Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова

Факультет почвоведения

Кафедра биологии почв

Прокариотные сообщества почв архипелага Земля Франца-Иосифа

Курсовая работа

студента 3 курса направления

«почвоведение»

Бадмадашиева Д.В.

Научный руководитель:

Профессор, д.б.н. Лысак Л.В.

Москва, 2018

Содержание

1.Введение.....3
2.Обзор литературы.....5
2.1.Почвы и условия.....5
2.2.Современные подходы к изучению микробных сообществ почв.....7
3.Объекты и методы исследования.....12
3.1.Объекты исследования.....12
3.2.Методы исследования.....14
4.Результаты и обсуждение.....16
4.1.Определение показателей общей численности бактерий и длины актиномицетного мицелия в исследованных образцах почвы.....16
4.2.Определение численности и структуры сапротрофного бактериального комплекса.....23
4.3.Определение структуры сапротрофного бактериального комплекса.....25
5.Выводы.....28
6.Литература.....29

1.Введение

Границы Арктического региона, в соответствии с определением Комиссии по арктической флоре и фауне Арктического совета (CAFF, 2002), включают территории внутреннего полярного круга, с изотермами среднемноголтней температуры +10°C внутри границ распространения мерзлоты. Последние глобальные оценки и модели (ACIA, 2004; IPCC, 2014) показывают высокие темпы потепления в Арктике. В этих условиях последствия существующих антропогенных воздействий будут только увеличиваться. Основным видом антропогенного воздействия является добыча полезных ископаемых, таких как руда и уголь, и развитие инфраструктуры, и как вытекающее из этого вырубка островного леса и добыча грунта.

Арктические экосистемы являются уникальными природными ландшафтами, содержащими в себе огромные запасы глобального углерода, которые обеспечивают стабильность климата в планетарном масштабе. Низкий уровень теплового баланса экосистем Арктики является причиной ограниченной емкости местообитаний и относительно низкого биологического разнообразия, которое вместе с тем является уникальным, что обусловлено высоким уровнем адаптации к специфическим условиям.

Поэтому проблемы изучения функционирования арктических экосистем, в том числе исследования микробных сообществ почв и сопряженных субстратов, имеют актуальное значение для охраны и рационального использования ресурсов Арктики.

Однако микробные сообщества изучены явно недостаточно. Имеющиеся в отечественной и зарубежной литературе работы затрагивают в основном Канадскую Арктику и материковую часть северной Евразии. Сведения об прокариотных сообществах почв Земли Франца-Иосифа отсутствуют. Исследования Арктики в этом направлении только начинаются в связи с принятием программы «Стратегия развития Арктической зоны Российской Федерации и обеспечения национальной безопасности на период до 2020 года» (Экологическая реставрация в Арктике, 2016).

Целью работы было изучение прокариотных сообществ почв архипелага Земля Франца-Иосифа, выявление обилия и особенностей их структуры. Были исследованы прокариотные сообщества почв пяти островов архипелага: о.Алджера, о.Ферсмана, о.Гукера, о.Хейса и о. Земля Александры.

В задачи исследования входило:

1. Определение показателей общей численности бактерий и длины актиномицетного мицелия в образцах почвы.

2. Изучение таксономической структуры сапротрофного бактериального комплекса.

3. Создание коллекции бактерий, выделенных из исследуемых почв.

2.Обзор литературы

2.1.Почвы и условия

Земля Франца-Иосифа – архипелаг в Северном Ледовитом океане, самая северная островная суша в Евразии. Часть полярных владений России. Состоит из 192 островов, общая площадь – 16 тысяч км^2. Площадь оледенения составляет 85% общей площади архипелага. Не имеют постоянного населения (Franz Josef Land, 1995).

Архипелаг располагается в Евроазиатской полярной области, в зоне арктических почв Арктитки. Для этой зоны характерна среднегодовая температура -7,5 ^{o}C и годовое количество осадков – от 40 до 400 мм. Растительный покров представлен несомкнутыми группировками с господством листоватых и накипных лишайников, мхов и немногочисленных цветковых растений. Характерны небольшие запасы живого и мертвого органического вещества (10-300 ц/га сухой массы), причем доля первого не превышает 10 % от общего состава; в мертвом органическом веществе преобладают растительные остатки. Скорость разложения растительных остатков очень низкая. В живой биомассе преобладают растения (больше 95%) (Строганова, 2008).В живой фитомассе преобладают подземные органы. Фитомасса арктических тундр составляет от 30 до 70 ц/га, полярных пустынь – 1–2 ц/га. Невелика первичная продукция -10-25 ц/га в год (интернет источник: http://www.krugosvet.ru).

Также к особенностям арктического пояса относится наличие низкое биоразнообразие и его высокая приспособленность к условиям холодного климата, низкая скорость биологического круговорота. Арктические почвы являются одним из крупнейших резервуаров углерода в мире – при среднем содержании углерода в 2,5%, они вмещают более 500 млрд т органического углерода (в 2,5 раза больше чем тропические леса планеты), что обусловлено мощным слоем законсервированной органики (иногда до десятков метров) (Зимов, 2007). Яркой структурой почвенного покрова является комплексность Дифференциация почвенного покрова связана как с современными процессами самоорганизации (криогенные комплексы), так и древними процессами формирования валунных морен (микромозаики подзолов и литоземов). В полярных областях биоклиматические закономерности распространения почв накладываются на геогенные закономерности. Мерзлотные комплексы образуются в результате морозного растрескивания и действия ветровой и снежной денудации. Они представляют собой сеть многогранников-полигонов с выпуклой частью в центре. Комплекс состоит из арктической

или аркто-тундровой гумусной слабоглеевой почвы (для арктической зоны), развивающейся вдоль трещин, и слабобиогенной остаточной специфической почвы центрального повышения, лишенного растительности и подвергающегося дефляции. Так же мерзлотные комплексы образуются в процессе выпучивания деятельного слоя и образования бугоркового микрорельефа (нанорельефа). Таким образом, в Полярном поясе господствуют следующие криогенные почвенные комплексы: полигональные,пятнистые, пучинно-бугорковатые, каменно-многоугольниковые (Строганова, 2008).

В соответствии с типом растительности в арктической зоне выделяют: полярные пустыни, тундры (травяно-кустарничково-моховые, кустарничково-лишайниковые и травяно-кустарничковые), северные (типичные) тундры (кустарничково-травяно-моховые и кустарничково-лишайниковые), южные тундры (кустарниковые, кустарничковые и кочкарно-пушициевые), лесотундру (предтундровые редколесья и криволесья, приокеанические высокотравные луга) (Franz Josef Land,1995). Земля Франца-Иосифа располагается в области полярных пустынь.

Почвенный покров архипелага представлен арктическими слаборазвитыми и глееватыми почвами (Cryosols, WRB). Они формируются в очень холодных и влажных условиях, количество осадков довольно низкое (до 400 мм), но из-за слабового испарения формируются условия достаточного либо избыточного увлажнения. Для них характерен маломощный профиль, обусловленный наличием многолетней мерзлоты (горизонт cryic), которая оттаивает на короткий промежуток времени в среднем на 30 см. Дифференциация почвенного профиля выражена слабо из-за криотурбационных процессов (пучение, криогенная сортировка, мерзлотное трещинообразование, криогенный микрорельеф и др.). Реакция среды, как правило, слабокислая или нейтральная, гранулометрический состав легкий. (WRB, 2014). Отбор образцов производился на разных островах архипелага, ниже будет приведена их краткая характеристика.

Остров Алджер – необитаемый остров, вся территория которого, кроме юго-восточной песчаной части, покрыта льдом. В юго-западной части острова находится его наивысшая точка, высота которой составляет 429 метров. В северо-западной части расположена гора Рихтгофена, высотой 404 метра. Имеются небольшие ручьи и озеро, расположенное в центральной части острова у подножия ледника. Назван в честь американского писателя Горацио Элджера (интернет источник: https://www.rutraveller.ru/place/100192).

Остров Гукера практически полностью покрыт льдом, за исключением нескольких прибрежных зон острова. Площадь острова составляет 508 км^2 – это один из десяти самых

крупных островов архипелага. Высочайшая точка – 576 метров. Остров имеет базальтовое основание (как и остальные острова Земли Франца-Иосифа). В северо-западной части имеются две незамерзающие бухты – бухта Юрия и бухта Тихая. На острове расположена научно-исследовательская станция и железная дорога. Так же на нем гнездится большое количество птиц (до 18 тысяч особей), это в основном чайковые (*Laridae*), буревестниковые (*Procellariidae*) и чистиковые (*Alcidae*). Самый южный из исследуемых островов (интернет источник: https://www.rutraveller.ru/place/47582).

Остров Ферсмана –находится в центральной точке архипелага. Имеет вытянутую форму, площадь незначительная. Остров свободен ото льда, наивысшая точка – 46 метров. Назван в честь советского геохимика Александра Ферсмана. (интернет источник: https://www.rutraveller.ru/place/100196)

Остров Хейса – небольшой остров архипелага, названный в честь полярного исследователя Айзека Хейса. Высочайшая точка – 242 метра. На острове расположена метеорологическая станция. Имеются озера, крупнейшее из них – Космическое (интернет источник: https://www.rutraveller.ru/place/62717).

Остров Земля Александры – самый крупный из исследуемых островов (1130 км^2). Самая высокая точка – 382 метра. Большая часть площади покрыта льдом, на свободной ото ль да территории расположены озера, самые крупные из них – Утиное и Ледяное. На острове располагается военная база (интернет источник: https://www.rutraveller.ru/place/69617).

2.2.Современные подходы к изучению микробных сообществ почв

В настоящее время при изучении структуры микробных сообществ почв наиболее широко используются следующие подходы: вертикально-ярусный, микролокусный, географический и сукцессионный. Комплексное применение данных подходов позволяет выявить основные закономерности структурно-функциональной организации микробных сообществ и оценить бактериальное разнообразие исследуемых почв. Рассмотрим каждый из вышеперечисленных подходов (Экология на рубеже XXI века, 1999).

Вертикально-ярусный подход

Вертикально-ярусный подход заключается в одновременном исследовании микробных комплексов в пределах всех ярусов экосистемы: надземном (филлоплана древесных и травянистых растений), наземном (подстилки, моховой и лишайниковый покров,

напочвенные разрастания водорослей), почвенном (включая все генетические горизонты) (Звягинцев, Добровольская, Бабьева и др., 1999).

Такой подход позволяет учитывать общие закономерности распределения микробных сообществ по различным биогеоценотическим ярусам.

Основополагающим фактором, обусловливающим изменение микробного разнообразия по вертикальной структуре биогеоценоза, является характер субстрата, обеспечивающего тот или иной тип питания. В филлоплане таким субстратом являются прижизненные выделения растений, содержащие ряд водорастворимых органических соединений (аминокислоты, сахара и т.д.). Лесные и степные подстилки являются источником множества биополимеров (крахмала, целлюлозы, лигнина, ксиланов и т.д.). И, наконец, почва служит источником гумусовых веществ и минеральных компонентов для бактерий. При этом, ряд других экологических факторов, таких как температура, освещенность и концентрация кислорода не оказывают серьезного влияния на вертикальную стратификацию микробных сообществ наземных биогеоценозов, в отличие от, например, водных экосистем (Звягинцев, Добровольская, Бабьева и др., 1999).

Каждый биогеоценотический ярус, прежде всего за счет определенного типа субстрата, реализует совокупность экологических ниш для определенных групп бактерий. Это обстоятельство позволяет выявить ряд общих закономерностей распределения основных таксономических групп бактерий по ярусам биогеоценоза. Наиболее детально с использованием этого подхода изучено распределение сапротрофных бактерий по ярусам лесного биоценоза (Добровольская, 2002).В наземном ярусе лесов бактерии обнаруживаются на поверхности листьев и трав, на коре, шишках, цветках и плодах, в почках и семенах, т.е. на всех органах растений. Живое растение представляет собой совокупность специализированных экологических ниш бактерий (Звягинцев, 1991). Основное трофическое окружение растения-продуцента составляют представители класса протеобактерий. Протеобактерии также являются доминирующей группировкой и в верхнем слое подстилки (L). Сюда они поступают вместе с опадом и переходят от эккрисотрофного к сапротрофному типу питания. И, таким образом, в данном слое подстилки начинается процесс деструкции растительных остатков. В нижних слоях подстилки (F+H) к доминирующими родам бактерий чаще всего относят Bacillus, Myxococcus, Cytophaga и Streptomyces. Данный факт обусловлен, прежде всего тем, что представители вышеперечисленных родов бактерий относятся к функциональной группе гидролитиков. Они способны выделять ряд ферментов, разрушающих такие полимеры как

целлюлоза (миксобактерии, цитофаги), крахмал и пектин (бациллы), хитин (стрептомицеты). В результате, происходит глубокая переработка растительных остатков и расщепление сложных полимеры.

В почвенном ярусе таксономическое разнообразие бактерий существенным образом уменьшается. Но, при этом, увеличивается доля стрептомицетов, остаются бациллы, родококки, появляются нокардии и каулобактер.

Характер субстрата обусловливает ряд закономерностей, связанных с изменением численности бактерий в различных биогеоценотических ярусах. Так, в лесных экосистемах при переходе от надземного яруса (филлоплана растений) к наземному (подстилка) наблюдается резкое увеличение численности всех групп микроорганизмов (Звягинцев, Добровольская, Бабьева и др., 1999). В противоположность этому, при переходе к почвенному ярусу, как правило, наблюдается падение численности на 1-2 порядка. В то же время, численность актиномицетов достигает своих максимальных значений именно в почвенном горизонте А1. Почва является тем природным субстратом, из которого актиномицеты выделяются в наибольшем количестве и разнообразии (Добровольская, 2002).

В пределах почвенного профиля при переходе от гумусированных к минеральным горизонтам также происходит падение численности бактерий.

Сукцессионный подход

Для понимания функционирования комплекса почвенных микроорганизмов необходимо все исследования проводить в динамике (Звягинцев, 1991).

Микробные сообщества постоянно претерпевают сукцессионные изменения изменений, причинами которых служат как внешние (внесение удобрений, оттаивание и замерзание почвы и т.д.), так и внутренние процессы, может значительно меняться как суммарная биомасса, так и таксономический состав почвенной микробиоты. Существенные изменения в соотношении численности различных групп микроорганизмов в значительной мере определяют изменения в направленности и интенсивности проводимых почвенной микробиотой процессов (Добровольская, 2002). Данные обстоятельства обусловливают крайнюю важность применения различных методов изучения микробной сукцессии в почве.

Наглядным отражением отдельных этапов сукцессии микроорганизмов, складывающейся в процессе разложения растительных остатков, могут служить биогеоценотические горизонты. Изучение микробной сукцессии в модельных стабильных условиях позволяет выявить доминантов на всех стадиях сукцессии и определить их экологические функции (Добровольская, 2002).

Микролокусный подход

С микробиологической точки зрения почва представляет собой крайне гетерогенную среду и не может рассматриваться как единая однородная среда обитания (Звягинцев, 1987). Фактически, почва, в силу своей специфики, содержит множество различных по условиям локусов. В них развиваются микробные сообщества с различными доминантами. Примерами локусов могут служить железо-марганцевые конкреции, ризосфера различных видов растений, мицелий и плодовые тела высших грибов и т.д.

К числу основных причин, обусловливающих существование большого множества микролокусов в почвенной среде обитания, можно отнести: неравномерное распределение физико-химических условий (pH, концентрации различных соединений и т.д.), локальное поступление органических остатков и корневых выделений, минералогические факторы.

Географический подход

Применение географического подхода к изучению микробных сообществ стало возможным благодаря академику Е.Н.Мишустину (Мишустин, 1975), который показал, что закон географической зональности применим и к микроорганизмам. В своих исследованиях Е.Н. Мишустин изучалал бактерии рода Bacillus. Именно для них впервые были установлены закономерности в географическом распределении видов бактерий в почвах. Так, было показано, что видовой состав доминирующих бацилл меняется при переходе от северных почв к южным. Основная сложность, связанная с применением данного подхода, выражена, прежде всего, в крайне высокой трудоемкости сбора фактического материала, пригодного для географического анализа. Однако, в настоящее время, исследователями осознана необходимость изучения не географической приуроченности отдельных видов, а соответствия ландшафта и микробного сообщества, развивающегося в нем в соответствии с климатическими и другими условиями (Заварзин, 1994).

Вышеперечисленные подходы детально разработаны и широко применяются на кафедре биологии почв МГУ и позволяют судить не только о биоразнообразии и

структурно-функциональной организации микробных сообществ исследуемых почв, но и способствуют углубленному пониманию биоценотических связей между организмами, а также экологических функций почвы, связанных с почвенной биотой.

В настоящее время, благодаря развитию молекулярно-биологических методов, структуру микробных сообществ и микробное разнообразие почв может быть оценено с помощью молекулярно-биологических методов, включающих прямое секвенирование, электрофорез в градиенте денатурирующего агента, гибридизация in situ (FISH), а также предварительная амплификация полученных образцов с помощью полимеразно-цепной реакции, методы метагеномики (Лысак и др., 2003). К числу преимуществ молекулярно-биологических методов можно отнести, прежде всего, возможность исследования некультивируемых почвенных микроорганизмов, которых в почве гораздо больше, чем культивируемых на питательных средах (Чернов, 1997).

В отечественной и зарубежной литературе данные по изучению микробных сообществ арктических почв, в основном, касаются определения микробной биомассы, определения размера клеток, распределения организмов по профилю, соотношения грибной и бактериальной биомассы, механизмов выживания бактерий в условиях многолетней мерзлоты, метаболической активности микроорганизмов (Schmidt et al, 2002; Friedmann, 1994; McGrath et al, 1994).

Исследования микробных сообществ в Арктике затрагивало в основном территории материковой части Евразии (Liebner et al, 2008), в частности, полуостров Таймыр (Schmidt et al, 2002), а также арктической зоны Северной Америки (Kao-Kniffin et al, 2015). А прокариотные сообщества почв Земли Франца-Иосифа практически не были освещены исследованиями. Большинство научных работ по микробным сообществам, посвященных архипелагу, касались, как правило, изучения грибной биомассы, так как она преобладает в данной зоне (Кирцидели, 2015; Ezhov et al, 2014).

3.Объекты и методы исследования

3.1.Объекты исследования

Объектами исследования служили образцы почв, отобранные летом 2017 года на территории пяти островов архипелага Земля Франца-Иосифа. Образцы были отобраны и любезно предоставлены аспирантом кафедры биологии почв Никитиным Д.А., за что мы приносим ему нашу благодарность.

Первая точка – остров Алджер, небольшое возвышение с очень пологим склоном первой морской террасы. Имеются полигоны – по линиям сетки черные мхи и лишайники, внутри сетки мелкозем. Псаммозем глееватый (Turbic Cryosol Arenic, WRB). Был произведен отбор пяти образцов:

1. Черная корка лишайников (0-1 см).
2. Поверхность без растительности внутри полигона, мелкозем (0-1 см).
3. Песок под камнеломкой (0-15 см).
4. Осветленный сизый оглеенный горизонт (15-30см).
5. Тонкая охристая прослойка Fe^{+3}, глубже мерзлота (35-40 см).

Вторая точка – остров Ферсмана, на склоне первой морской террасы у берега. Почва под покровом лишайников и небольшого количества мхов и цветковых растений. Серо-гумусовая грубогумусированная мерзлотная почва (Cryosol, WRB). Было отобрано четыре образца:

1. Лишайниковая корка (черные и белые) (0-1 см).
2. Гумусированный горизонт с корнями (0-5 см).
3. Переходный горизонт к породе (5-17 см).
4. **Порода**, мелкозем (17-40 см).

Третья точка – остров Ферсмана, на плакоре, третья морская терраса под фоновой растительностью (много цветковых, мха и лишайников), сильно криотурбирован. Псаммозём криотурбированный мерзлотный (Turbic Cryosol Humic, WRB). Был произведен отбор трех образцов:

1. Подстилка, много мхов и камнеломки (0-2 см).
2. Горизонт без признаков гумуса (2-5 см).

3. Сильно криотурбированный горизонт, имеются затеки гумуса. Глубже мерзлота (5-10см).

Четвертая точка – остров Хейса, мыс Зенит, на берегу ручья на первой морской террасе, открыты мезозойские морские отложения. Псаммозем глеевый мерзлотный (Cryosol Arenic, WRB). Был произведен отбор пяти образцов:

1. Черная лишайниковая корка, малое количество мхов и цветковых растений (1-0 см).
2. Гумусовый горизонт под лишайником (0-2 см).
3. Гумусовый горизонт под камнеломкой, много корней и крупных камней, очень рыхлый.
4. Оглеенная порода (белый песок)
5. Оглеенная порода (белый песок), глубже мерзлота.

Пятая точка – остров Гукера, крутой склон первой морской террасы, подо мхами и разнотравьем, много воды. Cyosol, WRB. Отобрано четыре образца:

1. Моховой очес (0-5 см).
2. Гумусированный слой подо мхом (5-6 см).
3. Оглеенный горизонт (6-15 см).
4. Оглеенный горизонт, глубже мерзлота (15-30 см).

Шестая точка – остров Земля Александры, выровненная первая морская терраса, высоко над уровнем моря, фоновая растительность – преобладают лишайники, мало мхов, незначительное количество цветковых. литозем грубогумусовый мерзлотный (Oxyaquic Cryosol, WRB).Было отобрано четыре образца:

1. Лишайники и мхи (0-2 см).
2. Гумусовый горизонт под лишайниками и мхами (2-8 см).
3. Горизонт с большим количеством воды, следов оглеения нет, песок (8-15 см).
4. Порода, глубже вода, оглеения нет, песок (15-25 см).

3.2.Методы исследования

Определение показателей общей численности бактерий и длины актиномицетного мицелия в исследуемых образцах.

Общая численность бактерий была определена с помощью метода прямой микроскопии с использованием люминесцентного микроскопа “Axiskop 2+” (объектив 100, масляная иммерсия).

Данный метод сводится к тому, что приготовленные из почвенной суспензии препараты окрашиваются красителем акридином оранжевым (Методы почвенной микробиологии и биохимии, 1991). Пробу почвы (растительного материала) массой 1 г помещали в колбу со 100 мл стерильной воды. Для десорбции клеток с поверхности почвенных частиц почвенную суспензию обрабатывали ультразвуком, используя прибор УДН3-1 (2 мин, 22 кГц, 0.44).

Приготовление препаратов и их последующая окраска акридином оранжевым проводилась по следующей методике: на стекло наносили 10 мкл суспензии и распределяли по площади 2×2 см2, затем стекло фиксировали в пламени горелки и окрашивали акридином оранжевым (в соотношении красителя и воды 1:10000, 2-4 мин) непосредственно перед просмотром под микроскопом с УФ источником света. Из каждого образца готовили 6 препаратов, на каждом из которых подсчитывали клетки в 30 полях зрения. Расчет количества бактериальных клеток на 1 г субстрата производили по формуле:

$N=S1*a*n/V*S2*C$,

где N-число клеток на 1 г субстрата;

S1-площадь препарата (мкм2);

a-количество клеток в одном поле зрения (усреднение производится по всем препаратам);

n-показатель разведения бактериальной смеси (мл);

V-объем капли, наносимой на стекло (мл);

S2-площадь поля зрения микроскопа (мкм2);

C-навеска субстрата(1г).

Длина актиномицетного мицелия

Длину актиномицетного мицелия в 1 г образца (NMA) определяли по формуле:

NMA =S1an/vS2c106, где:

S1 – площадь препарата (мкм2);

a – средняя длина фрагментов актиномицетного мицелия в поле зрения (мкм);

n – показатель разведения суспензии (мл); v – объем капли, наносимой на стекло (мл);

v – объем капли, наносимой на стекло (мл);

S2 – площадь поля зрения микроскопа (мкм2);

c – навеска образца (г).

Определение численности и таксономического состава сапротрофного бактериального комплекса почв

Для определения численности и таксономического состава сапротрофного бактериального комплекса был произведен посев суспензий исследуемых почвенных образцов на глюкозо-пептонно-дрожжевую среду из разведений 1:100, 1:1000 в 3-х кратных повторностях. На 7-10 сутки был проведен учет бактерий, выросших на агаризованной среде. Для этого определялось общее число колоний и численность отдельных таксономических групп. Представителей основных морфологических типов изолировали на скошенный агар и идентифицировали до рода. Идентификация проводилась при помощи ключа для определения родов почвенных бактерий (Лысак и др., 2003) и по общепринятым определителям (Определитель бактерий Берджи, 1997).

Определение структуры бактериального комплекса на родовом уровне проводилось с использованием критериев, разработанных на кафедре биологии почв (Лысак и др., 2003). Нами были выделены доминанты (>30%), субдоминанты (20-30%), группа среднего обилия (10-20%) и минорные компоненты (<10%).

4.Результаты и обсуждение

4.1.Определение показателей общей численности бактерий и длины актиномицетного мицелия в исследованных образцах почвы.

Общая численность бактерий и длина актиномицетного мицелия являются важными характеристиками почв. Эти показатели были определены для арктических почв архипелага Земля Франца-Иосифа. Полученные результаты показаны в таблице 1.

Таблица 1 Общая численность бактерий и длина актиномицетного мицелия в исследованных образцах.

Горизонт	Общая численность бактерий, млрд кл./г	Длина актиномицетного мицелия, м/г
Turbic Cryosol Arenic о. Алджер		
ZFI-A-01(1) O	0,67	100
ZFI-A-01(2) B	0,14	100
ZFI-A-01(3) B	0,3	50
ZFI-A-01(4) B_{2g}	Не определяли	Не определяли
ZFI-A-01(5) B_3	0,16	25
Cryosol о. Ферсмана 1		
ZFI-F-02(1) O	0,73	40
ZFI-F-02(2) A	0,45	100
ZFI-F-02(3) AC	0,26	Не обнаружено
ZFI-F-02(4) C	0,23	70
Turbic Cryosol Humic о. Ферсмана 2		
ZFI-F-03(1) O	0,59	230
ZFI-F-03(2) B	0,66	25
ZFI-F-03(3) B_2	0,31	25
Cryosol Arenic о. Гукера		
ZFI-HK-08(1) O	0,74	220
ZFI-HK-08(2) AO	0,58	80
ZFI-HK-08(3) B_{1g}	0,95	24
ZFI-HK-08(4) B_{2g}	0,34	25
Cryosol о. Хейса		
ZFI-H-04(1) O	1,96	Не обнаружено
ZFI-H-04(2) A	1,3	Не обнаружено
ZFI-H-04(3) A	1,2	Не обнаружено
ZFI-H-04(4) C_g	0,44	25
ZFI-H-04(5) C_{2g}	0,72	Не обнаружено
Oxyaquic Cryosol о. Земля Александры		
ZFI-Ax-10(1) O	2,1	Не обнаружено
ZFI-Ax-10(2) AO	1,28	Не обнаружено
ZFI-Ax-10(3) B	0,72	16
ZFI-Ax-10(4) C	0,7	Не обнаружено

В образцах почв с острова Алджер максимальная численность бактерий составляла 0,67 млрд кл./г и была приурочена к лишайниковой корке. В целом наблюдается тенденция к уменьшению количества численности бактерий и длины мицелия актиномицетов с глубиной. Минимальная численность наблюдалась в нижнем ожелезненном горизонте и составляла 0,16 млрд кл./г (рис. 1). Максимальная длина актиномицетного мицелия так же была приурочена к поверхностным горизонтам (лишайниковая корка и поверхность без растительности внутри полигон) и составляла 100 м/г. Минимальная длина соответствовала также ожелезненому горизонту – 25 м/г(рис. 2).

Рисунок 1

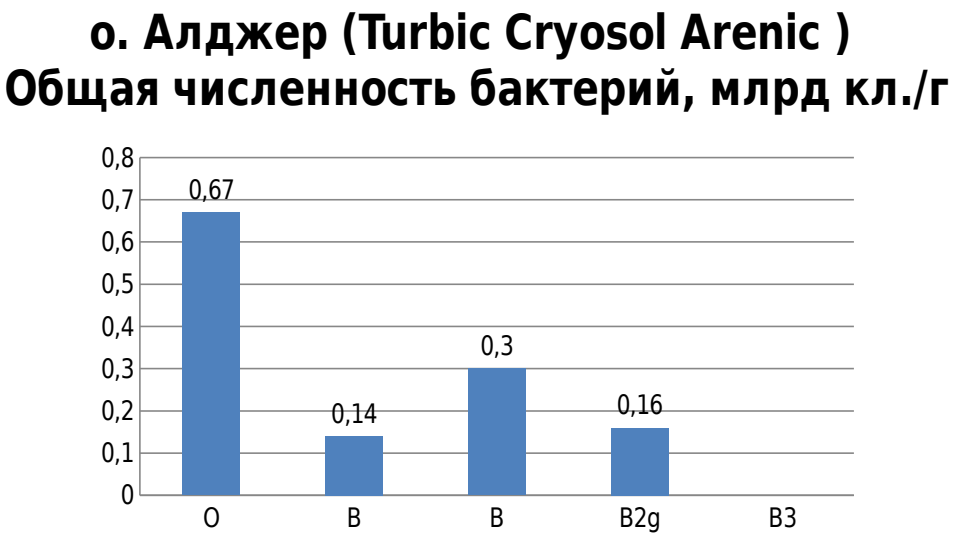
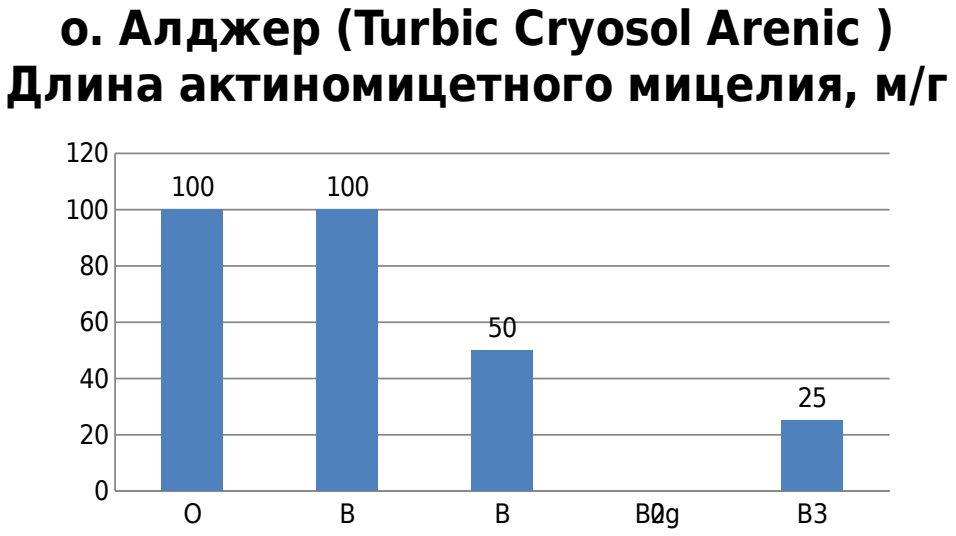


Рисунок 2



На первой точке с острова Ферсмана максимальная численность бактерий в почве составляла 0,73 млрд кл./г и соответствовала лишайниковой корке. Ниже численность бактерий снижалась до 0,23 млрд кл./г в нижнем горизонте (С, мелкозем) (рис. 3). Длина актиномицетного мицелия была максимальной в гумусовом горизонте и составляла 100 м/г, затем шло ее резкое исчезновение, за которым в нижнем горизонте (С) мицелий опять появлялся, там его длина составляла 70 м/г, что почти вдвое больше чем в лишайниковой корке(рис. 4).

Рисунок 3

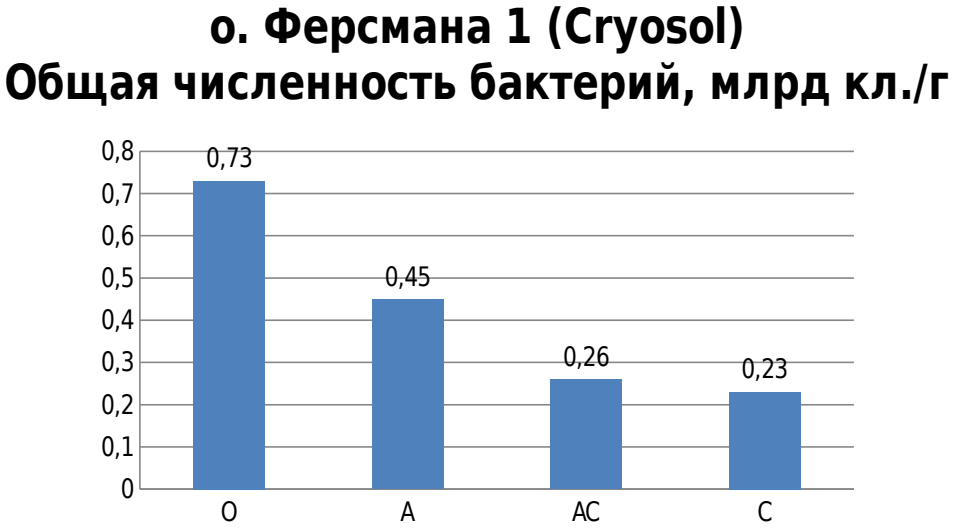
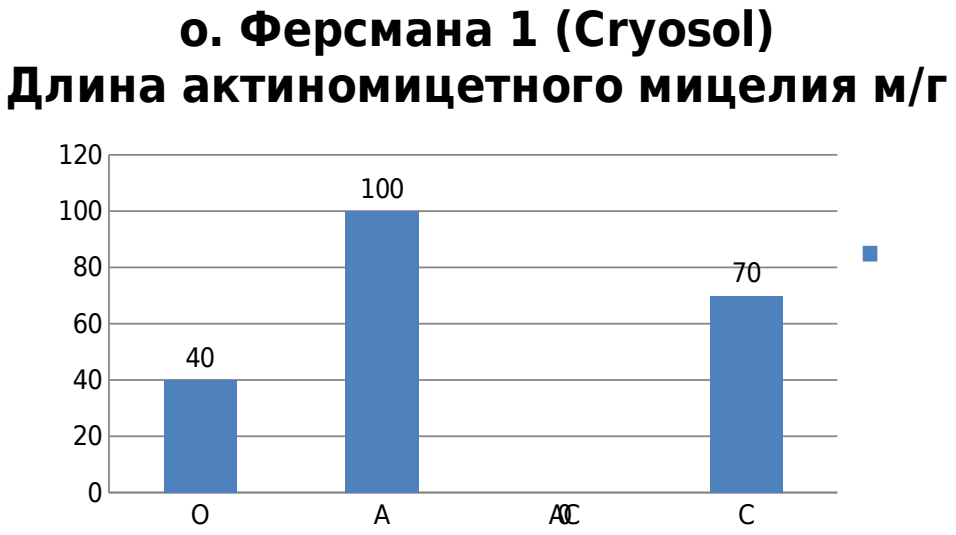


Рисунок 4



Во второй точке на острове Ферсмана образцы почвы имели максимальную численность бактерий в горизонте В – 0,66 млрд кл./г, в растительном покрове из мхов и

камнеломки общая численность была несколько меньше – 0,59 млрд кл./г. Минимальная численность наблюдалась в сильно криотурбированном надмерзлотном горизонте и составляла 0,31 млрд кл./г (рис. 5). Длина актиномицетного мицелия имела наибольшее значение в растительном покрове – 230 м/г, а в нижележащих горизонтах составляла 25 м/г (рис.6).

Рисунок 5

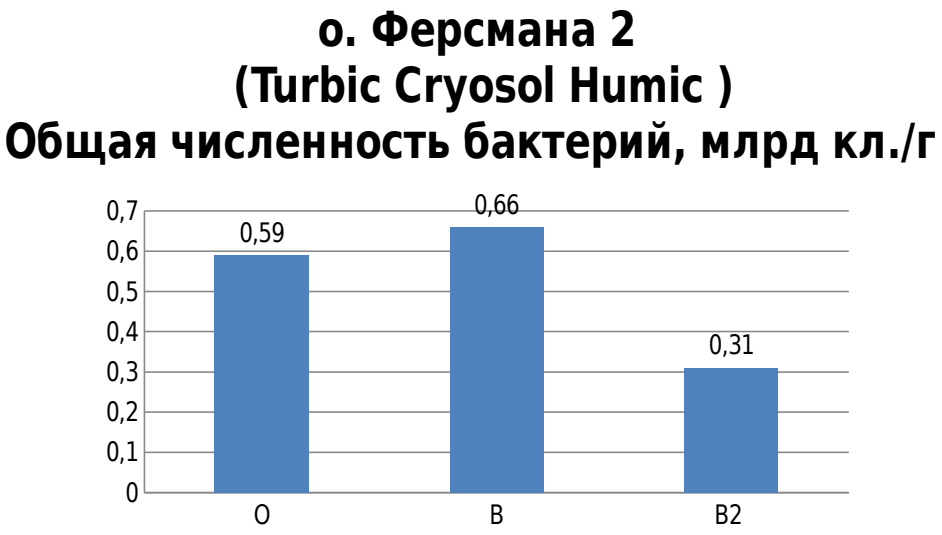
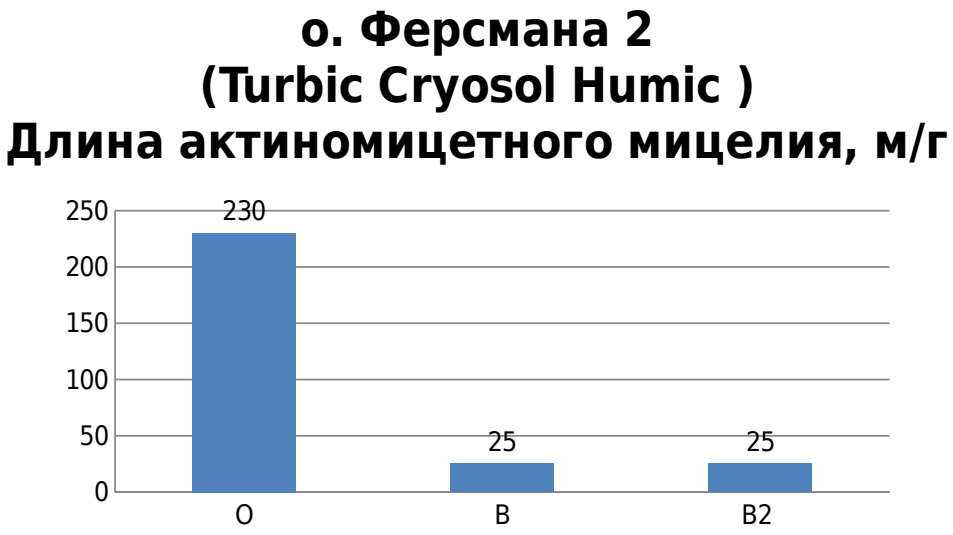


Рисунок 6



В образцах с острова Гукера максимальная численность бактерий соответствовала горизонту B_{1g} – 0,95 млрд кл./г. Так же высокая численность была в моховом очесе – 0,74 млрд кл./г, в гумусированном слое она была несколько ниже – 0,58 млрд кл./г. Минимальное значение соответствовало горизонту B_{2g} и составляло 0,34 млрд кл./г (рис.

7). Длина актиномицетного мицелия была максимальной в моховом очесе – 220 м/г, что почти в 3 раза больше чем в нижележащем гумусированном горизонте. В нижних горизонтах B_{1g} и B_{2g} длина имела значение 25 и 24 м/г соответственно (рис. 8).

Рисунок 7

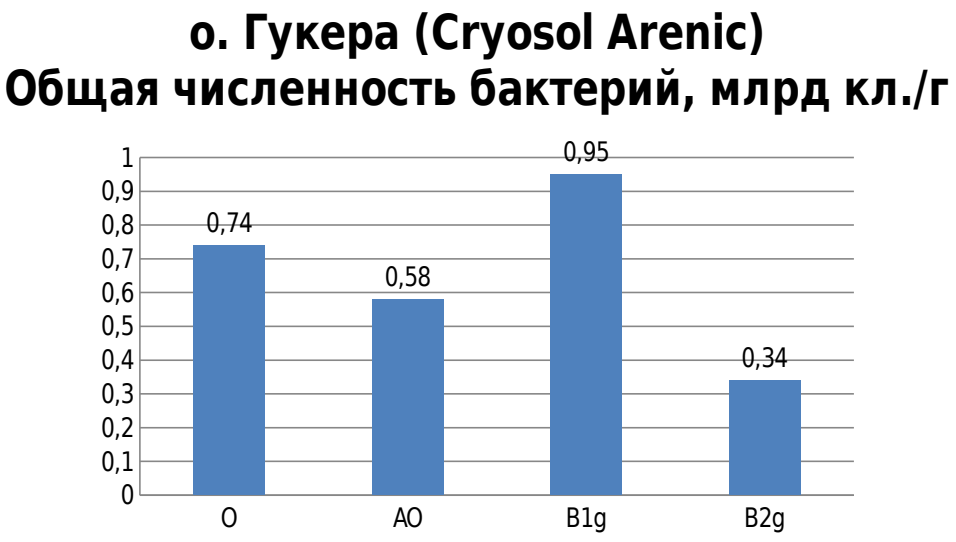
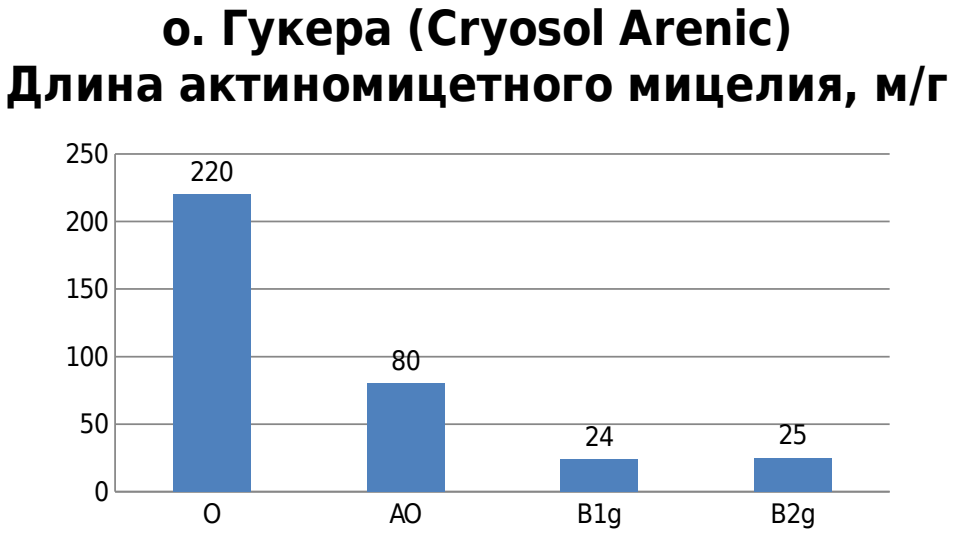


Рисунок 8



Максимальная численность бактерий в образцах с острова Хейса была в лишайниковой корке с небольшим количеством мха и цветковых растений – 1,96 млрд кл./г. В гумусовых горизонтах под лишайником и под камнеломкой она была ниже и составляла 1,3 и 1,2 млрд кл./г соответственно. Затем шло резкое снижение численности в горизонте C_g – 0,44 млрд кл./г, после которого шло увеличение численности в надмерзлотном горизонте C_{2g} (вероятно, из-за ретинизации гумуса) до 0,72 млрд кл./г (рис.

9). Мицелий актиномицетов явно присутствовал только в горизонте C_g и имел длину всего 25 м/г, в других горизонтах он был слишком мал и неразличим (рис. 10).

Рисунок 9

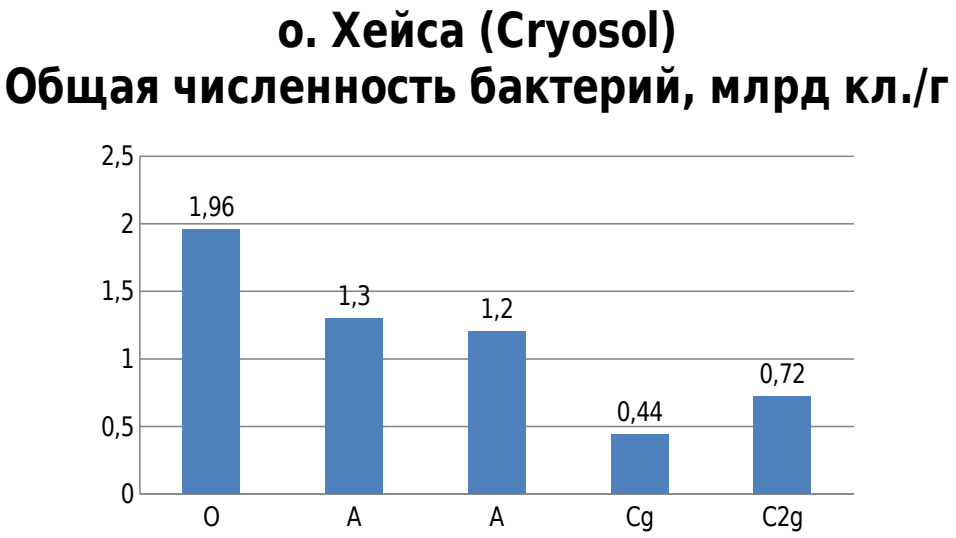
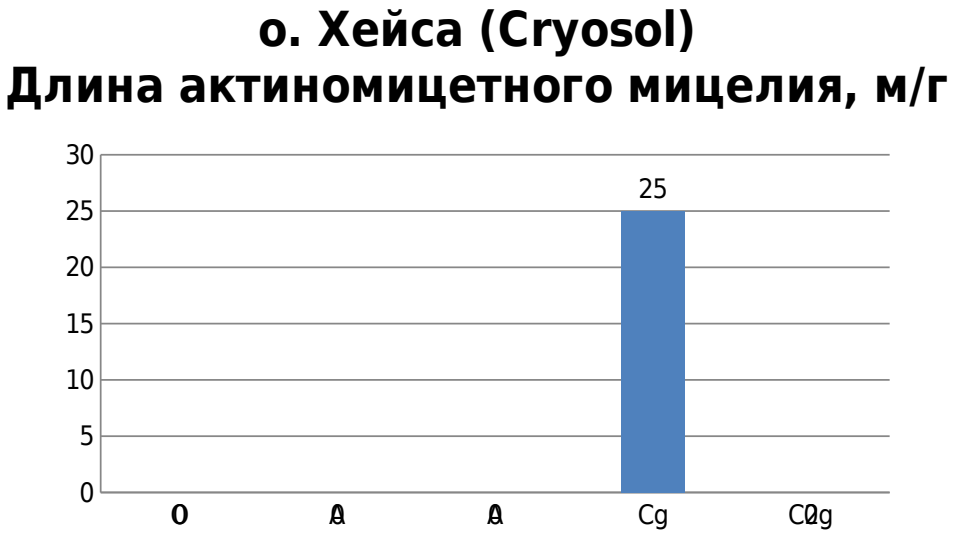


Рисунок 10



В образцах с Земли Александры наблюдалась максимальная общая численность бактерий среди исследованных образцов – 2,1 млрд кл./г (вероятно, из-за антропогенной активности), которая была получена из горизонта О (лишайники и мхи). Затем шло постепенное снижение численности бактерий до 0,70 млрд кл./г (рис. 11) в нижнем горизонте С, под которым находилась уже вода. Максимальная длина актиномицетного

мицелия была в горизонте C_g – 16 м/г, в других горизонтах она была слишком низкой и неразличимой (рис. 12).

Рисунок 11

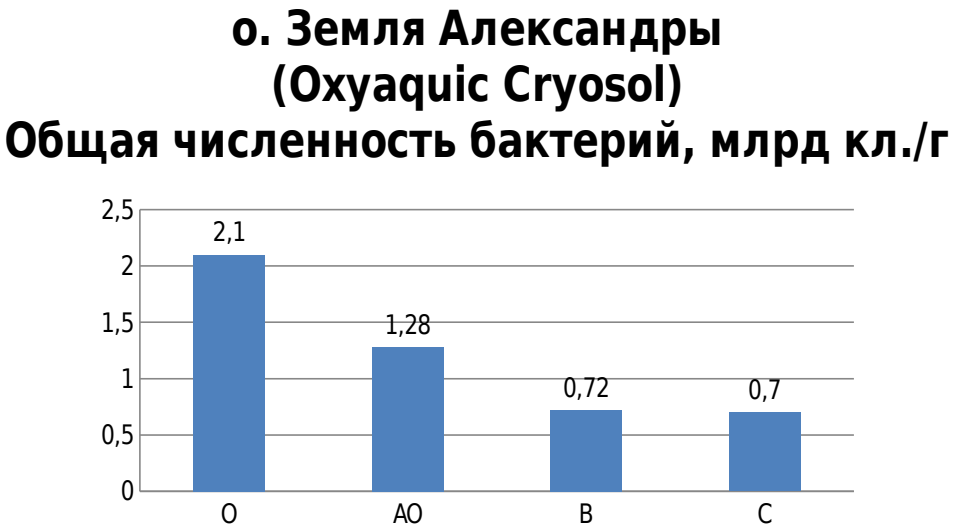
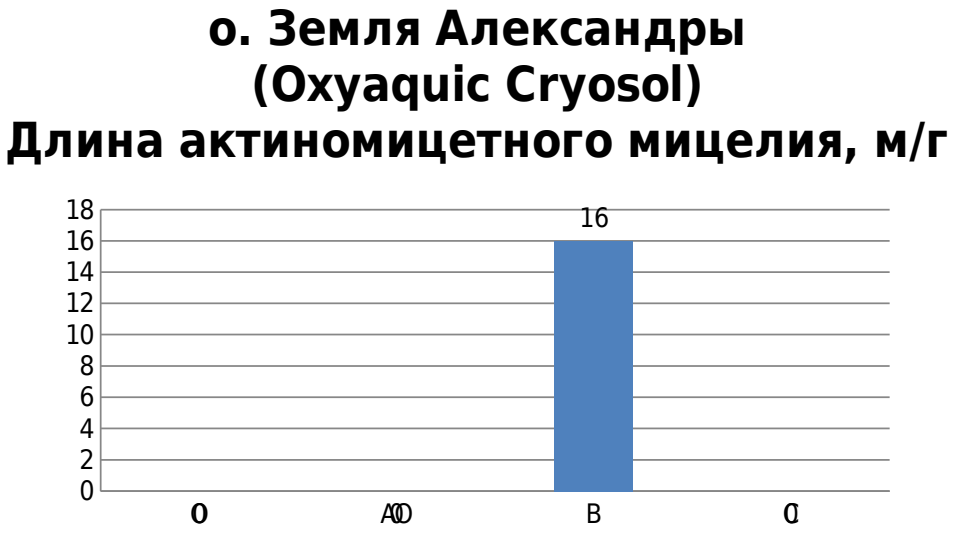


Рисунок 12



В целом, прокариотные сообщества исследованных почв архипелага Земли Франца-Иосифа характеризовались низкими показателями общей численности бактерий и длины актиномицетного мицелия. Максимальные показатели общей численности бактерий и длины актиномицетного мицелия приурочены к верхним гумусированным горизонтам и подстилке. Так же наблюдается некоторое увеличение обоих показателей в нижних горизонтах, что может быть объяснено ретинизацией гумуса в надмерзлотных горизонтах.

4.2.Определение численности и структуры сапротрофного бактериального комплекса.

Нами была определена также численность и структура сапротрофного бактериального комплекса, выраставшего на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде (ГПД). Были использованы значения при разведении 1:100, так как при разведении 1:1000 не все посевы выростали, и, следовательно, результаты были бы менее полными (таблица 2).

Таблица 2 Численность бактерий в сапротрофном комплексе.

Горизонт	Численность тыс. КОЕ/г
Turbic Cryosol Arenic о. Алджер	
O	189
B	6
B	1208
B_{2g}	18
B_3	5
Cryosol о. Ферсмана 1	
O	571
A	480
AC	144
C	33
Turbic Cryosol Humic о. Ферсмана 2	
O	688
B	311
B2g	236
Cryosol Arenic о. Гукера	
O	1323
AO	58
B_{1g}	459
B_{2g}	-
Cryosol о. Хейса	
O	1576
A	687
A	764
C_g	13
C_{2g}	2
Oxyaquic Cryosol о. Земля Александры	
O	436
AO	92
B	125
C	84

В образцах с **о. Алджер (Turbic Cryosol Arenic)** наибольшая численность сапротрофных бактерий была приурочена к горизонту В, который располагался под камнеломкой, корка лишайника содержала также большое количество бактерий. А горизонт В (0-1 см) – поверхность без растительности внутри полигона, имел значения на порядок ниже и сопоставимые с нижележащими горизонтами.

В образцах с **о. Ферсмана 1 (Cryosol)** наибольшая численность была приурочена к лишайниковой корке, несколько меньшее значение было в гумусовом горизонте. В переходном к породе слое значение было значительно ниже чем в гумусовом. В породе численность была на порядок ниже.

В образцы с **о. Ферсмана 2 (Turbic Cryosol Humic)** прослеживается довольно равномерное падение численности бактерий с глубиной, максимальное значение в подстилке и минимальное в надмерзлотном горизонте.

На **о. Гукера (Cryosol)** наибольшая численность бактерий располагалась в моховом очесе, ниже она резко падала на два порядка, а затем опять увеличивалась на порядок в надмерзлотном слое.

В образцах с **о. Хейса (Cryosol Arenic)** в горизонте О, состоящем из лишайниковой корки, мха и цветковых, было сосредоточено наибольшее количество бактерий, в гумусовых горизонтах их численность была в два раза ниже чем в подстилке. В породе значения численности на несколько порядков ниже чем в подстилке.

Образцы с **о. Земля Александры (Oxyaquic Cryosol)** имели максимальную численность сапротрофных бактерий в горизонте О из лишайников и мхов, в гумусированном горизонте под ним численность была близкой к породе, в обильно увлажненном горизонте В происходило некоторое увеличение численности бактерий, а в ниже лежащем горизонте С, под которым располагалась вода, значение было минимальным, на порядок меньше чем в растительном покрове.

В целом, во всех профилях наблюдалось, что максимальная численность сапротрофных бактерий была привязана к горизонту О, высокие значения были также в гумусовых горизонтах, и наблюдалось (в некоторых случаях) увеличение численности в надмерзлотном горизонте.

4.3.Определение структуры сапротрофного бактериального комплекса.

В соответствии с критериями, разработанными на кафедре биологии почв (Лысак и др., 2003), нами была определена структура сапротрофного бактериального комплекса на родовом уровне. Были выделены следующие группы обилия: доминанты (>30%), субдоминанты (20-30%), группа среднего обилия (10-20%) и минорные компоненты (<10%). Полученные результаты по определению относительного обилия отдельных родов бактерий представлены в таблице 3.

Таблица 3 Структура сапротрофного бактериального комплекса.

Гор.	Числ. тыс. КОЕ/г	Доминанты	Субдоми-нанты	Группа среднего обилия	Минорные компоненты
Turbic Cryosol Arenic о. Алджер					
O	189	*Myxococcus*			*Arthrobacter, Cellulomonas, Rhodococcus*
B	6	*Bacillus, Г+*		*Bacillus*	
B	1208	*Cellulomonas*		*Г-, Г+*	*Rhodococcus, Myxococcus*
B_{2g}	18	*Bacillus*		*Rhodococcus, Arthrobacter, Celullomonas*	*Micrococcus*
B_3	5	*Bacillus*	*Cellulomanas, Bacillus*		
Cryosol о. Ферсмана 1					
O	571	*Г-*	*Cytophaga*		*Cytophaga, Г-, Myxococcus, Arthrobacter, Polyangium, Rhodococcus*
A	480	*Г-*	*Rhodococcus*		*Rhodococcus, Arthrobacter, Bacillus*
AC	144	*Myxococcus*		*Arthrobacter, Myxococcus*	*Rhodococcus, Myxococcus, Bacillus*
C	33	*Arthrobacter*		*Myxococcus*	*Micrococcus, Г-*
Turbic Cryosol Humic о. Ферсмана 2					
O	688	*Г-*			*Cytophaga, Micrococcus, Rhodococcus, Flexibacter, Г-*
B	311	*Г-, Arthrobacter*			*Arthrobacter, Micrococcus, Cytophaga,*

					Myxococcus+Chromobacterium
B_2	236	*Bacillus, Myxococcus*		*Cytophaga*	*Bacillus, Streptomyces, Myxococcus*
Cryosol о. Гукера					
O	1323	*Г-, Г-*		*Myxococcus*	*Myxococcus, Г-, Cytophaga*
AO	58	*Rhodococcus*	*Rhodococcus*	*Г-*	*Г-, Rhodococcus*
B_{1g}	459	*Arthrobacter*	*Г-*		*Cytophaga, Proteus+Arthrobacter*
B_{2g}	нет				
Cryosol Arenic о. Хейса					
O	1576	*Rhodococcus, Г-*		*Г-*	*Bacillus, Г-, Г+*
A	687	*Arthrobacter +Г-, Г-*		*Corynebacterium*	*Arthrobacter, Г-*
A	764	*Г-*			*Г- подв, Arthrobacter*
C_g	13	*Г-*		*Г-*	
C_{2g}	2	*Г-*			
Oxyaquic Cryosol о. Земля Александры					
O	436	*Г-*		*Г-, Cytophaga, Myxococcus*	*Cytophaga, Rhodococcus*
AO	92	*Rhodococcus, Г-*		*Cellulomonas*	
B	125	*Bacillus*	*Myxococcus*		*Rhodococcus, Bacillus*
C	84	*Bacillus, Г-*			*Rhodococcus, Cellulomonas*

О. Алджер. Turbic Cryosol Arenic.

В растительном покрове в качестве доминантов выступали *Myxococcus*, минорными компонентами - *Arthrobacter, Cellulomonas, Rhodococcus.* В посевах из песка под камнеломкой доминировали *Cellulomonas*, не определенные грамотрицательные представляли группу среднего обилия, минорные компоненты - *Rhodococcus, Myxococcus.* В горизонтах без органики доминанты были представлены родом *Bacillus, Cellulomonas* выступали в качестве субдоминант или групп среднего обилия, также присутствовали *Rhodococcus, Arthrobacter* и *Micrococcus.*

О. Ферсмана 1. Cryosol.

В горизонте О и гумусовых горизонтах доминантами выступали грамотрицательные миксобактерии, субдоминантами в подстилке были *Cytophaga*, а в гумусовом А – *Rhodococcus*, группами среднего обилия в АС являлись *Arthrobacter и Myxococcus*, минорные компоненты были представлены различными грамположительными бактериями

– *Rhodococcus*, *Arthrobacter* и прочие. В горизонте С доминантами являлись *Arthrobacter,* группами среднего обилия – *Myxococcus*, минорными компонентами – *Micrococcus.*

О. Ферсмана 2. Turbic Cryosol Humic.

В моховом очесе доминировали грамотрицательные, минорными компонентами выступали - *Cytophaga*, *Micrococcus*, *Rhodococcus*, *Flexibacter*. В горизонте В доминанты – *Arthrobacter* и грамотрицательные, минорные компоненты - *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Cytophaga*, *Myxococcus*, *Chromobacterium*. В B_2 доминировали *Bacillus*, *Myxococcus*, группа среднего обилия была представлена родом *Cytophaga*, минорные компоненты – *Bacillus*, *Streptomyces*, *Myxococcus.*

О. Гукера. Cryosol.

Грамотрицательные представляли доминантную группу в моховом очесе, группа среднего обилия состояла из *Myxococcus*, минорные компоненты в подстилке - *Myxococcus*, *Cytophaga.* В оставшихся горизонтах доминировали грамположительные бактерии родов *Rhodococcus* и *Arthrobacter,* субдоминанты и группы среднего обилия были представлены этими же родами и грамотрицательными бактериями. В минорных компонентах присутствовали *Cytophaga*, *Proteus*, *Arthrobacter* и другие.

О. Хейса. Cryosol Arenic.

Во всех горизонтах доминировали грамотрицательные бактерии (миксобактерии) с *Rhodococcus* и *Arthrobacter* в горизонте О и гумусовом горизонте. Минорные компоненты были представлены *Arthrobacter, Bacillus* и другими.

О. Земля Александры. Oxyaquic Cryosol.

В горизонте О группу доминантов составляли грамотрицательные бактерии, группу среднего обилия – роды *Cytophaga*, *Myxococcus*, а минорные компоненты – *Cytophaga*, *Rhodococcus. Rhodococcus* доминировали в горизонте АО, а группу среднего обилия составляли *Cellulomonas.* В нижних горизонтах доминировали *Bacillus*, в горизонте В субдоминанты были представлены *Myxococcus*, минорные компоненты в В и С – *Rhodococcus.*

Во всех почвах прослеживалась закономерность: в горизонтах, которые содержат значительное количество органического вещества, в сапротрофном комплексе доминировали грамотрицательные бактерии (скользящие бактерии), а в горизонтах бедных органикой, при падении общего количества бактерий, доминировать начинают грамположительные бактерии – *Arthrobacter, Bacillus, Rhodococcus.*

5.Выводы.

1. Общая численность бактерий в исследованных образцах почв была на порядок ниже чем в почвах умеренного пояса иварьировала от 0,14 до 2,1 млрд кл./г. Общая численность была выше в моховом и лишайниковом покровах и варьировала от 0,59 до 2,1 млрд кл./г. Минимальные значения были в нижних горизонтах.
2. Длина актиномицетного мицелия в образцах была также низкой и варьировала от 16 до 230 м/г, максимальная длина тоже была приурочена к горизонту О. Минимальные значения были в нижних горизонтах.
3. Численность сапротрофных бактерий в исследованных почвах была низкой – от 2 до 1576 тыс. КОЕ/г, и была выше в моховом и лишайниковом покрове. Наблюдалось доминирование грамотрицательных рода *Myxococcus* в горизонтах богатых органикой, в нижележащих горизонах ведущую роль занимают грамположительные бактерии родов *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Rhodococcus*.
4. Характерной особенностью исследованных почв было некоторое повышение общей численности бактерий и бактерий сапротрофного комплекса в надмерзлотных горизонтах, что может быть свидетельством процесса накопления органического вещества над мерзлотой (ретинизацией гумуса).
5. Показатели общей численности бактерий, длины актиномицетного мицелия и численности сапротрофных бактерий были ниже, чем в почвах умеренного пояса и сравнимы с аналогичными показателями почв оазисов Восточной Антарктиды.

6.Литература

1. Экологическая реставрация в Арктике: обзор международного и российского опыта (под редакцией Т.Ю. Минаевой). – Сыктывкар – Нарьян-Мар, 2016. С. 254.
2. Franz Josef Land (editor: Susan Barr), Oslo, 1995. С. 8-15.
3. Зимов С.А. Мамонтовые степи и будущее климата // Журн. Наука в России. 2007 №5 (161). С. 105-112.
4. Строганова М. Н. Почвы и почвенный покров мира: география и экология; с тест-задачами. Учебное электронное пособие. Москва, 2008.
5. Звягинцев Д.Г., Добровольская Т.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М., Лысак Л.В., Полянская Л.М., Чернов И.Ю. Структурно-функциональная организация микробных сообществ. Экология в России на рубеже XXI века (наземные экосистемы). М.: Научный Мир, 1999, с. 147-180.
6. Добровольская Т.Г. Структура бактериальных сообществ почв. М.: ИКЦ «Академкнига», 2002. С.282.
7. . Мишустин Е.Н. Ассоциации почвенных микроорганизмов. М.: Наука. 1975.С.106.
8. Заварзин Г.А. Микробная биогеография // Журн. общ. Биологии. 1994. Т. 55. №5. С. 579-599.
9. Лысак Л.В., Добровольская Т.Г., Скворцова И.Н. Методы оценки бактериального разнообразия почв и идентификации почвенных бактерий. М.: МАКС Пресс. 2003. С.120.
10. Чернов И.Ю. Микробное разнообразие: новые возможности старого метода// Микробиология. 1997. Том 66. №1. С. 107-113.
11. Schmidt N., Bölter M. Fungal and bacterial biomass in tundra soils along an arctic transect from Taimyr Peninsula, central Siberia // Polar Biology, 2002. Pp 871-877.
12. Viable microorganisms in permafrost (edited by D. Gilichinsky). Pushchino, 1994.
13. Friedman E.I., 1994. Permafrost as microbial habitat, in: Microorganisms in Permafrost, Rus. Acad. Sci., Puschino, pp. 21–26
14. McGrath, J., Wagener, S., and Gilichinsky D. (1994) Cryobiological studies of ancient microorganisms isolated from Siberian permafrost, in Viable Microorganisms in Permafrost, Gilichinsky, D., Ed., Puschino Press, Puschino, Russia, pp. 48–67.

15. Ежов О.Н., Гаврило М.В., Змитрович М.В. Грибы архипелага Земля Франца-Иосифа // Труды Кольского научного центра РАН. 2014. №4 (23).
16. Кирцидели И.Ю. Микроскопические грибы в почвах острова Хейса (Земля Франца-Иосифа) // Новости сист. низш. раст. 2015. №49. С. 151-160.
17. Liebner S., Wagner D., Harder J. Bacteria diversity and community structure in polygonal tundra soils from Samoylov island, Lena delta, Siberia // International Microbiology. 2008. Т. 11. № 3. С. 195-202.
18. Kao-Kniffin J., Carver S.M., Woodcroft B.J., Handelsman J., Bockheim J.G., Tyson G.W., Hinkel K.M., Mueller C.W. Archaeal and bacterial communities cross a chronrsequence of drained lake basins in Arctic Alaska // Scientific Reports. 2015. Т. 5. С. 18165.
19. https://www.rutraveller.ru/place/100192
20. https://www.rutraveller.ru/place/47582
21. https://www.rutraveller.ru/place/62717
22. https://www.rutraveller.ru/place/69617
23. http://www.krugosvet.ru/enc/Earth_sciences/geologiya/TIPI_POCHV.html