

## ЧИСЛЕННОСТЬ, ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ВЕРЕСКОВЫХ РАСТЕНИЙ ВЕРХОВЫХ БОЛОТ

© 2019 г. Т. Г. Добровольская<sup>а</sup>, \*, А. В. Головченко<sup>а</sup>, Е. Н. Юрченко<sup>а</sup>,  
А. В. Якушев<sup>а</sup>, Н. А. Манучарова<sup>а</sup>, Т. В. Глухова<sup>б</sup>

<sup>а</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия

<sup>б</sup>Институт лесоведения Российской академии наук, Московская область, Успенское, 143030 Россия

\*e-mail: dobrtata@mail.ru

Поступила в редакцию 12.12.2018 г.

После доработки 15.04.2019 г.

Принята к публикации 27.04.2019 г.

Изучены бактериальные сообщества шести болотных растений семейства вересковых. Общая численность бактерий на вегетативных органах вересковых растений характеризовалась высокими значениями и была сравнима с таковой сфагновых мхов. Выявлены общие представители таксонов бактерий, обитающие на вересковых растениях и сфагновых мхах. Доминирующие в эпифитно-сапротрофном комплексе бактерии на основании данных применения метода секвенирования нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК были отнесены к родам *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Serratia*, *Chryseobacterium*. Физиологическое разнообразие гидролитического бактериального блока у вересковых растений было существенно больше, чем у мхов. Анализ таксономической принадлежности и функциональности выделенных бактерий позволяет прогнозировать их способность стимулировать рост растений.

**Ключевые слова:** верховые болота, вересковые растения, бактериальные сообщества, численность, таксономический состав, экологические функции

**DOI:** 10.1134/S0026365619050069

Микробные сообщества верховых торфяников изучаются как отечественными, так и зарубежными исследователями в течение многих десятилетий (Головченко и соавт., 2005; Панкратов и соавт., 2005; Куличевская и соавт., 2007; Дорошенко и соавт., 2007; Opelt et al., 2007; Vragina et al., 2012; Добровольская и соавт., 2013, 2018). При этом исследуются бактерии, обитающие в торфяной толще, но не на болотных растениях. К типичным растениям верховых болот, называемых сфагнофилами, относят ряд растений семейства Вересковых (*Ericaceae*). Среди представителей этого семейства хозяйственное значение имеют виды рода *Vaccinium* со съедобными плодами: брусника, голубика, клюква и черника. Традиционное использование вересковых связано, преимущественно, с лекарственными свойствами некоторых видов.

Что касается микробиологического анализа разных органов вересковых растений, то такие работы единичны. Так, из корней голубики выделены эндофитные бактерии *Serratia marcescens*, обладающие антагонистической активностью по отношению к 11 видам фитопатогенных грибов (Dake et al., 2007). Из ризосферы клюквы были

выделены актинобактерии рода *Streptomyces*, которые так же обладали фунгицидным действием (Mason et al., 2014). На стеблях и корнях клюквы были обнаружены метанотрофы, представленные родами *Methylosinus* и *Methylomonas* (Stepniwska et al., 2017). В ризосфере голубики в качестве доминирующих филумов были выявлены альфапротеобактерии и ацидобактерии (Yurgel et al., 2018). Однако отсутствуют данные о структурно-функциональной организации бактериальных сообществ болотных растений из семейства вересковых с учетом видов растений и вегетативных органов.

Целью настоящей работы было определить численность, таксономическую структуру и физиологическое разнообразие гетеротрофных бактериальных комплексов шести видов вересковых растений.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на постоянной экспериментальной площадке Западнодвинского лесоболотного стационара Института лесоведе-

ния РАН в Тверской области (Вомперский и соавт., 1988). Анализируемый торфяник под сосняком кустарничково-пушицево-сфагновым — часть классического олиготрофного болотного массива “Сосвятское”. В июне 2017 года были отобраны образцы 6 растений из семейства вересковых: подбела обыкновенного (*Andromeda polifolia* L.), багульника болотного (*Ledum palustre* L.), голубики обыкновенной (*Vaccinium uliginosum* L.), черники миртолистной (*Vaccinium myrtillus* L.), брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.), клюквы обыкновенной (*Vaccinium oxycoccus* L.), а также 3 вида сфагнума: бурого (*Sphagnum fuscum* (Schimp.) H. Klinggr), магелланского (*Sphagnum magellanicum* Bird.) и обманчивого (*Sphagnum fallax* H. Klinggr).

**Отбор образцов.** Растения (5–10 экземпляров каждого) отбирали в четырех точках, удаленных друг от друга на расстоянии 50–100 м. Растения извлекали из торфяного массива вручную, с использованием стерильных перчаток, затем помещали в стерильные пластиковые пакеты, которые в тот же день в охлажденном виде доставляли в лабораторию для дальнейших исследований. Анализировали вегетативные органы растений: листья, стебли, корни. Для каждого органа нескольких растений одного вида готовили средний образец.

**Общую численность бактерий** определяли методом прямого подсчета с использованием люминесцентной микроскопии (Методы почвенной микробиологии и биохимии, 1991). Клетки бактерий десорбировали с применением ультразвукового диспергатора Sonopuls HD 2070 (“Bandelin Electronic”, Германия) в течение 2 мин при мощности 50%. Для исследования микрофлоры поверхности корней растений (ризопланы), использовали предварительно отмытые корни. Каждый образец просматривали в 6 повторностях. Препараты окрашивали раствором акридина оранжевого (1 : 10000) и просматривали в люминесцентном микроскопе ЛЮМАМ-ИЗ (Россия) (светофильтры ЖС-19, ЖС-18, объектив ×90 Л, окуляры ×4 или ×5).

Количество клеток бактерий, содержащихся в 1 г свежего образца, вычисляли по формуле:  $N = S_1 \times a \times n/v \times S_2 \times c$ , где:  $N$  — число клеток бактерий в 1 г свежего образца;  $S_1$  — площадь препарата (мкм<sup>2</sup>);  $a$  — 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<sup>2</sup>);  $c$  — навеска образца (г).

**Численность и таксономический состав гетеротрофных сапротрофных бактерий.** Численность бактерий определяли методом посева образцов в 5-кратной повторности на агаризованную глюкозо-пептонно-дрожжевую среду (ГПД). Для ингибирования роста грибов в среду (0.5 л) добавляли

нистатин (50 мг). Посевы инкубировали при комнатной температуре в течение 2–3 нед. Численность бактерий выражали в колониеобразующих единицах (КОЕ) на 1 г образца. Основных представителей бактерий выделяли в чистые культуры.

**Идентификацию доминирующих штаммов** до рода осуществляли на основании молекулярно-биологических, морфологических, культуральных и хемотаксономических признаков (Определитель бактерий Берджи, 1997; Manucharova et al., 2008; Добровольская и соавт., 2010). К доминирующим относили бактерии, колонии которых составляли более 30% от общего числа колоний на чашке (Добровольская и соавт., 2010). Для экстрагирования ДНК из клеток чистых культур микроорганизмов применяли стандартные методы PowerSoil DNA Isolation Kit (“Mo Bio”, США), руководствуясь инструкциями производителя. Полимеразную цепную реакцию и дальнейшее секвенирование ПЦР-фрагментов гена 16S rRNA проводили с использованием системы универсальных праймеров (Edwards et al., 1989; Manucharova et al., 2008). С целью предварительного филогенетического анализа полученных нуклеотидных последовательностей генов 16S rRNA использовали программное обеспечение баз данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Анализ и выравнивание последовательностей проводили с помощью программы BioEdit (<http://jwbrown.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>). Построение дендрограмм осуществляли с помощью алгоритма neighbor-joining (NJ) в программе MEGA 4. Статистическую достоверность филогенетических реконструкций оценивали методом “Bootstrap” путем построения 1000 альтернативных деревьев (Thompson et al., 1994).

**Физиологическое разнообразие и трофическую специализацию гидролитического бактериального блока** определяли комплексным структурно-функциональным методом (Якушев, 2015). Изучали ассоциации микроорганизмов, развивающиеся в жидких питательных средах с биополимерами при их инокулировании смывами с поверхности растений. О сукцессионных изменениях в инициированных к росту сообществах судили по кинетическому параметру, коэффициенту экономической эффективности ( $Y$ ). Для ингибирования роста грибов в среду вносили нистатин (200 мг/л) и циклогексимид (60 мг/л). В качестве единственного источника углерода использовали коммерческие препараты полимеров: кератин молотый “Sigma-Aldrich”, хитин ракообразных “Oligo-Tech”, целлюлозу порошковую (0.1–0.25 мкм) “Союзреактив”, пектин лимонный “ICN Biomedicals Inc.”, крахмал растворимый “ЛенРеактив”, ксилан березовый “Sigma-Aldrich”, инулин из цикория “Sigma-Aldrich”, декстран Т-500 хроматографический “Loba Chemie”, агарозу легкоплавкую “SERVA” (как трудно разлагаемый биополимер),

твин 20 “Ferak Berlin” (как водорастворимый аналог жиров), казеин по Гамерстену “Merck” (аналог легко разлагаемого белка), ДНК “Sigma-Aldrich”.

Физиологическое разнообразие гидролитического бактериального блока оценивали по эмпирически выведенному методом главных компонент параметру – среднеарифметическому экономическому коэффициенту ( $\bar{Y}$ ) инициированных микробных 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 в питательной среде,  $x_0$  – исходная концентрация микроорганизмов в инокулированной культуре.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке структурно-функциональной организации бактериальных сообществ растений из семейства вересковых и мхов численность бактерий, установленная прямым счетом, варьировала от  $1 \times 10^9$  до  $3.4 \times 10^9$  кл./г в зависимости от вида и органа растений (табл. 1), и для листьев, и для стеблей кустарничков она характеризовалась близкими значениями. Максимальная численность бактерий ( $2.5 \times 10^9$  кл./г) была выявлена в филлосфере брусники. Поверхность корней (ризоплана) большинства из анализируемых растений была заселена бактериями обильнее, чем поверхность надземных частей растений: пределы колебаний численности бактерий в ризоплане составили  $1.5\text{--}3.4 \times 10^9$  кл./г. Численность бактерий достигала максимальных величин на корнях багульника и клюквы, минимальных – на корнях подбела. Факторный дисперсионный анализ показал, что численность бактерий достоверно различалась как для органов растений (критерий Фишера ( $F$ ) = 199 при  $p < 0.001$ ), так и для видов растений ( $F$  = 179, при  $p < 0.001$ ). Численность бактерий на вересковых растениях была одного порядка, что и на сфагновых мхах (табл. 1).

Численность бактерий эпифитно-сапротрофного комплекса, определенная методом посевов, варьировала для исследуемых образцов в широком диапазоне – от  $1 \times 10^5$  до  $1.42 \times 10^7$  КОЕ/г (табл. 1). Максимальные значения были характерны для филлосферы брусники –  $(122\text{--}142) \times 10^5$  КОЕ/г, что коррелировало с результатами, полученными методом прямого подсчета. В ризоплане подбела и багульника численность бактерий была сравнима с таковой в их филлосфере и была значительно меньше у черники, клюквы, голубики, брусники. Отметим, что численность

бактерий эпифитно-сапротрофного комплекса на вересковых растениях была на 1–2 порядка больше, чем на сфагновых мхах (табл. 1).

Анализ таксономической структуры бактериальных комплексов вересковых растений выявил монодоминирование грамтрицательных бактерий, которые были идентифицированы до вида на основании метода 16S рРНК. Установлено, что на всех вегетативных органах исследуемых растений, кроме черники, доминировали бактерии рода *Stenotrophomonas*, представленные видом *Stenotrophomonas rhizophila* (табл. 2, рис. 1). В бактериальных сообществах черники доминирующими оказались бактерии *Pseudomonas koreensis*, а бактерии рода *Stenotrophomonas* были минорными компонентами. В качестве второго доминанта на багульнике выявились представители вида *Pseudomonas viridiflava*, на подбеле – бактерии видов *Chryseobacterium soli* и *Ch. polytichastri*, на голубике – факультативно анаэробные бактерии видов *Serratia grimesii* и *S. proteamaculans* (табл. 2). Следует отметить, что идентифицированные доминирующие бактерии принадлежат классу  $\gamma$ -*Proteobacteria*, кроме рода *Chryseobacterium*, относящегося к классу *Flavobacteria* (табл. 3).

На сфагновых мхах, растущих рядом, были обнаружены представители тех же таксонов бактерий, что и на вересковых растениях – *Pseudomonas* sp., *Stenotrophomonas rhizophila* и *Chryseobacterium soli*.

При сравнении спектра бактериальных таксонов экзофитов со спектром бактерий, обнаруженных на сфагновых мхах в качестве эндофитов (Щербаков и соавт., 2013), отмечены определенные различия. В эндофитных гетеротрофных бактериальных сообществах сфагновых мхов преобладали представители родов *Pseudomonas*, *Serratia*, *Burkholderia*, *Flavobacterium*, *Collimonas*, *Stenotrophomonas* (жирным шрифтом выделены общие роды).

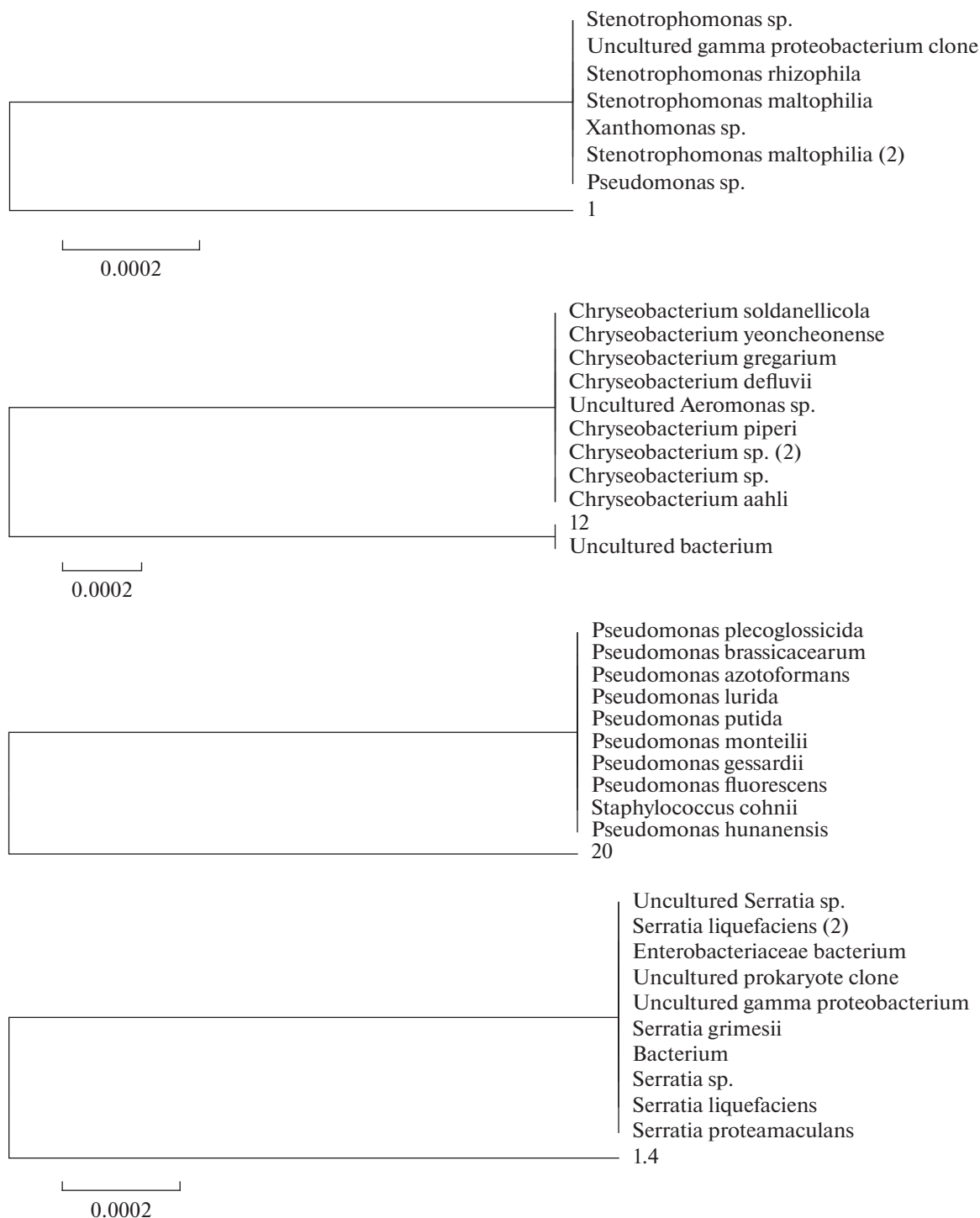
Теперь дадим краткую характеристику тем родам бактерий, которые доминировали на вересковых растениях и сфагновых мхах. Известно, что бактерии рода *Stenotrophomonas* (ранее *Xanthomonas*) выявляются из самых разных местообитаний, в том числе из клинического материала. Бактерии вида *Stenotrophomonas rhizophila* были изолированы из ризосферы картофеля и описаны как новый вид (Wolf et al., 2002). Было показано, что они способны стимулировать рост растений и подавлять рост фитопатогенных грибов. Отметим, что эти бактерии, как и представители других видов рода *Stenotrophomonas*, могут использоваться для биоремедиации почв, благодаря их способности деградировать ксенобиотики (Binks et al., 1995). Род *Chryseobacterium* – результат переклассификации 5 видов рода *Flavobacterium* (Vandamme et al., 1994). Обнаруженный в качестве доминанта

**Таблица 1.** Численность бактерий на вегетативных органах вересковых растений и мхов, установленная методом посева

Растение	Вегетативный орган	Численность бактерий	
		прямой метод 10 <sup>9</sup> клеток/г	метод посева 10 <sup>5</sup> 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

**Таблица 2.** Доминирующие таксоны культивируемых бактериальных сообществ вересковых растений

Растение	Роды и виды бактерий	% сходства
Подбел обыкновенный	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	100
	<i>Chryseobacterium soli</i>	97–99
	<i>Chryseobacterium polytichastri</i>	98–99
Багульник болотный	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	100
	<i>Pseudomonas viridiflava</i>	99–100
Черника миртолистная	<i>Pseudomonas koreensis</i>	99–100
Брусника обыкновенная	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	100
Клюква обыкновенная		
Голубика обыкновенная	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	100
	<i>Serratia grimesii</i> ,	99–100
	<i>Serratia proteamaculans</i>	99–100



**Рис. 1.** Филогенетическое положение доминирующих родов в бактериальных комплексах вересковых растений, культивируемых на селективных средах. Масштаб показывает эволюционное расстояние, соответствующее 2 нуклеотидным заменам на каждые 10000 нуклеотидов.

на подбеле, вид *Chryseobacterium soli* был ранее изолирован из почвы и описан корейскими исследователями (Weon et al., 2008).

Бактерии рода *Serratia* относятся к семейству *Enterobacteriaceae*, некоторые из них являются

условно патогенными бактериями. В то же время многие представители рода *Serratia* способны стимулировать рост растений, обладают антагонизмом по отношению к фитопатогенным грибам и могут уничтожать их за счет высокой хити-

**Таблица 3.** Таксономическое положение доминирующих в культивируемых бактериальных сообществах вересковых растений родов

Название рода	Семейство	Порядок	Класс
<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonadales</i>	<i>γ-Proteobacteria</i>
<i>Stenotrophomonas</i>	<i>Xanthomonadaceae</i>	<i>Xanthomonadales</i>	
<i>Serratia</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Enterobacteriales</i>	
<i>Chryseobacterium</i>	<i>Flavobacteriaceae</i>	<i>Flavobacteriales</i>	<i>Flavobacteria</i>

назной активности. Такие же свойства присущи видам *Serratia grimesii* и *S. proteamaculans* (Grimont et al., 1981; Madhuprakash et al., 2013), которые, как показано в настоящем исследовании, обитают на голубике.

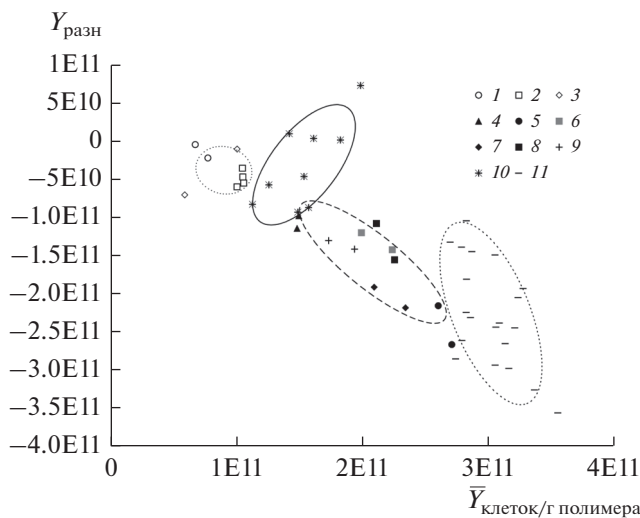
Бактерии вида *Pseudomonas viridiflava*, изолированные нами как экзофит багульника, были описаны как новый вид рода *Pseudomonas* в 1966 г. (Lelliot et al., 1966). Позже было установлено, что бактерии этого вида способны к образованию экомицинов – веществ, обладающих высокой антагонистической активностью по отношению к

широкому спектру патогенных грибов (Miller et al., 1998). Бактерии вида *Pseudomonas koreensis* (изолированные из черники) были впервые выделены из сельскохозяйственных почв Кореи и описаны как новый вид (Kwon et al., 2003).

Использование метода комплексного структурно-функционального анализа позволило установить, что бактерии, обитающие на всех исследуемых растениях, способны расти на разных полимерах. Следует отметить, что число потребляемых субстратов не является информативным параметром в отличие от коэффициентов  $\bar{Y}$  и  $Y_{\text{разн}}$ . Высокие значения  $Y$  свидетельствуют о высокой продуктивности сообщества и об эффективном усваивании того или иного полимера, низкие значения  $Y$  – о неподходящих условиях культивирования.

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

Величина показателя  $\bar{Y}$ , характеризующего физиологическое разнообразие гидролитического бактериального блока филлосферы, была существенно выше у вересковых растений, чем у мхов, растущих рядом (*Sphagnum magellanicum* Bird. и *Polytrichum strictum* Brid.). Физиологическое разнообразие бактерий на листьях багульника оказалось ниже, чем на других вересковых, по видимому, из-за экссудации листьями этого ку-



**Рис. 2.** Физиологическое разнообразие ( $\bar{Y}$ ) 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.

старничка бактерицидного эфирного масла ледола. Наиболее физиологически разнообразным оказалось гидролитическое сообщество филлосферы голубики. Что касается других видов вересковых растений, то на основании величин показателя  $\bar{Y}$ , можно констатировать, что они занимают промежуточное положение между голубикой и багульником (рис. 2).

Показатель  $Y_{\text{разн}}$ , характеризующий трофическую специализацию гидролитического бактериального блока, оказался ниже у подбела и голубики (рис. 2). Очевидно, у этих растений выше физиологическое разнообразие в блоке деструкторов легкодоступных полимеров. По сравнению с вересковыми, у мхов обнаружен олиготрофный и слабо специализированный характер бактериального блока из-за небольшого уровня выделения экссудатов листьями.

Таким образом, общая численность бактерий на вегетативных органах вересковых растений составляет миллиарды клеток на 1 г субстрата и сопоставима с таковой на сфагновых мхах. Численность эпифитно-сапротрофного комплекса бактерий достигала максимальных величин в филлосфере вересковых растений и была на 1–2 порядка выше, чем на сфагновых мхах. Анализ таксономического состава доминирующих на разных органах вересковых растений бактерий выявил их принадлежность к классам  $\gamma$ -*Proteobacteria* и *Flavobacteria*. На исследуемых растениях (кроме голубики) доминировали представители вида *Stenotrophomonas rhizophila*. В качестве второго доминанта на разных растениях были обнаружены представители родов *Pseudomonas*, *Serratia*, *Chryseobacterium*. В бактериальных спектрах вересковых растений и сфагновых мхов, растущих рядом, были обнаружены общие таксоны.

Обзор литературы по таксономии и экологии бактерий, выделенных из растений семейства вересковых, 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. Аналогичные функции были описаны для эндофитных бактерий сфагновых мхов (Щербаков и соавт., 2013). Физиологическое разнообразие гидролитического бактериального блока оказалось существенно выше у вересковых растений, чем у сфагновых мхов. Следует отметить еще 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, вересковые кустарнички, наряду со сфагновыми мхами, 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 стимулирования роста сельскохозяйственных растений.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-04-00452-а.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит материалов каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вомперский С.Э., Сирин А.А., Глухов А.И. Формирование и режим стока при гидрлесомелиорации. М.: Наука, 1988. 168 с.
- 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.
- Golovchenko A.V., Sannikova Ju.V., Dobrovolskaia T.G., Zviagintsev D.G. The saprotrophic bacterial complex in the raised peat bogs of Western Siberia // Microbiology (Moscow). 2005. V. 74. P. 471–476.
- Добровольская Т.Г., Головченко А.В., Звягинцев Д.Г., Инишева Л.И., Кураков А.В., Смагин А.В., Зенова Г.М., Лысак Л.В., Семенова Т.А., Степанов А.Л., Глушакова А.М., Початкова Т.Н., Кухаренко О.С., Качалкин А.В., Якушев А.В., Поздняков Л.А., Богданова О.Ю. Функционирование микробных комплексов верховых торфяников — анализ причин медленной деструкции торфа. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2013. 128 с.
- Добровольская Т.Г., Головченко А.В., Лысак Л.В. Бактериальные сообщества верховых торфяников // Материалы Всероссийской X школы молодых ученых с международным участием “Болота и биосфера”. Тверь: ООО “Наукоемкие технологии”, 2018. С. 31–37.
- 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.
- 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.

- Doroshenko E.V., Bulygina E.S., Spiridonova E.M., Turova T.P., Kravchenko I.K.* Isolation and characterization of nitrogen-fixing bacteria of the genus *Azospirillum* from the soil of a Sphagnum peat bog // *Microbiology (Moscow)*. 2007. V. 76. P. 93–101.
- 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.
- Kulichevskaya I.S., Belova S.E., Kevbrin V.V., Dedysh S.N., Zavarzin G.A.* Analysis of the bacterial community developing in the course of Sphagnum moss decomposition // *Microbiology (Moscow)*. 2007. V. 76. P. 621–629.
- Методы почвенной биохимии и микробиологии. М.: Изд-во Московского ун-та, 1991. 304 с.
- Определитель бактерий Берджи. М.: Мир, 1997. Т. 1, 2. 800 с.
- Панкратов Т.А., Белова С.Э., Дедыш С.Н.* Оценка филогенетического разнообразия прокариотных микроорганизмов в сфагновых болотах с использованием метода FISH // *Микробиология*. 2005. Т. 74. № 6. С. 831–837.
- Pankratov T.A., Belova S.E., Dedysh S.N.* Evaluation of the phylogenetic diversity of prokaryotic microorganisms in Sphagnum peat bogs by means of Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) // *Microbiology (Moscow)*. 2005. V. 74. P. 722–728.
- Щербakov 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.* Эндофитные бактерии сфагновых мхов как перспективные объекты сельскохозяйственной микробиологии // *Микробиология*. 2013. Т. 82. № 3. С. 312–322.
- Shcherbakov A.V., Bragina A.V., Kuzmina E. Yu., Berg Christian, Muntyan A.N., Makarova N.M., Malfanova N.V., Cardinale Massimiliano, Berg Gabriela, Chebota V.K., Tikhonovich I.A.* Endophytic bacteria of Sphagnum mosses as promising objects of agricultural microbiology // *Microbiology (Moscow)*. 2013. V. 82. P. 306–315.
- Якушев А.В.* Комплексный структурно-функциональный метод характеристики микробных популяций // *Почвоведение*. 2015. Т. 48. № 4. С. 429–446.
- Yakushev A.V.* Integral structural-functional method for characterizing microbial populations // *Euras. Soil Sci*. 2015. V. 48. P. 378–394.
- 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. P. 1318–1322.
- 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. V. 6. P. 802–813.
- Dake X.U., Xiuying X.I.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* // *Ann. Microbiol*. 2007. V. 57. P. 673–676.
- 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.
- 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.
- Lelliott R.A., Billing E., Hayward A.C.* A determinative scheme for fluorescent plant pathogenic bacteria // *J. Appl. Bacteriol*. 1966. V. 29. P. 470–478.
- 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. P. 166.
- 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 (Moscow)*. 2008. V. 77. P. 610–615.
- 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.
- Miller C.M., Miller R.V., Garton-Kenny D., Redgrave B., Sears J., Condron M.M., Teplow D.B., Strobel G.A.* Ecomycins, unique antimycotics from *Pseudomonas viridiflava* // *J. Appl. Microbiol*. 1998. V. 84. P. 937–944.
- 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. P. 2795–2809.
- Stępniewska Z., Goraj W., Kuźniar A., Łopacka N., Małyszka M.* Enrichment culture and identification of endophytic methanotrophs isolated from peatland plants // *Folia Microbiol*. 2017. V. 62. P. 381–391.
- 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* norn. rev. // *Int. J. Syst. Bacteriol*. 1994. V. 44. P. 827–831.
- 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.
- 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.
- 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. Art. 1187. P. 1–14.



## Abundance, Taxonomic Structure, and Functions of Bacterial Communities of Heather Plants in Ombrotrophic Bogs

T. G. Dobrovolskaya<sup>1,\*</sup>, A. V. Golovchenko<sup>1</sup>, E. N. Yurchenko<sup>1</sup>, A. V. Yakushev<sup>1</sup>,  
N. A. Manucharova<sup>1</sup>, and T. V. Glukhova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

<sup>2</sup>Institute of Forest Science, Russian Academy of Sciences, Uspenskoe, 143030 Russia

\*e-mail: dobrtata@mail.ru

Received December 12, 2018; revised April 15, 2019; accepted April 27, 2019

**Abstract**—Bacterial communities of the six *Ericaceae* bog plants were studied. The total number of bacteria on the vegetative organs of the *Ericaceae* plants was high and comparable to the one on *Sphagnum* mosses. Members of bacterial taxa colonizing both heather plants and *Sphagnum* mosses were identified. According to their 16S rRNA gene sequences, predominant bacteria of the epiphytic-saprotrophic complex were identified as *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Serratia*, and *Chryseobacterium* species. The physiological diversity of the hydrolytic bacterial complex was significantly higher in the *Ericaceae* plants than in the *Sphagnum* mosses. Analysis of the taxonomic position and functions of identified bacteria indicated that the studied bacteria studied were capable of stimulating the growth of plants inhabiting ombrotrophic bogs.

**Keywords:** ombrotrophic bog, *Ericaceae* plants, bacterial communities, abundance, taxonomical composition, ecological functions