактериальных сообществ в верховом торфе и регрессивных пятнах с таковым в ризосферной почве под сосудистыми болотными растениями. 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. Полученные результаты позволяют значительно расширить представление о таксономическом разнообразии и функционировании бактериальных комплексов верховых торфяников, что подтверждает высказанный ранее взгляд на торфяные почвы как банки бактериального разнообразия (Головченко и др., 2010).

3.5 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.

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.

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 филосферы 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 ранее 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.

РАБОТЫ, ОПУБЛИКОВАННЫЕ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

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).

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