

## БИОТЕХНОЛОГИЯ

УДК 631.46-576.8

doi: 10.17223/19988591/43/2

А.В. Головченко<sup>1</sup>, А.Л. Харлак<sup>1</sup>, Т.В. Глухова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт лесоведения РАН, с. Успенское, Одинцовский р-н,  
Московская область, Россия

### Оценка микробного пула растений верховых болот

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ  
в рамках научного проекта № 16-04-00452-а

*Исследование посвящено изучению численности и биомассы микроорганизмов на листьях, стеблях и корнях 6 растений: подбела обыкновенного, багульника болотного, шейхцерии болотной, пушицы влагалищной, осоки черной и росянки круглолистной, произрастающих на верховом болоте в Тверской области. Установлено, что на листьях и стеблях длина грибного мицелия варьировала от 56 до 566 м/г, численность спор и дрожжеподобных клеток – от 3 до 24 млн спор/г, бактерий – от 0,5 до 4 млрд клеток/г. На корнях растений численность спор и дрожжеподобных клеток оказалась ниже, чем на листьях и стеблях, а длина грибного мицелия и численность бактерий – выше. Микробная биомасса на вегетативных органах растений верховых болот составила 0,1–2 мг/г. В её структуре на листьях и стеблях доля бактерий достигала 36%, спор грибов и дрожжеподобных клеток – 60%, на корнях растений доминировал грибной мицелий. Максимальные показатели микробного обилия выявлены у осоки, минимальные – у росянки.*

**Ключевые слова:** верховые болота; растения; микроорганизмы; бактерии; микромицеты; численность; биомасса.

### Введение

До недавнего времени многие исследователи рассматривали развитие болотных экосистем как процесс эволюции их растительности, находящийся под влиянием климатических факторов. Однако современные исследования в области микробиологии болот говорят о высокой структурно-функциональной взаимосвязи между растениями и микроорганизмами и позволяют характеризовать болото как сложную растительно-микробную систему, в которой каждый компонент играет специфическую роль [1].

Растение представляет систему ниш для обширного микробного сообщества [2, 3]. Зоны филло- и ризосферы рассматривают как благоприятные

зоны для размножения микроорганизмов. Это связано с выделениями тканями листьев, стеблей, плодов и особенно корней разнообразных жидких и газообразных метаболитов, являющихся источниками питательных веществ и энергии для эпифитных микроорганизмов [4]. Эпифиты участвуют в процессах такого масштаба, как углеродный (перехват углеродных соединений, высвобождающихся непосредственно из растений [5]) и азотные циклы (нитрификация аммонийных загрязнителей, перехватываемых растениями [6]; фиксация азота [7]).

Микробные сообщества верховых болот изучены преимущественно в сфагновых мхах, их очёсах и торфянистых горизонтах [8–11], что закономерно, так как сфагновые мхи – основные торфообразователи верховых болот. Но, кроме мхов, на этих болотах растут уникальные по своим свойствам кустарнички и травянистые растения, приспособленные к выживанию в олиготрофных условиях. Экспериментально доказано, что в верховых торфяниках почти все растения, кроме сфагнума, разлагаются полностью или на  $\frac{3}{4}$  в течение 10 лет. Деструкция сфагнума (потеря массы) в реальном времени составляет лишь 10–20% в год [12].

Для выявления экологических функций микроорганизмов в различных биотопах необходимы показатели их обилия, разнообразия, жизнеспособности и активности. В литературе немногочисленны сведения о микробных сообществах сосудистых растений верховых болот. В основном они касаются определения таксономического состава бактерий [13–15], дрожжей [16], грибов [17]. Количественные показатели получены преимущественно методом посева [16, 18]. Этот метод незаменим для определения относительного обилия и таксономической принадлежности выделяемых на средах микроорганизмов, однако он не даёт представления о микробном пуле. Кроме того, сведения о мицелиальной составляющей грибных комплексов получить таким методом проблематично, так как известно, что колонии на агаризованных средах вырастают на 90% из грибных спор [19]. Люминесцентно-микроскопический метод [20] позволяет учитывать самые разнообразные, в том числе и некультивируемые формы микроорганизмов; даёт возможность определить структуру микробных комплексов (соотношение прокариотной и эукариотной составляющих) и морфологическую структуру грибного комплекса, так как осуществляется одновременный учёт мицелия и спор грибов.

Цель работы – определить численность и биомассу микроорганизмов в микролокусах, связанных с сосудистыми растениями верховых болот люминесцентно-микроскопическим методом.

### Материалы и методики исследования

Исследования проведены на постоянной пробной площади Западно-Двинского лесоболотного стационара Института лесоведения РАН в Тверской области (56°09'N, 32°10'W). Анализируемый участок представлен

сосняком кустарничково-пушицево-сфагновым на олиготрофной остаточ-но-эутрофной торфяной почве. В конце мая 2016 г. отобраны образцы 6 растений: подбела обыкновенного (*Andromeda polifolia* L.), багульника болотного (*Ledum palustre* L.), шейхцерии болотной (*Scheuchzeria palustris* L.), пушицы влагалищной (*Eriophorum vaginatum* L.), осоки черной (*Carex nigra* (L.) Reichard), росянки круглолистной (*Drosera rotundifolia* L.). Подбел обыкновенный и багульник болотный – представители древесных растений (вечнозелёных низкорослых кустарничков семейства Вересковые), шейхце-рия болотная, пушица влагалищная, осока черная, росянка круглолистная – представители травянистых растений. Данные виды растений выбраны для исследования, так как они входят в спектр типичных растений для верховых болот. Растения (по 10 экземпляров каждого) отобраны в четырех точках, удаленных друг от друга на расстоянии 50–100 м. Растения извлекали из растительного массива вручную с помощью стерильных перчаток, затем помещали в стерильный пластиковый пакет, который в тот же день в охлажденном виде доставляли в лабораторию для дальнейших исследований. Подготовку препаратов для люминесцентной микроскопии осуществляли в день отбора образцов. Общую численность и биомассу микроорганизмов определяли прямым методом с использованием люминесцентной микроскопии [20].

Анализировали вегетативные органы растений (листья, стебли, корни). Листья и стебли как надземные части растений здесь и далее называли фил-лосферой. Под термином «корни» мы имели в виду корни растений, извлеченные из верхней толщи верхового торфяника.

Для каждого органа растения готовили средний образец из растений од-ного вида. Отбирали из среднего образца навеску (10 г), которую помещали в колбу со 100 мл стерильной воды. Далее для десорбции клеток суспензию обрабатывали на ультразвуковом диспергаторе «Vandelin Sonopuls HD 2070» (Germany) в течение 2 мин при мощности 50%, затем разводили её в 10 раз.

Перед приготовлением препаратов колбу энергично встряхивали и су-спензию наносили микропипеткой на предметное стекло (0,01 мл – для уче-та бактериальных клеток; 0,02 мл – для учета длины грибного мицелия и численности грибных спор и дрожжеподобных клеток) и равномерно рас-пределяли петлей на площади 4 см<sup>2</sup> (на квадрате 2×2 см). При данной пло-щади на каждом предметном стекле можно приготовить 3 препарата. Для одного образца готовили 12 препаратов. Далее препараты высушивали на воздухе при комнатной температуре, а затем фиксировали легким нагрева-нием над пламенем газовой горелки. Для количественного учета бактерий препараты окрашивали раствором акридина оранжевого, для учета спор и мицелия грибов использовали калькофлуор белый. На предметные стекла наносили раствор красителей (1:10 000), равномерно распределяли и выдер-живали акридин оранжевый в течение 3 мин, калькофлуор белый – 10 мин. Избыток красителя удаляли в процессе промывки. Окрашенные препараты

высушивали при комнатной температуре. Далее препараты просматривали на люминесцентном микроскопе «ЛЮМАМ-ИЗ» (Россия) (светофильтры ЖС-19, ЖС-18, объектив  $\times 90$  Л, окуляры  $\times 4$  или  $\times 5$ ). Подсчет числа клеток бактерий на каждом препарате проводили в 20 полях зрения, споры и мицелий грибов – в 50 полях зрения.

Численность клеток бактерий в 1 г образца ( $N_B$ ) определяли по формуле [20]:

$$N_B = \frac{S_1 \times a \times n}{v \times S_2 \times c},$$

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

Длина грибного мицелия в 1 г образца (м) ( $L_{FM}$ )

$$L_{FM} = \frac{S_1 \times a \times n}{v \times S_2 \times c \times 10^6},$$

где  $S_1$  – площадь препарата ( $\text{мкм}^2$ );  $a$  – средняя длина обрывков грибного мицелия в поле зрения (мкм);  $n$  – показатель разведения суспензии (мл);  $v$  – объем капли, наносимой на стекло (мл);  $S_2$  – площадь поля зрения микроскопа ( $\text{мкм}^2$ );  $c$  – навеска образца (г).

Численность спор грибов в 1 г образца ( $N_{FS}$ ):

$$N_{FS} = \frac{S_1 \times a \times n}{v \times S_2 \times c},$$

где  $S_1$  – площадь препарата ( $\text{мкм}^2$ );  $a$  – среднее число спор грибов в поле зрения;  $n$  – показатель разведения суспензии (мл);  $v$  – объем капли, наносимой на стекло (мл);  $S_2$  – площадь поля зрения микроскопа ( $\text{мкм}^2$ );  $c$  – навеска образца (г).

Для расчёта микробной биомассы принимали во внимание, что удельная масса (плотность) микроорганизмов равна  $1 \text{ г/см}^3$ , содержание воды в клетках – 80%, содержание сухой массы клетки – 20%.

Биомассу бактерий ( $B_B$ ) рассчитывали по формуле

$$B_B = N_B \times 2 \times 10^{-14} \text{ (г)},$$

где  $N_B$  – численность бактерий в 1 г образца, а биомасса сухого вещества для 1 бактериальной клетки объемом  $0,1 \text{ мкм}^3$  составляет  $2 \times 10^{-14} \text{ г}$  [21].

Биомасса грибного мицелия ( $B_{FM}$ )

$$B_{FM} = 0,628 \times r^2 \times L_{FM} \times 10^{-6} \text{ (г)},$$

где  $r$  – замеренный усредненный радиус обрывков грибного мицелия,  $L_{FM}$  – длина грибного мицелия в 1 г образца [22].

Биомасса спор грибов ( $B_{FS}$ ):

$$B_{FS} = 0,0836 \times r^3 \times N_{FS} \times 10^{-11} \text{ (г)},$$

где  $r$  – замеренный усредненный радиус спор грибов,  $N_{FS}$  – численность спор грибов в 1 г образца [22].

Статистическая обработка результатов и анализ полученных данных выполнены с использованием программ Microsoft Excel 7.0 и StatSoft STATISTICA 6.0. Данные представлены в виде средних значений с доверительными интервалами. Статистическая значимость различий определялась по Стьюденту ( $p < 0,05$ ). Графики построены в программе Microsoft Excel 7.0.

### Результаты исследования и обсуждение

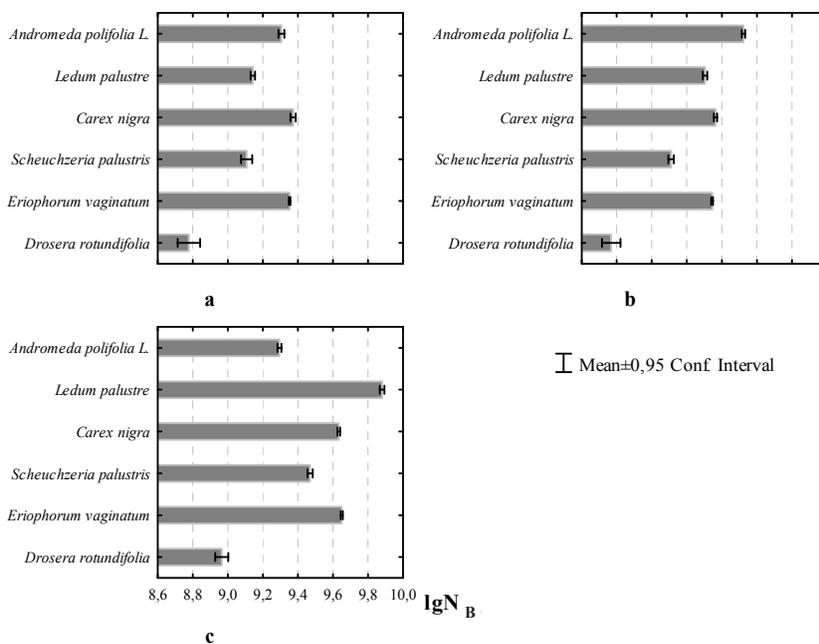
Анализ состояния системы по показателям микробного обилия представляет самостоятельный интерес в экологии микроорганизмов. Общий количественный учёт остаётся важным способом изучения микроорганизмов в природных средах [23].

Бактерии являются самыми многочисленными колонистами филлосферы. Численность популяций бактерий филлосферы варьирует от  $10^6$  до  $10^7$  клеток/см<sup>2</sup> (до  $10^8$  клеток/г) субстрата и определяется доступностью влаги и питательных веществ, источником которых служат экссудаты растения [4, 24]. Бактерии, ассоциированные с высшими растениями, способны стимулировать их рост и развитие за счет синтеза необходимых для растения фитогормонов и витаминов, фиксации молекулярного азота, а также призваны подавлять развитие бактериальных и грибных заболеваний [1].

Численность бактерий на листьях исследуемых растений в начале вегетации варьировала от 0,5 до 3,5 млрд клеток/г; на стеблях – от 0,8 до 4,2 млрд клеток/г. На листьях и стеблях численность бактериальных клеток достигала максимальных значений сразу на трёх растениях: подбеле, осоке и пушице. Далее в порядке убывания (численность бактерий в 2 раза меньше, чем у первых трёх растений) следовали багульник и пушица (рис. 1). Следует отметить, что с живыми растениями, метаболитами которых питаются бактерии, либо с начальными этапами деструкции растительных остатков наиболее тесно связан класс протеобактерий, представленный  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -подклассами. Гидролиз мертвых растительных остатков осуществляется группой бактерий, относящихся к ветви грамположительных прокариот. Все они обладают, в отличие от класса протеобактерий, гидролазами, благодаря которым осуществляется деструкция сложных растительных полимеров [25].

Корни растений служат для поглощения элементов минерального питания и воды, необходимых для роста растений. Кроме того, они выделяют широкий спектр органических соединений, поступающих в ризосферу растений, где осуществляется активная микробная деятельность. Дополнительным источником питания для ризосферных микроорганизмов является муцигель – углеводный полимер, включающий целлюлозу и пектиновые вещества [25]. На корнях исследуемых растений средние показатели численности бактерий, рассчитанные для всех растений, оказались в 2 раза выше, чем на листьях и стеблях. На корнях багульника выявляли максимальную численность бактериальных клеток –  $7,5 \pm 0,2$  млрд клеток/г. Далее в поряд-

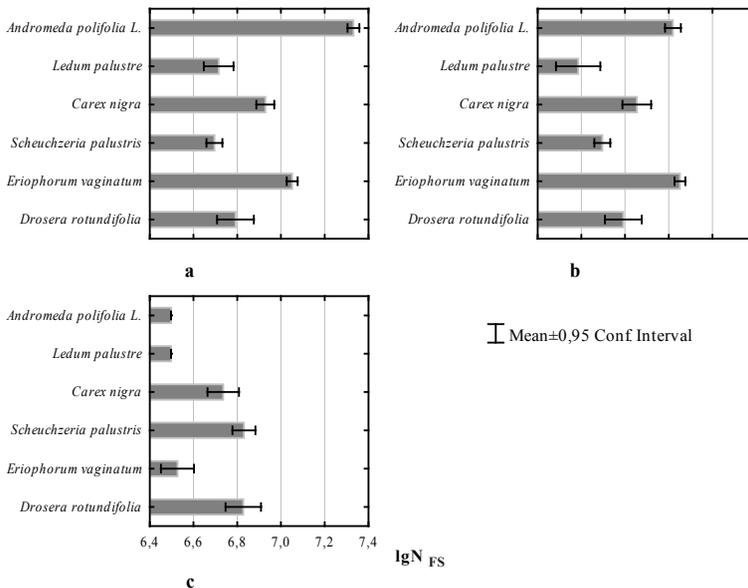
ке убывания следовали осока и пушица (с численностью 4 млрд клеток/г), шейхерия (3 млрд клеток/г), подбел (2 млрд клеток/г) и росянка (1 млрд клеток/г). Таким образом, численность бактерий на корнях растений в начале вегетации различалась в 2–7 раз.



**Рис. 1.** Численность бактериальных клеток ( $N_B$ ) на вегетативных органах растений верховых болот: *a* – листья; *b* – стебли; *c* – корни.  $N_B$  – клеток  $\text{г}^{-1}$   
**[Fig. 1.** Number of bacterial cells ( $N_B$ ) on vegetative organs of raised bog plants: *a* - Leaves; *b* - Stems; *c* - Roots. On the X-axis –  $N_B$ , cells  $\text{g}^{-1}$ ; on the Y-axis - Plant species]

Филлосфера считается средой обитания, которую активно заселяют быстроспорирующие виды грибов и дрожжи [4]. Основные функции эпифитных дрожжей, развивающихся на живых частях растений, – «подбирание» прижизненных выделений растений (эккриотрофия) и «запуск» сукцессий при разложении растительных остатков [26]. При исследовании образцов люминесцентно-микроскопическим методом трудно отличить грибные споры от дрожжеподобных клеток, поэтому здесь и далее речь будет идти об их суммарном показателе. Численность спор и дрожжеподобных клеток в филлосфере исследуемых растений варьировала от 3 до 24 млн спор/г субстрата. Листья и стебли анализируемых растений характеризовались близкими абсолютными значениями этого показателя обилия. Одинаковыми для листьев и стеблей оказались ряды растений, выстроенные в порядке убывания численности спор и дрожжеподобных клеток. Максимальную числен-

ность спор грибов и дрожжеподобных клеток обнаруживали на подбеле и пушице. Далее в порядке убывания численности следовали осока, росянка и шейхцерия. Листья и стебли багульника характеризовались минимальной численностью, которая составила 4–5 млн спор/г субстрата (рис. 2).



**Рис. 2.** Численность грибных спор и дрожжеподобных клеток ( $N_{FS}$ ) на вегетативных органах растений верховых болот: *a* – листья; *b* – стебли; *c* – корни.  $N_{FS}$  – спор  $г^{-1}$  [Fig. 2 Number of fungal spores and yeast-like cells ( $N_{FS}$ ) on vegetative organs of raised bog plants: *a* - Leaves; *b* - Stems; *c* - Roots. On the X-axis -  $N_{FS}$ , спор  $г^{-1}$ ; on the Y-axis - Plant species]

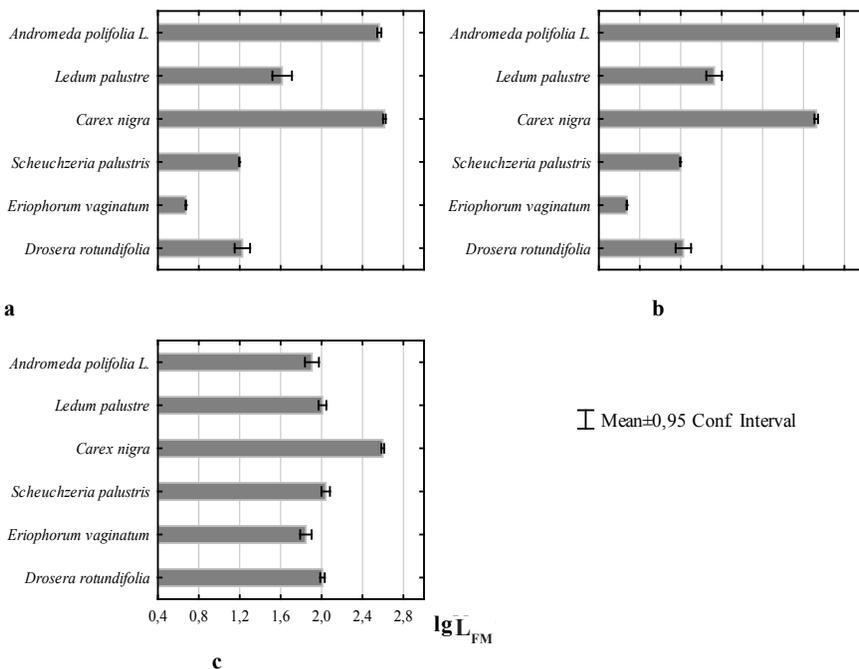
Анализ видового состава эпифитных дрожжей болотных растений показал, что доминирующие виды на сосудистых растениях и на сфагновых мхах оказались одинаковыми. В среднем около 50% выделенных из растений видов приходилось на *Rhodotorula mucilaginosa* и *Cryptococcus magnus*. Отличия в дрожжевом сообществе между сосудистыми растениями и сфагновыми мхами проявляются в основном на уровне минорных компонентов, обилие каждого из которых редко превышает 5% [16].

Численность спор и дрожжеподобных клеток на корнях растений оказалась ниже, чем на листьях и стеблях (см. рис. 2), что закономерно, так как на корнях растений и в почве под ними главная роль в деструкции растительных полимеров принадлежит мицелиальным грибам с активной гидролитической активностью, а дрожжевые грибы функционируют как микрофлора рассеяния за счет роста на вторичных продуктах метаболизма мицелиальных грибов [9, 16]. Исследуемые растения по этому показателю обилия можно разделить на две группы. В первую группу попадают кустар-

нички, на корнях которых выявляли минимальные значения численности спор и дрожжеподобных клеток (не более 3 млн спор/г субстрата). Во вторую группу вошли представители травянистых растений, на корнях которых численность спор и дрожжеподобных клеток в 2 раза превосходила таковую в первой группе.

Филлосфера является транзитной нишей и для грибного мицелия. Его передвижение, как и передвижение бактерий, спор грибов и дрожжеподобных клеток в филлосфере, осуществляется переносом микроорганизмов влагой, ветром и насекомыми. Длина грибного мицелия в филлосфере исследуемых растений в начале вегетации варьировала на листьях от 36 до 424 м/г; на стеблях – от 36 до 566 м/г. Для листьев и стеблей максимальные показатели грибного мицелия выявляли на подбеле и осоке, далее в порядке убывания следовали багульник, шейхцерия, росянка и пушица. Грибной мицелий обнаруживали в листовом опаде подбела и осоки, его длина в 2–3 раза превосходила таковую на живых листьях. В работе Н.В. Филипповой [17] приведены описание видового состава микромицетных сообществ и оценка обилия видов в растительном опаде 12 растений верховых болот. Образец опада каждого растения (около 100 г) изучали в лаборатории под лупой при увеличении 8–50 раз. Самый богатый видовой состав грибов отмечен на подбеле обыкновенном (39 видов). Большая часть видов представлена сапротрофами, из них 5 видов характеризуются в качестве факультативных паразитов, один вид паразитирует на живых растениях. Количество выделенных видов из опада багульника – 31, пушицы, шейхцерии и осоки – 15–18, росянки – 9. Таким образом, подбел характеризуется не только высокой плотностью грибного мицелия, но и высоким видовым разнообразием. Росянка – растение, для которого выявлены низкие показатели обилия и видового разнообразия.

Корни болотных растений имеют свои особенности, обусловленные специфичностью среды, в которой они существуют. В связи с избыточным увлажнением и анаэробными условиями большей части профиля торфяника корневые системы болотных растений расположены в поверхностных слоях и имеют преимущественно горизонтальное протяжение. С дефицитом кислорода связано развитие в корнях и корневищах болотных растений (особенно трав) системы воздушных ходов, полостей, в которые путем диффузии воздух поступает из надземных частей, что создаёт благоприятные условия для развития грибного мицелия в этих микролокусах. Длина грибного мицелия на корнях исследуемых растений варьировала от 63 до 396 м/г и для большинства из анализируемых растений характеризовалась значениями одного порядка, кроме осоки, на которой она достигала 396 м/г, что в 4 раза выше, чем на остальных растениях (рис. 3).



**Рис. 3.** Длина грибного мицелия ( $L_{FM}$ ) на вегетативных органах растений верховых болот: *a* – листья; *b* – стебли; *c* – корни.  $L_{FM}$  –  $m \times g^{-1}$   
**[Fig. 3.** Length of fungal mycelium ( $L_{FM}$ ) on vegetative organs of raised bog plants: *a* - Leaves; *b* - Stems; *c* - Roots. On the X-axis -  $L_{FM}$ ,  $m \times g^{-1}$ ; on the Y-axis - Plant species]

Полученные данные по численности микроорганизмов проанализировали с помощью факторного дисперсионного анализа (табл. 1). Рассматривали влияние на численность бактерий и грибов двух факторов: первый фактор – это вид растения (подбел, багульник, осока, шейхцерия, пушица и росянка), второй фактор – вегетативный орган растения (листья, стебли, корни).

Двухфакторный дисперсионный анализ выявил статистически значимое ( $p < 0,001$ ) влияние на численность микроорганизмов как вида, так и органа растения (см. табл. 1). Степень влияния факторов на показатели обилия грибного мицелия и спор грибов оказалась не равнозначной. Длину грибного мицелия в большей степени определял вид растения. Плотность грибного мицелия на исследуемых растениях различалась в 2–7 раз. Максимальные показатели обилия грибного мицелия выявлены для осоки и подбела, минимальные – для шейхцерии и росянки. Численность спор и дрожжеподобных клеток в большей степени зависела от органа растения. Показатели обилия этой группы на стеблях и листьях в 2 раза превосходили таковые на корнях растений.

Численность бактерий в равной степени зависела от вида и органа растения (см. табл. 1). Багульник, осока и пушица – растения с высокой плот-

ностью бактериального заселения; росянка – с низкой. При сравнении численности бактерий на разных органах исследуемых растений показано, что на корнях растений она в среднем в 2 раза выше, чем на листьях и стеблях.

Таблица 1 [Table 1]

**Влияние факторов на численность различных групп микроорганизмов в образцах растений верховых болот (по результатам двухфакторного дисперсионного анализа)**  
**[Impact of various factors on the number of microbial groups in the samples of raised bog plants (based on two-factor variance analysis)]**

Варьирование по градациям факторов* [Variation by gradation of factors*]	Число степеней свободы [Degrees of freedom number]	Дисперсия [Dispersion]	Критерий Фишера [Fisher criterion]	Уровень значимости [Significance level]
Грибной мицелий [Fungal mycelium]				
1	5	30,02	3154,20	<0,001
2	2	4,23	1080,10	
12	10	9,69	495,50	
Остаточное [Residual]	90	0,17		
Споры грибов и дрожжеподобные клетки [Fungal spores and yeast-like cells]				
1	5	1,32	86,60	<0,001
2	2	1,33	216,82	
12	10	2,23	73,43	
Остаточное [Residual]	90	0,27		
Бактерии [Bacteria]				
1	5	5,26	1877,60	<0,001
2	2	1,89	1689,83	
12	10	1,42	254,13	
Остаточное [Residual]	90	0,05		

*Примечание [Note]:* 1 – вид растения [Plant species] (*Andromeda polifolia* L., *Ledum palustre* L., *Carex nigra* (L.) Reichard, *Scheuchzeria palustris* L., *Eriophorum vaginatum* L., *Drosera rotundifolia* L.); 2 – вегетативный орган растения (листья, стебли, корни) [Vegetative plant organ (leaves, stems, roots)]; 12 – совместное влияние первого и второго факторов [Combined effect of the first and the second factors].

Эпифитные микроорганизмы являются эккрисотрофами, т.е. используют в качестве источника питания растительные эксудаты. Из этого следует, что количество микроорганизмов в филлоплане определяется растением-хозяином. Микробная биомасса в филлосфере исследуемых растений варьировала от 0,10 до 1,6 мг/г субстрата. Листья и стебли большинства растений характеризовались близкими значениями микробной биомассы (табл. 2). Максимальные значения микробной биомассы выявляли в филлосфере подбела – представителя древесных растений и в филлосфере осоки – представителя травянистых растений. В филлосфере росянки и шейхцерии значения микробной биомассы оказались на порядок ниже, чем в филлосфере подбела и осоки, и составили 0,10 мг/г субстрата. Багульник и пушица занимали промежуточное положение.

Диапазон значений микробной биомассы на корнях анализируемых растений – от 0,2 до 1,1 мг/г субстрата (см. табл. 2). Корни большинства из исследуемых растений имели значения микробной биомассы одного порядка и различались не более чем в 2 раза, за исключением осоки, на корнях которой биомасса микроорганизмов в 3–5 раз превышала таковую на остальных растениях. Следует отметить, что микробная биомасса на корнях растений в целом превосходила таковую на листьях и стеблях (см. табл. 2).

Ассоциативная микрофлора растения благодаря переносу её влагой, ветром, насекомыми попадает в почву, пополняя собственно почвенную микробную группировку. Почва под растениями оказалась субстратом, в котором доли микробной биомассы достигают максимальных значений для всех анализируемых растений (см. табл. 2).

Таблица 2 [Table 2]

**Микробная биомасса (мг×г<sup>-1</sup>) на вегетативных органах растений  
верховых болот и в почве под растениями**  
[Microbial biomass (mg×g<sup>-1</sup>) on vegetative organs of raised bog plants and in the soil beneath them]

Растение [Plant]	Вегетативный орган растения [Plant vegetative organ]			Почва под растениями [Soil beneath plants]
	Листья [Leaves]	Стебли [Stems]	Корни [Roots]	
<i>Andromeda polifolia</i> L.	0,69±0,04	1,57±0,02	0,26±0,02	2,04±0,02
<i>Ledum palustre</i> L.	0,17±0,02	0,16±0,02	0,39±0,03	1,53±0,04
<i>Carex nigra</i> (L.) Reichard	1,16±0,05	0,94±0,06	1,12±0,05	2,41±0,04
<i>Scheuchzeria palustris</i> L.	0,10±0,02	0,10±0,02	0,37±0,02	0,60±0,02
<i>Eriophorum vaginatum</i> L.	0,13±0,02	0,13±0,02	0,21±0,04	2,40±0,02
<i>Drosera rotundifolia</i> L.	0,10±0,02	0,10±0,03	0,33±0,02	1,16±0,03

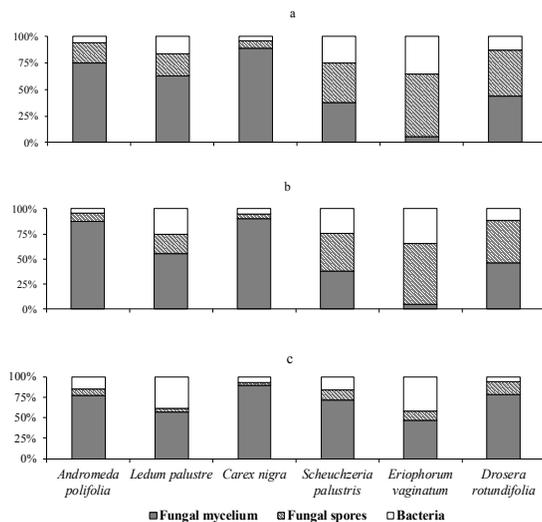
*Примечание.* Данные представлены в виде средних значений с доверительными интервалами.

[Note. The data are presented as mean values with confidence intervals].

В филлосфере растений в структуре микробной биомассы доминировала грибная составляющая (64–96% от суммарной микробной биомассы) (рис. 4). На долю бактериальной составляющей приходилось 4–36%. Для филлосферы исследуемых растений отличительной особенностью структуры микробной биомассы является высокая доля грибных спор и дрожжеподобных клеток. Так, в филлосфере шейхцерии, пушицы и росянки она достигала 37–60%. Высокий процент этой группы скорее всего достигается за счёт дрожжеподобных клеток, активных колонизаторов филлосферы. Однако в филлосфере таких растений, как осока и подбел, грибной компонент представлен преимущественно мицелием, а не спорами (рис. 4).

На корнях большинства из проанализированных растений в структуре микробной биомассы доминирует грибной компонент, представленный мицелием. Доля спор грибов не превышает 16%, а в среднем составляет 8%. Только на корнях багульника и пушицы грибная составляющая сопоставима с бактериальной (см. рис. 4).

Анализируемые растения можно разделить на две группы, резко различающиеся по структуре микробной биомассы. К первой группе следует отнести подбел и осоку, на вегетативных органах которых в структуре микробной биомассы преобладает грибной мицелий. Во вторую группу попадают растения (пушица и шейхцерия), на вегетативных органах которых высока доля спор грибов и бактерий. Остальные растения занимают промежуточное положение между этими двумя группами.



**Рис. 4.** Структура микробной биомассы на вегетативных органах растений верховых болот: *a* – листья; *b* – стебли; *c* – корни

[**Fig. 4.** Microbial biomass structure on vegetative organs of raised bog plants: *a* - Leaves; *b* - Stems; *c* - Roots. On the X-axis - Plant species; on the Y-axis - Relative number of groups]

В почве под анализируемыми растениями в структуре микробной биомассы доминирует мицелий, его доля в суммарной микробной биомассе достигает максимальных величин – 92%; на долю бактерий приходится в среднем 5%, спор грибов – 3%.

Сравнительный анализ травянистых растений верховых болот показал, что осока оказалась растением, на вегетативных органах которого зафиксированы максимальные показатели обилия большинства из анализируемых нами групп микроорганизмов. Известно, что наличие особой ткани (аэренхимы), свойственной осокам, способствует поступлению кислорода из неё, что приводит к более интенсивному окислению метана [27, 28]. Дополнительный приток кислорода при дефиците его уже в верхней толще верхового торфяника, как показали наши исследования, благоприятно сказывается и для других членов микробного сообщества.

Подбел и багульник, представители кустарничков, отличались показателями обилия микроорганизмов в филлосфере и корневой зоне. Максималь-

ные показатели обилия грибов и бактерий выявляли для подбела в филлосфере, для багульника – в корневой зоне. Подбел, в отличие от багульника, не имеет физиологической особенности, заключающейся в повышенной выработке эфирных масел на поверхностях листьев и стеблей, что благоприятно сказывается на численности микроорганизмов в его филлосфере. Багульник, в отличие от подбела, характеризуется хорошо выраженной эндомикоризой. Она улучшает водно-минеральное питание и тем самым создаёт благоприятные условия для развития микроорганизмов, что сказывается на их численности в корневой зоне.

Низкие показатели обилия микроорганизмов, выявленные для росянки, могут быть связаны с обнаружением в листьях и корнях этого растения соединения класса нафтохинонов – плюмбагина, который обладает антимутагенным и антиоксидантным действием на дрожжи, грибы и отдельные группы бактерий [29]. Кроме того, выявлена обратная зависимость между численностью эпифитных микроорганизмов растения и его антимикробной активностью. Высокофитонцидные растения (лук, тополь, рябинник) характеризовались низкой численностью эпифитов, малофитонцидные растения, такие как борщевик, смородина, малина, – высокой [30]. Низкие значения микробной биомассы на росянке, очевидно, обусловлены избирательностью действия антимикробных веществ на отдельные группы микроорганизмов.

Для функционирования любой экосистемы, определяемой взаимоотношениями автотрофного продуцента – растения – с микробными сообществами – редуцентами, необходимы все экологические группировки микроорганизмов, так как устойчивое сообщество должно быть полифункциональным. На поверхности сосудистых растений микроорганизмы существуют в основном как копитрофы, т.е. за счет потребления легкодоступных соединений углерода. Набор этих легкодоступных соединений у сосудистых растений верховых болот и у мхов различен. У мхов он смещён сторону органических кислот, значительная часть которых представлена рядом ароматических соединений [16]. Остатки болотных растений, попадая в сфагновую дернину, начинают разлагаться с различной скоростью. Разложение растительного вещества в болотных экосистемах определяется видом растения, фракцией и химическим составом самого растения. Скорость деструкции уменьшается в ряду: зеленые листья трав и кустарничков (50–86%), корни осок и разнотравья (30–40%), ветошь и опавшие листья трав и кустарничков (20–40%), корни кустарничков (20–40%), сфагновые мхи (7–15% потери массы за год) [31]. Бактерии гидролитического комплекса и дрожжи принимают активное участие в разложении растительного опада на начальных стадиях. На дальнейших этапах сукцессии главная роль принадлежит мицелиальным грибам с высокой гидролитической активностью, а другие микроорганизмы функционируют как микрофлора рассеяния за счет роста на вторичных продуктах метаболизма грибов [32].

### Заключение

На исследуемых растениях в начале вегетации люминесцентно-микроскопическим методом удалось обнаружить грибы, дрожжеподобные клетки, бактерии. Грибы представлены как мицелием, так и спорами. Численность микроорганизмов, как показал двухфакторный дисперсионный анализ, определялась видом растения и его вегетативным органом. Максимальные показатели обилия большинства учитываемых групп микроорганизмов выявлены для осоки, минимальные – для росянки. Микробная биомасса на вегетативных органах растений верховых болот варьировала от 0,10 до 2 мг/г. На листьях и стеблях в структуре микробной биомассы оказались высокими доли бактерий, спор грибов и дрожжеподобных клеток, на корнях растений доминировал грибной мицелий. Почва под исследуемыми растениями оказалась субстратом, в котором насыщенность микробными группировками выше на вегетативных органах растения.

### Литература

1. Щербаков А.В., Брагина А.В., Кузьмина В.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.
2. Тец В.В. Пангеном // Цитология. 2003. Т. 45, № 5. С. 526–531.
3. Saito A., Ikeda S., Ezura H., Minamisawa K. Microbial community analysis of the phytosphere using culture-independent methodologies // Microbes and Environments. 2007. Vol. 22, № 2. PP. 93–105.
4. Andrews J.H., Harris R.F. The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces // Annu. Rev. Phytopathol. 2000. № 38. PP. 145–180.
5. Stadler B., Michalzik B., Mueller T. Linking aphid ecology with nutrient fluxes in a coniferous forest // Ecology. 1998. № 79. PP. 1514–1525.
6. Papen H., Gessler A., Zumbusch E., Rennenberg H. Chemolithoautotrophic nitrifiers in the phyllosphere of a spruce ecosystem receiving high atmospheric nitrogen input // Curr. Microbiol. 2002. № 44. PP. 56–60.
7. Freiberg E. Microclimatic parameters influencing nitrogen fixation in the phyllosphere in a Costa Rican premontane rain forest // Oecologia (Berlin). 1998. № 117. PP. 9–18.
8. Головченко А.В., Добровольская Т.Г., Звягинцев Д.Г. Микробиологические основы оценки торфяника как профильного почвенного тела // Вестник ТГПУ. Сер. Биол. науки. 2008. № 4 (78). С. 46–53.
9. Головченко А.В., Кураков А.В., Семёнова Т.А., Звягинцев Д.Г. Обилие, разнообразие, жизнеспособность и факторная экология грибов в торфяниках // Почвоведение. 2013. № 1. С. 80–97.
10. 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.
11. Качалкин А.В., Глушакова А.М., Юрков А.М., Чернов И.Ю. Особенности дрожжевых группировок в филлосфере сфагновых мхов // Микробиология. 2008. Т. 77, № 4. С. 533–541.

12. Ефимов В.Н. Торфяные почвы и их плодородие. Л. : Агропромиздат, 1986. 269 с.
13. 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. Vol. 287. PP. 199–207.
14. Stępniewska Z., Goraj W., Kuźniar A., Łopacka N., Małyśza M. Enrichment culture and identification of endophytic methanotrophs isolated from peatland plants // *Folia Microbiol*. 2017. Vol. 62. PP. 381–391.
15. Dake XU, Xiuying XIA, Na XU, Lijia AN. Isolation and identification of a novel endophytic bacterial strain with antifungal activity from the wild blueberry *Vaccinium uliginosum* // *Annals of Microbiology*. 2007. Vol. 57, № 4. PP. 673–676.
16. Качалкин А.В., Глушакова А.М., Чернов И.Ю. Специфичность эпифитных дрожжевых сообществ торфяно-болотных почв // Доклады по экологическому почвоведению. 2009. Т. 2, № 12. С. 20–36.
17. Филиппова Н.В. К изучению сообществ грибов верховых болот таежной зоны Западной Сибири: 2. Микромицеты на опаде болотных растений // *Микология и фитопатология*. 2015. Т. 49, № 3. С. 164–172.
18. Thormann M.N., Bayley S.E., Currah R.S. Microcosm tests of the effects of temperature and microbial species number on the decomposition of *Carex aquatilis* and *Sphagnum fuscum* litter from southern boreal peatlands // *Can. J. Microbiol*. 2004. Vol. 50. PP. 793–802.
19. Wainwright M. Origin of fungal colonies on dilution and soil plates determining using nonanoic acid // *Trans. Brit. Soc*. 1989. Vol. 79, № 1. PP. 178–179.
20. Методы почвенной биохимии и микробиологии / под ред. Д.Г. Звягинцева. М. : Изд-во Московского университета, 1991. 304 с.
21. Кожевин П.А., Полянская Л.М., Звягинцев Д.Г. Динамика развития различных микроорганизмов в почве // *Микробиология*. 1979. Т. 48, № 4. С. 490–494.
22. Полянская Л.М., Головченко А.В., Звягинцев Д.Г. Микробная биомасса в почвах // Доклады Академии наук. 1995. Т. 344, № 6. С. 846–848.
23. Saito A., Ikeda S., Ezura H., Minamisawa K. Microbial Community Analysis of the Phytosphere Using Culture-Independent Methodologies // *Microbes and Environments*. 2007. Vol. 22, № 2. PP. 93–105.
24. Beattie G.A., Lindow S.E. The secret life of foliar bacterial pathogens on leaves // *Annu. Rev. Phytopathol*. 2005. № 33. PP. 145–172.
25. Звягинцев Д.Г., Добровольская Т.Г., Лысак Л.В. Растения как центры формирования бактериальных сообществ // *Журнал общей биологии*. 1993. Т. 54, № 2. С. 183–200.
26. Бабьева И.П., Чернов И.Ю. Биология дрожжей. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2004. С. 102–104.
27. Мигловец М.Н., Загирова С.В., Михайлов О.А. Эмиссия метана в растительных сообществах мезоолиготрофного болота средней тайги // *Теоретическая и прикладная экология*. 2014. № 1. С. 93–98.
28. Saarnio S., Wittenmayer L., Merbach W. Rhizospheric exudation of *Eriophorum vaginatum* L. – potential link to methanogenesis // *Plant and Soil*. 2004. № 267. PP. 343–355.
29. Kumar S., Gautam S., Sharma A. Antimutagenic and antioxidant properties of plumbagin and other naphthoquinones // *Mutation Research / Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2013. Vol. 755, № 1. PP. 30–41.
30. Вернер А.Р. О связи между фитонцидной активностью и эпифитной микрофлорой растений // *Фитонциды в народном хозяйстве*. Киев : Наукова думка, 1964. С. 56–58.
31. Косых Н.П., Миронычева-Токарева Н.П., Паршина Е.К. Бюджет химических элементов в болотных экосистемах средней тайги Западной Сибири // *Динамика окружающей среды и глобальное изменение климата*. 2010. Т. 1, № 1. С. 85–95.
32. 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., Поздняков Л.А., Богданова О.Ю. Функционирование микробных комплексов верховых торфяников – анализ причин медленной деструкции торфа. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2013. 128 с.

Поступила в редакцию 11.01.2018 г.; повторно 25.04.2018 г.; принята 15.08.2018 г.; опубликована 12.10.2018 г.

**Авторский коллектив:**

**Головченко Алла Владимировна** – канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории почвенной микробиологии кафедры биологии почв факультета почвоведения Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (Россия, 119991, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1).

E-mail: [golovchenko.alla@gmail.com](mailto:golovchenko.alla@gmail.com)

**Харлак Ангелина Леонидовна** – бакалавр 4-го курса факультета почвоведения Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (Россия, 119991, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, 1).

E-mail: [angelina.harlak@yandex.ru](mailto:angelina.harlak@yandex.ru)

**Глухова Тамара Владимировна** – канд. биол. наук, в.н.с. лаборатории лесного болотоведения и мелиорации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института лесоведения Российской академии наук (Россия, 143030, Московская обл., Одинцовский р-н, с. Успенское, ул. Советская, 21).

E-mail: [glutam@mail.ru](mailto:glutam@mail.ru)

**For citation:** Golovchenko AV, Harlak AL, Gluhova TV. Assessment of the microbial pool of raised bog plants. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2018;43:25-43. doi: 10.17223/19988591/43/2. In Russian, English Summary

**Alla V. Golovchenko<sup>1</sup>, Angelina L. Harlak<sup>1</sup>, Tamara V. Gluhova<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *MV Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation*

<sup>2</sup> *Institute of Forest Science, Russian Academy of Sciences, Uspenskoe, Odintsovsky District, Moscow oblast, Russian Federation*

### **Assessment of the microbial pool of raised bog plants**

Microbial communities of raised bogs were mainly examined in Sphagnum moss and peaty layers. Such choice is understandable and can be explained by the fact that Sphagnum moss plays an essential role in raised bogs' peat accumulating. Raised bogs are rich in unique prostrate shrubs and herbaceous plants that are more adapted to survival in oligotrophic conditions. These plant species have their own specificities and decomposition rate that differs from Sphagnum. The major aim of this work was to assess raised bogs' prostrate shrubs and herbaceous plants' microbial pool.

In spring 2016, we took six samples of bog plants in a pine forest: two prostrate shrub species, namely *Andromeda polifolia* L., *Ledum palustre* L. and four herbaceous plants: *Scheuchzeria palustris* L., *Eriophorum vaginatum* L., *Carex nigra* (L.) Reichard and *Drosera rotundifolia* L. These plant samples (10 units of each plant) were taken at four sites spread at a distance from 50 to 100 meters. We analyzed vegetative organs, such as leaves, stems and roots. An average sample was prepared for each vegetative organ of all analyzed species. A weight sample of 10 grams was taken from the average sample and put into a 100-ml flask with sterile water. Samples were processed in ultrasonic disperser 'Bandelin Sonopuls HD 2017' (Germany) for 2 minutes at a 50% power and then diluted 10 times. The resultant suspension was put on a microscope

slide by a micropipette (0.01 ml for accounting of bacterial cells; 0.02 ml for accounting of fungal mycelium length and the number of fungal spores and yeast-like cells) and was distributed evenly on the area of 4 m<sup>2</sup>. 12 specimens were prepared for each sample. Specimens were then dried at room temperature and then fixed by light heating on a gas-burner flame. In order to conduct bacteria quantitative calculation, microscope slides were stained by acridine orange solution (1:10000; exposure time was 3 minutes). Calcofluor white was used to calculate fungal spores and mycelium (1:10000; exposure time was 10 minutes). Stained specimens were examined using 'LYUMAM-IZ' (Russia) luminescent microscope (optical filters ZHS-19, ZHS-18, × 90 L lens, × 4 or × 5 eyepieces). 20 microscope fields of view were analyzed in order to calculate the number of bacterial cells on each specimen, and 50 were analyzed to make an account of fungal spores and mycelia.

Fungi, bacteria and yeast-like cells were detected in examined plants. We found both fungal spores and fungal mycelium. Plant species as well as its vegetative part determined microbial population density (See Table 1). The fungal mycelium length on examined plants' leaves and stems varied from 56 to 566 m/g, the number of spores and yeast-like cells varied from 3 to 24 million spores per gram, the bacterial number varied from 0.5 to 4 billion cells per gram (See Fig. 1-3). The fungal mycelium length and bacterial number on plant roots exceeded the same indicators on leaves and stems. On the contrary, fungal spores and the number of yeast-like cells on plant roots was lower than their number on leaves and stems. We established that *Carex* has the biggest quantity among the majority of microorganism groups and *Drosera* has the smallest one. Microbial biomass on vegetative parts of raised bog plants varied from 0.10 to 2 mg/g. Microbial biomass calculation on leaves and stems of the majority of examined plants gave close values. The biomass of the examined plant roots did not exceed a factor of two. This biomass calculation proved true for all plant species except for *Carex*. The microbial biomass of *Carex* roots was three to five times more than root biomass of other plant species (See Table 2). Bacteria, fungal spores and yeast-like cells proportion in the microbial biomass structure on leaves and stems was quite high (up to 96%), the fungal mycelium dominated in microbial biomass structure on plant roots (See Fig. 4).

**Funding:** This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (Grant No 16-04-00452-a).

*The paper contains 4 Figures, 2 Tables and 32 References.*

**Key words:** raised bogs; plants; microorganisms; bacteria; micromycetes; number; biomass.

### References

1. Shcherbakova AV, Bragina AV, Kuzmina EYu, Berg Ch, Muntyan AN, Makarova NM, Makarova NM, Malfanova NV, Cardinale M, Berg G, Chebotar VK, Tikhonovich IA. Endophytic bacteria of *Sphagnum* mosses as promising objects of agricultural microbiology. *Microbiology*. 2013;82(3):306-315. doi: [10.1134/S0026261713030107](https://doi.org/10.1134/S0026261713030107)
2. Tets VV. Pangenom. *Tsitologiya*. 2003;45(5):526-531. In Russian
3. Saito A, Ikeda S, Ezura H, Minamisawa K. Microbial community analysis of the phytosphere using culture-independent methodologies. *Microbes and Environments*. 2007;22(2):93-105. doi: <https://doi.org/10.1264/jsme2.22.93>
4. Andrews JH, Harris RF. The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2000;38:145-180. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.38.1.145>
5. Stadler B, Michalzik B, Mueller T. Linking aphid ecology with nutrient fluxes in a coniferous forest. *Ecology*. 1998;79:1514-1525. doi: [10.1890/0012-9658\(1998\)079\[1514:LAEWNF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(1998)079[1514:LAEWNF]2.0.CO;2)

6. Papen H, Gessler A, Zumbusch E, Rennenberg H. Chemolithoautotrophic nitrifiers in the phyllosphere of a spruce ecosystem receiving high atmospheric nitrogen input. *Current microbiology*. 2002;44:56-60. doi: [10.1007/s00284-001-0074-9](https://doi.org/10.1007/s00284-001-0074-9)
7. Freiberg E. Microclimatic parameters influencing nitrogen fixation in the phyllosphere in a Costa Rican premontane rain forest. *Oecologia*. 1998;117:9-18. doi: [10.1007/s004420050625](https://doi.org/10.1007/s004420050625)
8. Golovchenko AV, Dobrovol'skaya TG, Zvyagintsev DG. Mikrobiologicheskie osnovy otsenki torfyanyka kak profil'nogo pochvennogo tela [Microbiological basis for evaluating peat bog as a profile soil body]. *Tomsk State Pedagogical University Bulletin*. 2008;4(78):46-53. In Russian
9. Golovchenko AV, Kurakov AV, Semenova TA. Abundance, diversity, viability, and factorial ecology of fungi in peatbogs. *Eurasian Soil Science*. 2013;46(1):74-90. doi: [10.1134/S1064229313010031](https://doi.org/10.1134/S1064229313010031)
10. Pankratov TA, Belova SE, Dedysh SN. Evaluation of the phylogenetic diversity of prokaryotic microorganisms in sphagnum peat bogs by means of fluorescence *in situ* hybridization (FISH). *Microbiology*. 2005;74(6):722-728. doi: [10.1007/s11021-005-0130-8](https://doi.org/10.1007/s11021-005-0130-8)
11. Kachalkin AV, Glushakova AM, Yurkov AM, Chernov IYu. Characterization of yeast groupings in the phyllosphere of *Sphagnum* mosses. *Microbiology*. 2008;77(4):474-481. doi: [10.1134/S0026261708040140](https://doi.org/10.1134/S0026261708040140)
12. Efimov VN. Torfyanye pochvy i ikh plodorodie [Peat soils and their fertility]. Leningrad: Agropromizdat, Leningradskoe otdelenie Publ.; 1986. 269 p. In Russian
13. Albino U, Saridakis DP, Ferreira MC, 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 and Soil*. 2006;287:199-207. doi: [10.1007/s11104-006-9066-7](https://doi.org/10.1007/s11104-006-9066-7)
14. Stępniewska Z, Goraj W, Kuźniar A, Łopacka N, Małyszka M. Enrichment culture and identification of endophytic methanotrophs isolated from peatland plants. *Folia Microbiologica*. 2017;62:381-391. doi: [10.1007/s12223-017-0508-9](https://doi.org/10.1007/s12223-017-0508-9)
15. Dake XU, Xiuying XIA, Na XU, Lijia AN. Isolation and identification of a novel endophytic bacterial strain with antifungal activity from the wild blueberry *Vaccinium uliginosum*. *Annals of Microbiology*. 2007;57(4):673-676. doi: [10.1007/BF03175372](https://doi.org/10.1007/BF03175372)
16. Kachalkin AV, Glushakova AM, Chernov IYU. Specificchnost' ehpfifitnykh drozhzhevyyh soobshchestv torfyano-bolotnykh pochv [Specificity of epiphytic yeast communities of peat-bog soils]. *Doklady po ehkologicheskomu pochvovedeniyu = Interactive Ecological Soil Science Reports*. 2009;2(12):20-36. In Russian
17. Filippova NV. On the communities of fungi of raised bogs in taiga belt of West Siberia. II. Microfungi on plant litter. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2015;49(3):164-172. In Russian
18. Thormann MN, Bayley SE, Currah RS. Microcosm tests of the effects of temperature and microbial species number on the decomposition of *Carex aquatilis* and *Sphagnum fuscum* litter from southern boreal peatlands. *Canadian Journal of Microbiology*. 2004;50:793-802. doi: [10.1139/w04-064](https://doi.org/10.1139/w04-064)
19. Wainwright M. Origin of fungal colonies on dilution and soil plates determining using nonanoic acid. *Transaction of the British Mycological Society*. 1989;79(1):178-179.
20. *Metody pochvennoy biokhimii i mikrobiologii* [Methods of soil biochemistry and microbiology]. Zvyagintsev DG, editor. Moscow: Moscow State University Publ.; 1991. 304 p. In Russian
21. Kozhevina PA, Polyanskaya LM, Zvyagintsev DG. Dinamika razvitiya razlichnykh mikroorganizmov v pochve [Dynamics of different microorganisms' development in soil]. *Microbiology*. 1979;48(4):490-494. In Russian
22. Polyanskaya LM, Golovchenko AV, Zvyaginets DG. Mikrobnaya biomassa v pochvah [Microbial biomass in soils]. *Doklady Akademii nauk = Doklady Biological Sciences*. 1995;344(6):846-848. In Russian

23. Saito A, Ikeda S, Ezura H, Minamisawa K. Microbial community analysis of the phytosphere using culture-independent methodologies. *Microbes and Environments*. 2007;22(2):93-105. doi: [10.1264/jsme2.22.93](https://doi.org/10.1264/jsme2.22.93)
24. Beattie GA, Lindow SE. The secret life of foliar bacterial pathogens on leaves. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2005;33:145-172. doi: [10.1146/annurev.py.33.090195.001045](https://doi.org/10.1146/annurev.py.33.090195.001045)
25. Zvyagintsev DG, Dobrovol'skaya TG, Lysak LV. Rasteniya kak tsentry formirovaniya bakterial'nykh soobshchestv [Plants as centers for forming bacterial communities]. *Zhurnal obshchey biologii*. 1993;54(2):183-200. In Russian
26. Bab'eva IP, Chernov IYu. Biologiya drozhzhey [Yeast biology]. Moscow: KMK Scientific Press Ltd.; 2004. 239 p. In Russian
27. Miglovec MN, Zagirova CB, Mikhailov OA. Methane emission in plant communities of meso-oligotrophic peatland of middle taiga. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya = Theoretical and Applied Ecology*. 2014;1:93-98. In Russian
28. Saarnio S, Wittenmayer L, Merbach W. Rhizospheric exudation of *Eriophorum vaginatum* L. - potential link to methanogenesis. *Plant and Soil*. 2004;267:343-355. doi: [10.1007/s11104-005-0140-3](https://doi.org/10.1007/s11104-005-0140-3)
29. Kumar S, Gautam S, Sharma A. Antimutagenic and antioxidant properties of plumbagin and other naphthoquinones. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2013;755(1):30-41.
30. Verner AR. O svyazi mezhdu fitontsidnoy aktivnost'yu i epifitnoy mikrofloroy rasteniy. Fitontsidy v narodnom khozyaystve [On the relationship between phytoncidal activity and epiphytic microflora of plants. Phytoncides in the national economy]. Kiev: Naukova Dumka Publ.; 1964. pp. 56-58. In Russian
31. Kosykh N P, Mironycheva-Tokareva NP, Parshina EK. Budget chemical elements in bog ecosystems middle taiga Western Siberia. *Dinamika okruzhayushchey sredy i global'noe izmenenie klimata = Environmental Dynamics and Global Climate Change*. 2010;1(1):85-95. In Russian, English Summary
32. Dobrovol'skaya TG, Golovchenko AV, Zvyaginets DG, Inisheva LI, Kurakov AV, Smagin AV, Zenova GM, Lysak LV, Semenova TA, Stepanov AL, Glushakova AM, Pochatkova TN, Kuharenko OS, Kachalkin AV, Pozdnyakov LA, Bogdanova OYu. Funktsionirovanie mikrobnnykh kompleksov verkhovykh torfyanikov – analiz prichin medlennoy destruktсии torfa [Functioning of microbial complexes of raised peat bogs: Analyzing the reasons for slow peat destruction]. Moscow: KMK Scientific Press Ltd.; 2013. 128 p. In Russian

*Received 11 January 2018; Revised 25 April 2018;  
Accepted 15 August 2018; Published 12 October 2018*

**Author info:**

**Golovchenko Alla V.** Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Soil Microbiology, Faculty of Soil Science, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education MV Lomonosov Moscow State University, 1-12, GSP-1, Leninskie Gory, 119991 Moscow, Russian Federation.

E-mail: [golovchenko.alla@gmail.com](mailto:golovchenko.alla@gmail.com)

**Harlak Angelina L.** Bachelor, Faculty of Soil Science, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education MV Lomonosov Moscow State University, 1-12, GSP-1, Leninskie Gory, 119991 Moscow, Russian Federation.

E-mail: [angelina.harlak@yandex.ru](mailto:angelina.harlak@yandex.ru)

**Gluhova Tamara V.** Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory of Forest Mire Research and Land Improvement, Federal State Budget Science Institution Institute of Forest Science, Russian Academy of Sciences, 21 Sovetskaya Str., 143030 v. Uspenskoe, Odintsovsky District, Moscow Oblast, Russian Federation.

E-mail: [glutam@mail.ru](mailto:glutam@mail.ru)