

МИКРОБИОМ СУПРАГЛЯЦИАЛЬНЫХ СИСТЕМ НА ЛЕДНИКАХ АЛЬДЕГОНДА И БЕРТЕЛЬ (О. ЗАПАДНЫЙ ШПИЦБЕРГЕН)

© 2024 г. Д. А. Никитин^{a, b, *} (<http://orcid.org/0000-0002-8533-6536>), Л. В. Лысак^c,
Э. П. Зазовская^{b, d}, Н. С. Мергелов^b, С. В. Горячкин^b

^aПочвенный институт им. В.В. Докучаева, Пыжевский пер., 7 стр. 2, Москва, 119017 Россия

^bИнститут географии РАН, Старомонетный пер., 29, стр. 4, Москва, 119017 Россия

^cМГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, стр.12, Москва, 119991 Россия

^dЦентр прикладных изотопных исследований, Университет штата Джорджия-Атенс,
Ривербенд роэд, 120, Атенс, GA3060 США

*e-mail: dimnik90@mail.ru

Поступила в редакцию 18.07.2023 г.

После доработки 30.10.2023 г.

Принята к публикации 31.10.2023 г.

Изучена микробная биомасса, разнообразие культивируемых бактерий и микромицетов, а также численность функциональных генов цикла азота в супрагляциальных системах ледников Альдегонда и Бертель. Биомасса микроорганизмов варьировала от 2.54 до 722 мкг/г субстрата. Впервые показано, что большая часть (78.7–99.8%) микробной биомассы супрагляциальных объектов представлена грибами, а не прокариотами. Основную часть (от 70 до 90%) биомассы грибов составлял мицелий, длина которого изменялась от 6.70 до 537.51 м/г субстрата. Численность прокариот варьировала от 2.4×10^8 до 1.95×10^9 кл./г субстрата. Длина мицелия актиномицетов изменялась от 2.6 до 62.61 м/г субстрата. Численность культивируемых бактерий и актиномицетов варьировала от 3.3×10^4 до 1.2×10^6 КОЕ/г субстрата, а микромицетов – от 2.2×10^1 до 1.7×10^4 КОЕ/г субстрата. Доминировали бактерии родов *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Rhodococcus* и *Streptomyces*, а также микромицеты родов *Antarctomyces*, *Cadophora*, *Hyphozyma*, *Teberdinia*, *Thelebolus*. Микромицеты *Antarctomyces psychrotrophicus*, *Hyphozyma variabilis* и *Teberdinia hygrophila* обнаружены на Шпицбергене впервые. Численность генов *amoA* окисляющих аммоний бактерий варьировала от 5.33×10^6 до 4.86×10^9 ; генов азотфиксации *nifH* – от 9.89×10^7 до 9.81×10^{10} ; генов денитрификации *nirK* – от 4.82×10^7 до 3.34×10^{10} копий генов/г субстрата. Полученные результаты косвенно свидетельствуют о ведущей роли грибов в микробиоме супрагляциальных объектов Шпицбергена и значительном вкладе прокариот в эмиссию из них парниковых газов.

Ключевые слова: Высокая Арктика, биомасса микроорганизмов, численность КОЕ, микроскопические грибы, бактерии, актиномицеты, функциональные гены цикла азота

DOI: 10.31857/S0032180X24040048, **EDN:** WSPTSG

ВВЕДЕНИЕ

Высокая Арктика – территория с чрезвычайно хрупкими экосистемами, где в наибольшей степени проявляются последствия глобального изменения климата [75]. Это в полной мере относится к ледникам, которые рассматривают как отдельный сложноорганизованный биом [35]. На Шпицбергене ежегодная потеря массы ледников ускоряется [62, 92] и за период 2000–2019 гг. составила 8 ± 6 Гт в год [79]. Этот процесс оказывает сильное влияние на перигляциальные и супрагляциальную экосистему отступающих ледников, в которой доминируют микробные сообщества [18].

Среди образований супрагляциальной зоны особое место занимают криокониты – тонкодисперсные органо-минеральные седименты, часто микробно-преобразованные, обогащенные органическим веществом (ОВ), имеющие гранулярную структуру и ускоряющие абляцию за счет темного цвета [18, 67, 77, 80, 86]. Благодаря высокому содержанию биогенных элементов, разнообразному составу минеральных компонентов, их тесному взаимодействию и биогенной агрегации криоконитовый материал приобретает признаки почвоподобного тела, а при сходе с ледника и переотложении в перигляциальной зоне может создавать

благоприятные условия для почвообразования [4, 5, 7, 18, 33, 69, 71]. Другая группа супрагляциальных объектов – метастабильные шарообразные подушки мхов, так называемые “ледниковые мышкы” [1], которые прикрепляются к скоплениям криоконита или материалу абляционной морены и при взаимодействии с мелкоземом образуют почвы с микропрофилем [18].

Информация о микробиоме органо-минеральных тел супрагляциальной зоны продолжает накапливаться. Пока по данным объектам выполнено мало исследований молекулярно-биологическими методами секвенирования рДНК [56, 80, 96], а изучение экологии микробиомов развивается [96].

Основными первичными продуцентами ОБ супрагляциальной зоны являются водоросли [56, 85], функционирование которых в снегу и льду подробно изучено [50]. Гораздо меньше информации по биомассе и структуре гетеротрофного гидролитического блока микроорганизмов супрагляциальных тел, которые участвуют как в минерализации, так и стабилизации трансформированного ОБ [71], а также поддерживают сбалансированное функционирование биокосных систем на ледниках. Считается, что среди микробных гетеротрофов в криоконитах преобладают бактерии [40, 45, 70]. Микобиота данных объектов изучена в меньшей степени [45, 46, 56, 82], хотя известно, что в криоконитах доминируют дрожжи, а не мицелиальные грибы [82]. На примере ледника Мидре-Ловенбрен (о. Западный Шпицберген) было показано, что большая часть штаммов грибов в криоконите психрофильна и продуцирует гидролазы, активные при температурах около нуля [82]. Это доказывает, что микобиота может активно участвовать в разложении ОБ на ледниках. Для почв известно, что грибы выступают основными деструкторами ОБ [97], а их биомасса (особенно мицелия) преобладает над биомассой прокариот [19, 23, 27, 29, 72]. Сведения о соотношении биомассы микобиоты и прокариот в органо-минеральных телах на ледниках, а также о вкладе в биомассу мицелиальных форм грибов и актинобактерий фрагментарны и практически не систематизированы. В целом для различных компонентов экосистем Высокой Арктики пока мало работ по оценке микробной биомассы, в том числе на Шпицбергене [12, 36, 59]. Практически все такие исследования выполнены с использованием не прямых методов люминесцентной микроскопии, а методами флуориметрии-экстракции [36] или профилей PLFA [59].

В последнее время появились данные о пространственной стратификации микробных сообществ в супрагляциальном материале даже на микроуровне [80], что влияет на различные этапы цикла азота при преобразовании ОБ на ледниках. Для лучшего понимания этого процесса необходима оценка числа генов, кодирующих

ферментативный комплекс для азотфиксации (*nifH* – нитрогеназа), нитрификации (*amoA* – аммоний оксигеназа) и денитрификации (*nirK* – нитритредуктаза). Маловероятно, что условия на самом леднике позволяют процессам трансформации N-содержащих соединений достичь оптимальной интенсивности, однако численность функциональных генов цикла азота в криоконите может иметь важное значение при переотложении материала в более теплых почвах перигляциальной зоны [40].

Цель работы – исследование структуры микробной биомассы, численности и таксономического разнообразия культивируемых бактерий и микромицетов, а также числа функциональных генов цикла азота в супрагляциальных и перигляциальных органо-минеральных системах ледников Альдегонда и Бертель на о. Западный Шпицберген.

Выдвинули следующие рабочие гипотезы:

- структура сообщества микроорганизмов существенно меняется в зависимости от условий формирования и стабильности субстрата в ряду от инситу криоконита в стаканах протаивания до переотложенного криоконита на леднике и за его пределами;

- мицелиальные микроорганизмы (грибы и актиномицеты) занимают доминирующие позиции в составе гидролитического блока микробиома в переотложенном аэрируемом криоконите и перигляциальных почвах, а одноклеточные прокариоты – в инситу криоконите в стаканах протаивания с талой водой. Эта гипотеза основана на том, что гифальная организация позволяет микроорганизмам более успешно колонизировать гетерогенные субстраты с множеством микрон (например, почву и почвоподобные тела), по сравнению с одноклеточными про- и эукариотами, которые лучше адаптированы к гомогенной среде локусов, богатых водой [43].

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Полевые исследования и отбор образцов проводили в 2019 и 2020 гг. Объекты исследования расположены на ледниках Альдегонда и Бертель о. Западный Шпицберген, ключевые точки которых представлены на рис. 1.

Образцы в полевых условиях отбирали методом усреднения пяти единичных проб. Предназначенные для микробиологических исследований образцы хранили в стерильных емкостях при температуре –18°C сначала в морозильной камере, а затем в лаборатории.

Содержание углерода и азота определяли методом сухого сжигания на CNSH-анализаторе Vario Isotope (Германия).

Координаты ключевых точек, описание и некоторые физико-химические свойства исследованных образцов представлены в табл. 1.

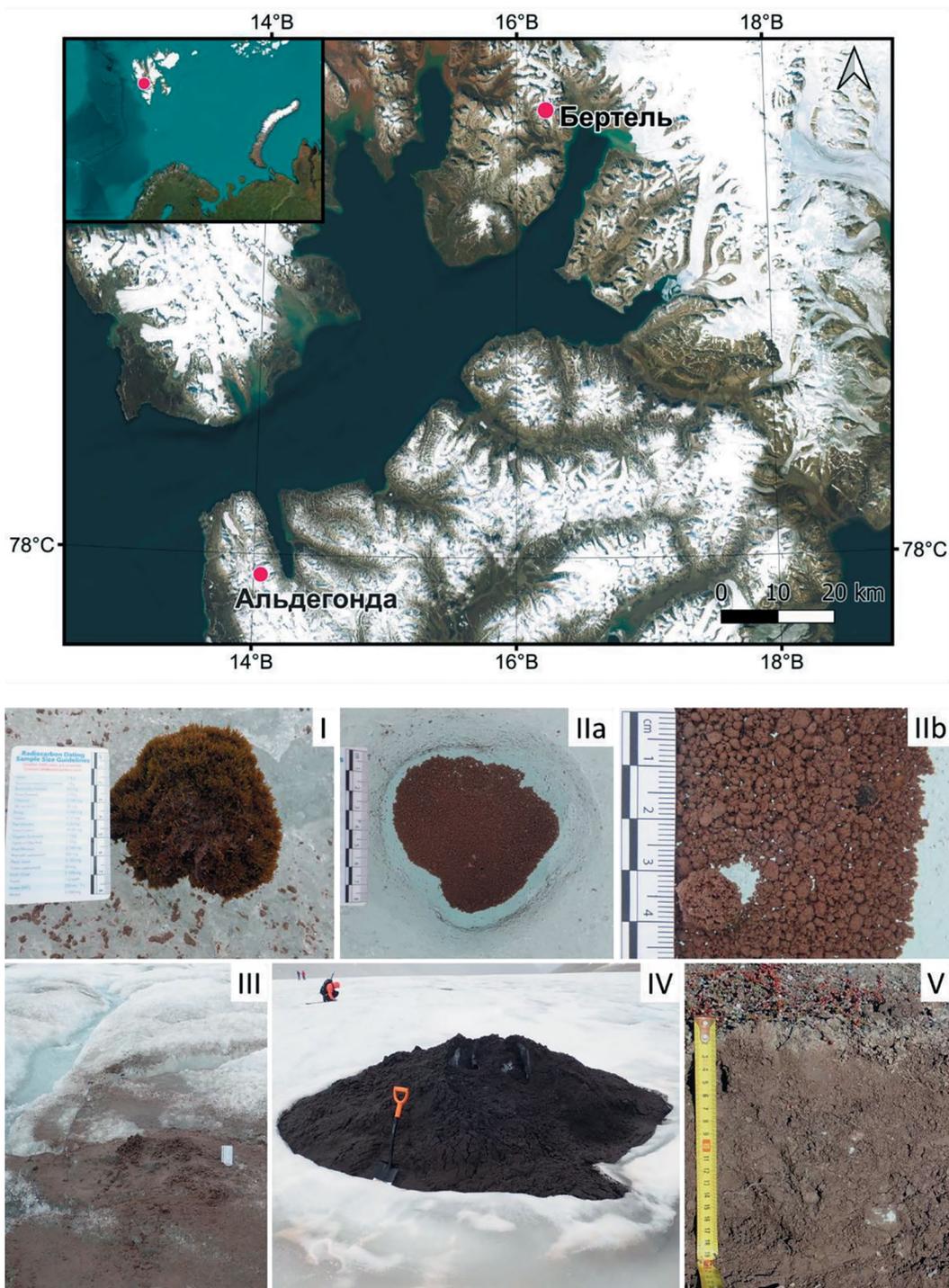


Рис. 1. Расположение ледников Бертель и Альдегонда на о. Западный Шпицберген, а также основные группы объектов исследования в супрагляциальной и ближней перигляциальной зонах ледников: I – шарообразная подушка мха на леднике (“ледниковая мышка”) с микропрофилем почвы; IIa – инситный криоконит в стаканах протаивания; IIb – биогенные гранулы криоконита на дне стакана протаивания; III – переотложенный дисперсный криоконит, структура биогенных гранул частично утрачена; IV – переотложенный криоконит, коническая форма с ледяным ядром, структура биогенных гранул сильно деградирована или утрачена; V – слаборазвитая почва (пелозем) на молодой морене с участием материала криоконита.

Таблица 1. Свойства исследованных криоконитов в ледниках Альдегонд и Бертель архипелага Шпицберген

Индекс образца	Ледник	Группа	Описание	C _{орг} , %	N _{общ} , %	C/N	
Супрагляциальная зона							
Pr2	Бертель	I. Почва с микропрофилем на леднике	Шарообразная подушка мха с микропрофилем первичной почвы (“ледниковая мышка”), присутствуют гранулы криоконита	11.34	0.70	19	
Pr5	Бертель	II. Инситный криоконит в стаканах протаивания	Биогенные гранулы из нескольких стаканов протаивания на краю водотока	2.56	0.19	16	
Pr6	Бертель		Биогенные гранулы из нескольких стаканов протаивания	2.68	0.18	17	
Pr7	Бертель		Биогенные гранулы из нескольких стаканов протаивания на краю водотока	3.11	0.10	36	
Pr13	Бертель		Хорошо оформленные биогенные гранулы на дне стакана протаивания	3.98	0.03	155	
A19-7	Альдегонда	III. Переотложенный дисперсный криоконит	Скопление хорошо оформленных биогенных гранул	2.73	0.15	21	
A19-8	Альдегонда		Биогенные гранулы в стакане протаивания с большим количеством минерального окисленного материала	2.67	0.15	21	
Pr4	Бертель		Криоконит локально перемещен вследствие недавнего разрушения стаканов протаивания и формирования талого водотока, структура биогенных гранул частично сохранена	1.87	0.12	18	
Pr8	Бертель		Крупное скопление криоконитового материала, в том числе вытаявшего из нескольких мелких стаканов, структура биогенных гранул частично утрачена	1.56	0.11	17	
Pr9	Бертель		Крупное скопление криоконита, структура биогенных гранул частично утрачена	1.86	0.16	14	
A19-1	Альдегонда		Полоса вытаявшего криоконита, основной материал крупнозернистый песок, есть признаки оструктурирования тонкодисперсного материала	1.1	0.10	13	
A19-2	Альдегонда		Центральная часть ледника, скопление криоконита по трещине, структура биогенных гранул частично утрачена	1.73	0.19	11	
Pr12	Бертель		IV. Переотложенный криоконит, коническая форма с ледяным ядром	Крупное скопление криоконита, структура биогенных гранул сильно деградирована или утрачена	2.63	0.17	18
Ближняя перигляциальная зона							
Pr28	Бертель		V. Слаборазвитая почва на морене с участием материала криоконита	Пелозем на молодой морене со значительным участием материала переотложенного криоконита, глубина отбора 0–10 см, присутствуют сосудистые растения	1.13	0.04	33
A19-11	Альдегонда			Пелозем на 20-летней морене со значительным участием материала переотложенного криоконита, глубина отбора 5–10 см	1.48	0.13	13

Биомасса прокариот. Общая численность прокариот определена с помощью метода прямой микроскопии с использованием люминесцентного микроскопа Zeiss Axioskop 2 plus (Carl Zeiss, Германия) (объектив $\times 100$, масляная иммерсия). Данный метод сводится к тому, что приготовленные из почвенной суспензии препараты окрашиваются красителем акридином оранжевым [8]. 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 ультразвуковой диспергатор УДНЗ-1 (2 мин, 22 кГц, 0,44 А) (Россия). Последующую окраску препаратов акридином оранжевым проводилась по следующей методике [8]: 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 : 10 000, 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:

$$N = S_1 a n / V S_2 C,$$

где N – число клеток на 1 г субстрата; S_1 – 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); S_2 – площадь поля зрения микроскопа (мкм²); C – навеска субстрата (1 г). Длину актиномицетного мицелия в 1 г образца (NMA) определяли по формуле:

$$NMA = S_1 a n / v S_2 c \times 10^6,$$

где S_1 – 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); S_2 – площадь поля зрения микроскопа (мкм²); c – навеска образца (г).

Биомасса грибов. Численность грибных пропагул и длину грибного мицелия определяли методом люминесцентной микроскопии на микроскопе Zeiss Axioskop 2 plus (Германия) при увеличении 400. Препараты почвенной суспензии (разведение 1 : 100) окрашивали флуоресцентным красителем калькофлуором белым [8]. Десорбцию клеток с почвы проводили при помощи вортекса MSV-3500 (Латвия) при скорости 3500 об./мин в течение 10 мин. На стекло наносили 10 мкл суспензии и распределяли по площади 2×2 см², затем стекло фиксировали в пламени горелки и окрашивали калькофлуором белым (в соотношении красителя

и воды 1 : 10000, 15–20 мин) непосредственно перед просмотром под микроскопом с УФ-источником света. Из каждого образца готовили 3 препарата, на каждом из которых подсчитывали клетки в 90 полях зрения. Расчет количества грибных клеток на 1 г субстрата производили по формуле:

$$M = ((4a n) / p) \times 10^{10},$$

где M – количество клеток в 1 г почвы; a – среднее число клеток в поле зрения; p – площадь поля зрения (мкм²); n – показатель разведения. Длину грибного мицелия в 1 г образца (NMA) определяли по формуле:

$$NMA = S_1 a n / v S_2 c \times 10^6,$$

где S_1 – площадь препарата (мкм²); a – средняя длина фрагментов мицелия в поле зрения (мкм); n – показатель разведения суспензии (мл); v – объем капли, наносимой на стекло (мл); S_2 – площадь поля зрения микроскопа (мкм²); c – навеска образца (г). Расчет грибной биомассы (мг/г почвы) проводили, полагая, что плотность спор равна 0,837 г/см³, а плотность мицелия – 0,628 г/см³ [27].

Определение численности и таксономической структуры комплекса культивируемых сапротрофных бактерий проводили на агаризованной глюкозо-пептонно-дрожжевой среде с нистатином [16]. Посев для учета численности бактерий и актиномицетов проводили из разведений 1 : 100, 1 : 1000 в трехкратной повторности после обработки почвенной суспензии на приборе УЗДН1 (22 кГц, 0,44А, 2 мин) (Россия) для десорбции клеток с поверхности почвенных частиц [8]. Посевы для учета численности бактерий и актиномицетов инкубировали при комнатной температуре. Учет бактерий осуществляли на 10–14 сут, а для актиномицетов – на 14–21 сут. Представителей основных морфотипов изолировали на скошенный агар и идентифицировали по общепринятым определителям [16, 30]. Выделяли следующие группы по относительному обилию родов [15]: доминанты (>30%), субдоминанты (20–30%), группа среднего обилия (10–20%) и минорные компоненты (<10%).

Численность и таксономический состав культивируемых микромицетов определяли методом глубинного микробиологического посева [8], при котором высокая температура среды стимулирует развитие покоящихся пропагул, тем самым увеличивая разнообразие культивируемых форм [14]. Для этого почвенную суспензию перед посевом обрабатывали с помощью шейкера Vortex (Латвия) в течение 5 мин при 3500 об./мин. Аликвоту 100 мкл суспензии почвы с разведением 1 : 100 помещали на дно стерильных чашек Петри, в которые заливали расплавленную и охлажденную до +50°C среду Чапека с добавлением стрептомицина

(100 мг/л) для предотвращения роста бактерий. Инкубацию посевов проводили в термостатах при температуре +25°C в течение 2–3 недель, а также при +5°C в течение 3–4 недель, чтобы дополнительно выделить психротолерантные виды микроорганизмов и дрожжей [49]. Посев осуществляли в пятикратной повторности для каждого образца при каждой температуре инкубации. По прошествии вышеуказанного времени инкубации производили учет общего числа колоний мицелиальных грибов и дрожжей, а также их первичную идентификацию по макро- и микрокультуральным признакам (микроскоп Биомед-5 (Россия)) с помощью определителей [44, 81].

Для изолятов микроскопических грибов неясного таксономического положения и стерильного мицелия идентификацию проводили на основании анализа участков ITS1–ITS2 гена рДНК. Выделение ДНК из чистых культур микроорганизмов осуществляли по методике [6]: биомассу 5–6-суточной культуры переносили в 2 мл эппендорфы, добавляли 400 мкл стеклянных шариков (300–500 мкм диаметром) и 500 мкл лизирующего буфера (TrisBase 50 мМ, NaCl 250 мМ, ЭДТА 50 мМ, SDS 0.3%, pH 8). Приготовленную смесь взбалтывали на вортексе на скорости 3500 об./мин в течение 15 мин, затем инкубировали 1 ч при температуре +65°C, после снова использовали шейкер 15 мин и центрифугировали (13.4 об./мин) 10 мин, отбирали надосадочную жидкость. Для амплификации региона рДНК, содержащего D1/D2 домена региона 26S рДНК, использовали праймеры ITS1f (5' CTTGGTCAATTTAGAGGAAGTA) и NL4 (5' GGTCCGTGTTTCAAGACGG) и смеси для ПЦР ScreenMix (ЗАО “Евроген”, Москва). Амплификатор использовали по следующей программе: начальная денатурация – 2 мин при температуре +96°C; затем 35 циклов: денатурация – 20 с при температуре +96°C, отжиг праймеров – 50 с при температуре +52°C, синтез ДНК – 1.5 мин при температуре +72°C; конечная достройка 7 мин при температуре +72°C. Очистку ПЦР-продукта проводили с использованием набора BigDye X Terminator Purification Kit (Applied Biosystems, USA). Для секвенирования использовали праймер NL4. Секвенирование ДНК проводили с помощью набора реактивов BigDye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystem, USA) с последующим анализом продуктов реакции на секвенаторе Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer в Научно-производственной компании Синтол (Москва). Идентификацию по полученным хроматограммам проводили, используя данные генбанка NCBI и SABI Bioscience Database Index Fungorum.

Общее α -разнообразие грибных сообществ оценивали по индексу Шеннона. Статистическую обработку данных проводили с помощью программ Microsoft Office Excel 2019 и Statistica 10.0.

Выделение ДНК для анализа на присутствие генов целевых ферментов из супрагляциальных систем проводили, не допуская размораживания образцов, выполняя все манипуляции на льду. Препарат ДНК из образца массой 0.5 г выделяли в соответствии с методикой производителя при помощи набора реактивов (FastDNA spin kit for soil, Qbiogene, Канада). Выделенный препарат ДНК растворяли в 50 мкл дистиллированной воды. Дальнейшую очистку производили с помощью коммерческого набора реактивов (UltraClean 15 DNA purification Kit, MoBio, Канада).

Количественный анализ ПЦР-продуктов проводили для количественной оценки численности генов цикла азота. Определяли численность генов, кодирующих ключевые ферменты процессов *nifH*, *amoA*, *nirK* согласно протоколу [41, 98]. Использовали наборы праймеров, описанные в табл. 2. Все реакции проводили в амплификаторе C1000 с системой реального времени CFX96 (Bio-Rad Laboratories, США). Смесь для количественной ПЦР содержала 10 мкл 2X концентрированного мастермикса для количественной ПЦР BioMaster HS-qPCR SYBR Blue (BioLabs, Россия), 0.5–0.8 мкМ каждого праймера и 1 мкл экстрагированной почвенной ДНК-матрицы в общем объеме 20 мкл. Оценку количества копий исходного гена проводили в CFX Manager. Программа работы амплификатора следующая: 3 мин при 95°C, затем 40 циклов при 95°C в течение 20 с, 54°C в течение 20 с и 72°C в течение 20 с. Для обеспечения количественной специфичности ПЦР проводили анализ кривой плавления (от 65 до 95°C с шагом 0.5°C). Стандартные кривые в трех экземплярах варьировали от 10^3 до 10^8 число копий гена/мкл. Стандарты были получены путем очистки продуктов ПЦР и количественного определения концентрации с помощью флуорометра Qubit 2 (Thermo Fisher Scientific, США). Контрольные организмы (за исключением гена *amoA*) для построения стандартных кривых для продуктов ПЦР описаны в табл. 2. Эффективность количественной ПЦР составляла 82–101%, а коэффициенты детерминации были $R^2 > 0.90$ для всех стандартных кривых.

Анализ продуктов ПЦР проводили в 1.0%-ном агарозном геле, окрашенном бромистым этидием до концентрации 1 мкг/мл. Электрофорез в денатурирующем геле (ДГГЭ). ДГГЭ-анализ состава сообщества аммонийокисляющих архей выполняли в соответствии с методом [91]. Сообщество аммонийокисляющих бактерий было охарактеризовано с помощью ДГГЭ анализа фрагментов гена *amoA* в соответствии с методикой [48]. Продукты амплификации фрагментов гена *amoA* аммонийокисляющих бактерий содержали GC кламп на нуклеотидных последовательностях праймера *amoA-1F* (*amoA-1F-GC*) и *amoA-2R-GG*. Поскольку ДГГЭ анализ функционального гена *amoA* аммонийокисляющих архей возможен без наличия GC клампа,

Таблица 2. Информация о праймерах и стандартах для количественной ПЦР [97]

Целевая группа или процесс	Целевой ген	Название праймера	Сиквенс праймера	Чистая культура микроорганизма – источник целевого гена
Бактерии	16S рPHK	Eub358 Eub518	ACTCCTACGGGAGGCAGCAG ATTACCGCGGCTGCTGG	<i>Escherichia coli</i>
Археи	16S рPHK	915f 1059r	AGGAA TTGGC GGGGG AGCAC GCCAT GCACC WCCTC T	Штамм FG-07 <i>Halobacterium salinarum</i>
Грибы	ITS	ITS1f 5.8s	TCC GTA GGT GAA CCT GCG G CGC TGC GTT GTT CAT CG	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Meyen 1B-D1606
Азотфиксация	<i>nifH</i>	PolF PolR	TGC GAY CCS AAR GCB GAC TC ATS GCC ATC ATY TCR CCG GA	<i>Sinorhizobium meliloti</i>
Нитрификация	Бактериальный <i>amoA</i>	amoA-1F amoA-2R	GGGGTTTCTACTGGTGGT CCCCTCKGSAAGCCTTCTTC	Стандарты, синтезированные с помощью ПЦР амплификации из гена <i>amoA</i> , экстрагированного из тотальной почвенной ДНК
Денитрификация	<i>nirK</i>	nirK876 nirK1040	ATY GGC GGV CAY GGC GA GCC TCG ATC AGR TTR TGG TT	<i>Sinorhizobium meliloti</i>

использовали ПЦР продукты, полученные непосредственно после амплификации с праймерами CrenamoA23f и CrenamoA616r.

ДГГЭ анализ выполняли с использованием приборов DCode Universal Mutation Detection System (Bio-Rad, Hertfordshire, Великобритания) в соответствии с [91]. Для ДГГЭ анализа использовали гели, содержащие 8% (масса/объем) полиакриламида при разных значениях линейного градиента денатуранта (40–60% для фрагментов гена *amoA* аммоний окисляющих бактерий и 15–60% для фрагмента гена *amoA* аммоний окисляющих архей). Были заданы следующие условия проведения анализа ДГГЭ: электрофорез в 6.5 л буфера TAE при температуре 60°C в течение 900 мин и напряжении 100 В. Дальнейшее окрашивание нитратом серебра выполняли согласно [91], сканирование производили с использованием сканера Epson GT9600. Количество Rf и плотность ДГГЭ полос определяли с помощью программы Quantity one (Version 4.5.0, Bio-Rad production) и Форетикс (Phoretix International, Newcastle-Upon-Tyne, UK).

Статистическую обработку данных (определение среднего арифметического, дисперсии, моды и медианы) проводили с помощью программ Microsoft Office Excel 2019 и Statistica 10.0. Количество повторностей составляет: 90 полей зрения для каждого из трех препаратов на один образец для метода люминесцентной микроскопии; три чашки Петри на образец для метода микробиологического посева; трехкратная для выделения ДНК и количественной ПЦР.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Суммарная биомасса микроорганизмов (грибов и бактерий) составляла от 2.54 мкг/г субстрата в слаборазвитой почве, сформированной на морене с участием криоконитового материала (образец Pr28), до 722.0 мкг/г субстрата в образце инситного криоконита в стакане протаивания (образец Pr7) (рис. 2). Для образцов инситного (Pr4, Pr5, A19-1, A19-2 и A19-8) биомасса микроорганизмов составляла десятки мкг/г субстрата, а для образцов Pr6, Pr7, Pr8, Pr9, Pr12, Pr13, A19-7 и A19-11 – сотни мкг/г субстрата. В целом наблюдалась тенденция уменьшения суммарной микробной биомассы в ряду: группа I почва с микропрофилем на леднике > группа V слаборазвитая почва на морене > группа IV переотложенный криоконит конической формы > группа III переотложенный дисперсный криоконит > группа II инситный криоконит в стаканах протаивания.

Доля микобиоты в общей микробной биомассе варьировала от 78.7 до 99.8%. Минимальная доля грибов (78.7–92.0%) выявлена в образцах Pr2, Pr4, Pr5, Pr28 и A19-9, а максимальная (97.2–99.8%) – в образцах Pr6, Pr7, Pr8, Pr9, Pr12, Pr13, A19-1, A19-2, A19-7 и A19-11.

Структура биомассы грибов. Значения биомассы микобиоты в исследованных криоконитах варьировали от сотых долей мг/г субстрата в Pr7, Pr9, Pr13, Pr28, A19-1, A19-2, A19-8 до десятых долей мг/г субстрата в Pr2, Pr4, Pr5, Pr6, Pr8, Pr12, A19-7, A19-11. Минимум грибов (0.020 мг/г субстрата) обнару-

жен в почве на криоконитовом материале с растительностью (образец Pr28), а максимум микобиоты (0.719 мг/г субстрата) — на материале на границе водораздела ледника и грязной зоны (табл. 3).

Доля мицелия в изученных образцах изменялась в широких пределах: от 31.3% в переотложенном дисперсном криоконите с ледника Альдегонда (образец A19-1) до 94.4% в образце инситного криоконита в стакане протаивания (образец Pr7). Однако для большинства образцов доля грибного

мицелия была относительно высока — от 70 до 90%. Минимум мицелия (6.70 м/г субстрата) обнаружен в криоконите из стакана (образец Pr13), а максимум — в материале на границе водораздела ледника и грязной зоны, где длина гиф достигает 537.51 м/г субстрата. Образцы Pr2, Pr4, Pr5, Pr6, Pr7, Pr12, A19-11 содержали сотни метров мицелия в грамме субстрата; образцы Pr8, A19-1, A19-2 и A19-7 — десятки метров мицелия в грамме субстрата; а образцы Pr9, Pr13, Pr28, A19-8 — единицы метров

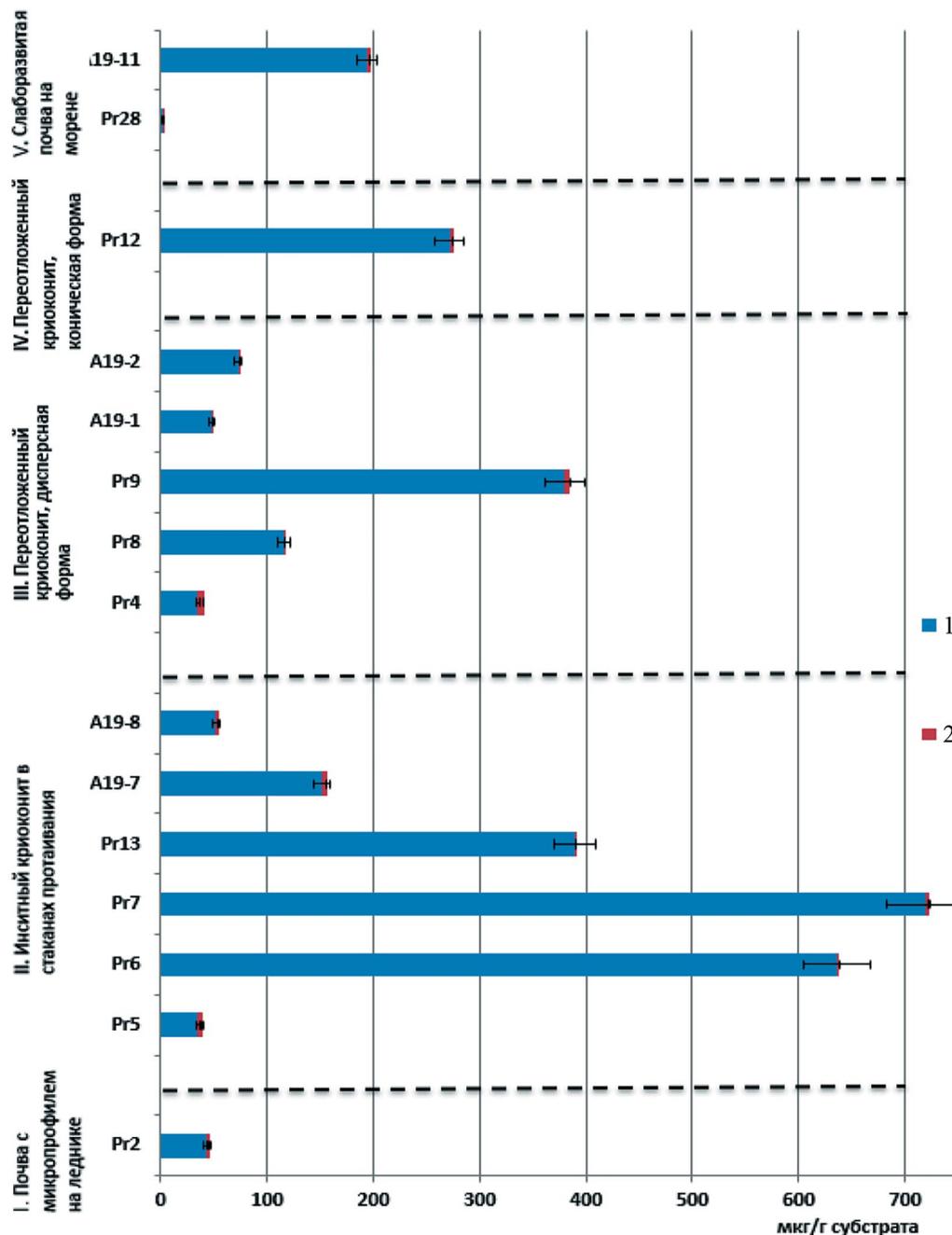


Рис. 2. Общая биомасса микроорганизмов: 1 — микобиоты, 2 — прокариот.

Таблица 3. Структура биомассы грибов

Индекс образца	Ледник	Группа	Мицелий (d = 3 мкм)			Споры (диаметр, мкм)						Общая биомасса спор, мг/г субстрата	Доля мелких (2-3 мкм) спор по массе, %	Суммарная биомасса грибов, мкг/г субстрата		
			биомасса, мг/г	длина, м	доля мицелия в общей биомассе, %	2		3		5					7	
						численность, шт./г × 10 ⁴	масса, мг/г	численность, шт./г × 10 ⁴	масса, мг/г	численность, шт./г × 10 ³	масса, мг/г				численность, шт./г × 10 ³	масса, мг/г
Рг2	Бертель	I. Почва с микропрофилем на леднике	0.299 ± 0.034	236.74 ± 15.8	70.4	6.47 ± 0.89	0.022 ± 0.005	0.97 ± 0.13	0.011 ± 0.002	Нет	Нет	0.87 ± 0.14	0.093 ± 0.015	0.126 ± 0.022	26.2	0.425 ± 0.073
Рг5	Бертель	II. Инситный криоконит в стаканах протаивания	0.307 ± 0.035	243.07 ± 16.22	88.2	1.91 ± 0.26	0.007 ± 0.001	2.10 ± 0.29	0.024 ± 0.005	1.04 ± 0.18	0.010 ± 0.002	Нет	—	0.041 ± 0.008	75.6	0.348 ± 0.060
Рг6	Бертель		0.558 ± 0.064	441.85 ± 29.49	87.7	1.11 ± 0.15	0.004	6.47 ± 0.89	0.075 ± 0.013	Нет	—	Нет	—	0.079 ±	100	0.636 ± 0.109
Рг7	Бертель		0.679 ± 0.078	537.51 ± 35.87	94.4	1.71 ± 0.23	0.006	2.91 ± 0.40	0.034 ± 0.007	Нет	—	Нет	—	0.040 ± 0.008	100	0.719 ± 0.124
Рг13	Бертель		0.008 ± 0.001	6.70 ± 0.45	20.5	1.62 ± 0.22	0.005	2.27 ± 0.31	0.026 ± 0.005	Нет	—	Нет	—	0.031 ± 0.006	100	0.039 ± 0.007
А19-7	Альдегонда		0.105 ± 0.012	83.41 ± 5.57	69.1	1.11 ± 0.15	0.004	2.27 ± 0.31	0.026 ± 0.005	1.75 ± 0.30	0.017 ± 0.003	Нет	—	0.047 ± 0.009	63.8	0.152 ± 0.026
А19-8	Альдегонда		—	Нет	—	0.51 ± 0.07	0.002	4.21 ± 0.57	0.049 ± 0.007	Нет	—	Нет	—	0.051 ± 0.010	100	0.051 ± 0.010
Рг4	Бертель	III. Переохлажденный дисперсный криоконит	0.305 ± 0.035	241.21 ± 16.10	86.4	3.02 ± 0.41	0.010 ± 0.002	3.24 ± 0.45	0.038 ± 0.006	Нет	—	Нет	—	0.048 ± 0.009	100	0.353 ± 0.061
Рг8	Бертель		0.101 ± 0.012	79.66 ± 5.32	87.1	2.26 ± 0.31	0.007 ± 0.002	0.65 ± 0.089	0.008 ± 0.001	Нет	—	Нет	—	0.015 ± 0.003	100	0.116 ± 0.020
Рг9	Бертель		—	Нет	—	1.31 ± 0.18	0.004	2.92 ± 0.40	0.034 ± 0.007	Нет	—	Нет	—	0.038 ± 0.007	100	0.038 ± 0.007
А19-1	Альдегонда		0.015 ± 0.002	11.73 ± 0.78	31.3	0.61 ± 0.84	0.002	1.94 ± 0.27	0.023 ± 0.004	0.88 ± 0.15	0.008 ± 0.001	Нет	—	0.033 ± 0.006	75.8	0.048 ± 0.009
А19-2	Альдегонда		0.067 ±	53.25 ± 3.55	91.8	1.32 ± 0.18	0.004	0.15 ± 0.02	0.002	Нет	—	Нет	—	0.006 ± 0.001	100	0.073 ± 0.014
Рг12	Бертель	IV. Переохлажденный криоконит, коническая форма с ледяным ядром	0.202 ± 0.024	159.99 ± 10.7	72.7	1.01 ± 0.14	0.003	4.86 ± 0.67	0.056 ± 0.008	1.75 ± 0.30	0.017 ± 0.003	Нет	—	0.076 ± 0.014	77.6	0.278 ± 0.048
Рг28	Бертель	V. Слаборазвитая почва на морене с участием материка криоконита	—	Нет	—	1.42 ± 0.20	0.005	1.30 ± 0.18	0.015 ± 0.003	Нет	—	Нет	—	0.020 ± 0.004	100	0.020 ± 0.004
А19-11	Альдегонда		0.140 ± 0.017	110.96 ± 7.41	72.2	0.82 ± 0.11	0.003	4.21 ± 0.57	0.049 ± 0.007	0.35 ± 0.06	0.003	Нет	—	0.054 ± 0.010	96.3	0.194 ±

Примечание. Для каждого образца число повторностей (полей зрения) составляло 270. После знака ± указано стандартное отклонение.

мицелия в грамме субстрата или гифы грибов вовсе не были выявлены.

Численность одноклеточных грибных спор (спор и дрожжей) в изученных объектах составляла 10^3 – 10^4 кл./г субстрата. Пропагулы представлены 4 размерными группами – 2, 3, 5 и 7 мкм в диаметре. Доля мелких пропагул (2 и 3 мкм) изменялась от 26.2% в Pr2 до 96.3% в A19-11. В шести образцах (Pr4, Pr6, Pr7, Pr8, Pr9, Pr13, Pr28, A19-2, A19-8) доля мелких пропагул доходила до 100%. Крупные пропагулы диаметром 5 и 7 мкм выявлены в Pr2, Pr5, Pr12, A19-1, A19-7, A19-11, а их численность мала – 10^2 – 10^3 кл./г субстрата. Пропагулы диаметром 7 мкм отмечены лишь в Pr2. Около 86% пропагул округлой формы с гладкой поверхностью; 9% – округлы и шероховаты; 4% – овальные с гладкой поверхностью; 1% – имели овальную форму с неровностями.

Структура биомассы прокариот. Численность одноклеточных прокариот в исследованных объектах колебалась от сотен миллионов до миллиардов клеток в грамме субстрата (табл. 4). Наименьшие значения (2.4×10^8 кл./г субстрата) выявлены в образце A19-1, а наибольшие (1.95×10^9 и 1.96×10^9 кл./г субстрата) – в образцах A19-7 и A19-8 соответственно. Большая часть образцов характеризовалась количеством прокариот порядка 10^9 на грамм субстрата. Биомасса одноклеточных прокариот исследованных образцов составляла от 0.52 до 4.23 мкг/г субстрата. Наименьшие значения выявлены в группе V (слаборазвитая почва на морене с участием материала криоконита, образцы Pr28 и A19-1). Наибольшие показатели биомассы прокариот отмечены в группе II (инситный криоконит в стаканах протаивания, образцы A19-7 и A19-9). Биомасса прокариот в большинстве образцов представлена преимущественно (от 51.8 до 96.8%) одноклеточными формами.

Длина мицелия актиномицетов составляла от 2.6 до 62.61 м/г субстрата. Образцы Pr4, Pr5, Pr6, Pr7 (инситный криоконит в стаканах протаивания) содержали десятки метров актиномицетного мицелия на грамм субстрата; образцы Pr8, Pr9, Pr12, A19-7, A19-8 и A19-11 (переотложенный криоконит) – единицы метров актиномицетного мицелия на грамм субстрата; в некоторых образцах (Pr13, Pr28, A19-1 и A19-2) мицелий актиномицетов обнаружен не был.

В целом содержание биомассы прокариот было выше в образцах почвы с микропрофилем (Pr2, A9) и инситных криоконитах в стаканах протаивания (Pr5, Pr9, Pr12, A19-7).

Численность комплекса культивируемых сапротрофных бактерий в исследованных объектах Шпицбергена варьировала от 1.1×10^3 до 1.3×10^5 КОЕ/г субстрата (табл. 5). Минимальные показатели численности бактерий (около

10^3 КОЕ/г субстрата) зафиксированы в образцах ледника Альдегонда A19-1 и A19-11. Максимальное содержание бактерий выявлено в образце почвы с микропрофилем на леднике Pr2 (ледника Бертель). В целом численность культивируемых сапротрофных бактерий была выше в почве с микропрофилем на леднике Pr2 и биогенных гранулах из криоконитовых стаканов ледника Бертель (Pr5, Pr6, Pr7, Pr13).

Выделено 94 штамма сапротрофных прокариот, отнесенных к 17 родам бактерий. Грамположительные бактерии представлены 6 родами: *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Micromonospora*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*. Грамотрицательные бактерии представлены 11-ю родами: *Alcaligenes*, *Aquaspirillum*, *Caulobacter*, *Comamonas*, *Cytophaga*, *Mycococcus*, *Polyangium*, *Pseudomonas*, *Sporocytophaga*, *Xanthomonas*, *Xanthobacter*. В большинстве образцов доминировали бактерии рода *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Rhodococcus* и *Streptomyces*. В качестве субдоминантов выступали бактерии родов *Cytophaga*, *Mycococcus* и *Polyangium*. Группа среднего обилия и минорные компоненты представлены в основном грамотрицательными бактериями родов *Alcaligenes*, *Aquaspirillum*, *Caulobacter*, *Comamonas*, *Pseudomonas*, *Sporocytophaga*, *Xanthomonas*, *Xanthobacter*, а также грамположительными бактериями родов *Micrococcus*, *Micromonospora*, *Xanthomonas* и *Xanthobacter*. В образцах, относительно богатых органическим углеродом (Pr2 и Pr13), выявлено высокое разнообразие активных гидролитиков – *Cytophaga*, *Mycococcus*, *Polyangium*, *Sporocytophaga* и копитрофов – *Alcaligenes*, *Comamonas*, *Pseudomonas*, *Xanthobacter* и *Xanthomonas*. В образцах с относительно низким содержанием органического углерода (Pr28, A19-1 и A19-11) преобладали олиготрофы *Caulobacter*. В почве с микропрофилем на леднике доминировали бактерии *Arthrobacter* и актиномицеты *Streptomyces*; в инситном криоконите в стаканах протаивания – бактерии *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Rhodococcus* и актиномицеты *Streptomyces*; в переотложенном дисперсном криоконите – бактерии *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Rhodococcus*; в переотложенном криоконите конической формы – бактерии *Bacillus*; в слаборазвитой почве на морене – бактерии *Arthrobacter*, *Bacillus* и актиномицеты рода *Streptomyces*. В основном бактериальные доминанты представлены типичными почвенными родами: субдоминанты – гидролитиками, а группы среднего обилия и минорные компоненты – протеобактериями.

Численность и таксономический состав сообществ культивируемых микромицетов. Суммарная численность почвенных микромицетов на образец составляла от 2.2×10^1 до 1.7×10^4 КОЕ/г почвы (рис. 3). Наименьшие значения (порядка 10^1 КОЕ/г почвы) выявлены в образцах ледника Бертель – инситных криоконитах в стаканах протаивания; переотложенных дисперсных криоконитах; слаборазвитой

Таблица 4. Структура биомассы прокариот

Индекс образца	Ледник	Группа	Численность клеток прокариот, $\times 10^9$ кл./г	Биомасса одноклеточных прокариот, мкг/г субстрата	Длина актиномицетного мицелия, м/г	Биомасса актиномицетного мицелия, мкг/г	Доля мицелия в общей биомассе, %	Общая биомасса прокариот, мкг/г субстрата
Pr2	Бертель	I. Почва с микропрофилем на леднике	1.13 \pm 0.21	2.39 \pm 0.46	43.64 \pm 8.72	1.61 \pm 0.40	40.3	4.00 \pm 0.10
Pr5	Бертель	II. Инситный криоконит в стаканах протаивания	1.17 \pm 0.22	2.48 \pm 0.48	62.61 \pm 12.53	2.31 \pm 0.58	48.2	4.79 \pm 1.19
Pr6	Бертель		0.68 \pm 0.13	1.44 \pm 0.28	32.13 \pm 6.44	1.19 \pm 0.30	45.3	2.63 \pm 0.65
Pr7	Бертель		1.51 \pm 0.28	3.20 \pm 0.62	19.93 \pm 4.01	0.74 \pm 0.19	18.8	3.94 \pm 0.97
Pr13	Бертель		0.54 \pm 0.10	1.15 \pm 0.22	Нет	–	–	1.15 \pm 0.22
A19-7	Альдегонда		1.96 \pm 0.37	4.23 \pm 0.81	3.80 \pm 0.84	0.14 \pm 0.03	3.2	4.37 \pm 0.84
A19-8	Альдегонда	1.95 \pm 0.37	4.21 \pm 0.81	5.29 \pm 1.11	0.20 \pm 0.04	4.5	4.41 \pm 0.85	
Pr4	Бертель	III. Переотложенный дисперсный криоконит	1.68 \pm 0.31	3.57 \pm 0.69	54.44 \pm 10.91	2.01 \pm 0.50	36.0	5.58 \pm 1.39
Pr8	Бертель		0.64 \pm 0.12	1.36 \pm 0.26	2.60 \pm 0.51	0.10 \pm 0.02	6.9	1.46 \pm 0.36
Pr9	Бертель		1.74 \pm 0.33	3.69 \pm 0.71	44.53 \pm 8.96	1.64 \pm 0.41	30.8	5.33 \pm 1.31
A19-1	Альдегонда		0.24 \pm 0.05	0.52 \pm 0.10	Нет	–	–	0.52 \pm 0.10
A19-2	Альдегонда		0.79 \pm 0.15	1.71 \pm 0.33	Нет	–	–	1.71 \pm 0.33
Pr12	Бертель	IV. Переотложенный криоконит, коническая форма с ледяным ядром	1.38 \pm 0.26	2.93 \pm 0.56	6.40 \pm 1.32	0.24 \pm 0.06	7.6	3.17 \pm 0.78
Pr28	Бертель	V. Слаборазвитая почва на морене с участием материала криоконита	0.25 \pm 0.05	0.54 \pm 0.10	Нет	–	–	0.54 \pm 0.10
A19-11	Альдегонда		1.36 \pm 0.26	2.94 \pm 0.57	9.39 \pm 1.92	0.35 \pm 0.08	10.6	3.29 \pm 0.63

Примечание. Для каждого образца число повторностей (полей зрения) составляло 270. После знака \pm указано стандартное отклонение.

почве на морене с участием материала криоконита (образцы Pr5, Pr7, Pr8, Pr13, Pr28 соответственно). Гораздо больше микромицетов (порядка 10^3 КОЕ/г почвы) в образцах инситного криоконита в стаканах протаивания и слаборазвитой почве на морене с участием материала криоконита ледника Альдегонда (образцы A19-8, A19-11 соответственно). Максимум культивируемых микромицетов (1.7×10^4 КОЕ/г почвы) обнаружен также в образцах инситного криоконита в стаканах протаивания ледника Альдегонда (образец A19-7). Однако для большей части исследованных образцов Шпицбергена численность микромицетов не превышала 10^2 КОЕ/г почвы. Численность культивируемых

микромицетов уменьшалась в ряду: группа IV переотложенный криоконит конической формы > группа I почва с микропрофилем на леднике > группа III переотложенный дисперсный криоконит > V слаборазвитая почва на морене > группа II инситный криоконит в стаканах протаивания.

Из проанализированных объектов Шпицбергена выделено 25 видов микроскопических грибов, которые относятся к 19 родам из 2 отделов (табл. 6). Отдел Ascomycota представлен тремя телеоморфными (*Antarctomyces*, *Pseudogymnoascus* и *Thelebolus*) и 10 анаморфными родами (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Cadophora*, *Cladosporium*, *Epicoccum*,

Таблица 5. Структура сообществ культивируемых почвенных гетеротрофных бактерий и актиномицетов

Индекс образца	Ледник	Группа	Численность бактерий, $10^4 \times \text{КОЕ/г}$	Доминанты	Субдоминанты	Группа родов среднего обилия и минорные компоненты
Pr2	Бертель	I. Почва с микропрофилем на леднике	13.00 ± 3.23	<i>Arthrobacter</i> , <i>Streptomyces</i>	<i>Cytophaga</i> , <i>Мухосoccus</i> , <i>Polyangium</i>	<i>Alcaligenes</i> , <i>Caulobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Sporocytophaga</i>
Pr5	Бертель	II. Инситный криоконит в стаканах протаивания	6.84 ± 1.21	<i>Arthrobacter</i>	<i>Cytophaga</i> , <i>Polyangium</i>	<i>Alcaligenes</i> , <i>Aquaspirillum</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Sporocytophaga</i>
Pr6	Бертель		5.95 ± 1.05	<i>Arthrobacter</i>	<i>Polyangium</i>	<i>Alcaligenes</i> , <i>Caulobacter</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Pseudomonas</i> ,
Pr7	Бертель		8.57 ± 1.51	<i>Arthrobacter</i>	<i>Cytophaga</i> , <i>Мухосoccus</i> , <i>Polyangium</i>	<i>Alcaligenes</i> , <i>Caulobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Sporocytophaga</i>
Pr13	Бертель		11.18 ± 2.38	<i>Bacillus</i> , <i>Streptomyces</i>	<i>Cytophaga</i> , <i>Мухосoccus</i> , <i>Polyangium</i>	<i>Alcaligenes</i> , <i>Aquaspirillum</i> , <i>Caulobacter</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Sporocytophaga</i>
A19-7	Альдегонда		0.80 ± 0.15	<i>Arthrobacter</i>	<i>Мухосoccus</i> ,	<i>Alcaligenes</i> , <i>Aquaspirillum</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Sporocytophaga</i>
A19-8	Альдегонда		1.03 ± 0.19	<i>Bacillus</i> , <i>Rhodococcus</i>	<i>Cytophaga</i> , <i>Мухосoccus</i> ,	<i>Alcaligenes</i> , <i>Caulobacter</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Sporocytophaga</i>
Pr4	Бертель	III. Переотложенный дисперсный криоконит	0.63 ± 0.14	<i>Arthrobacter</i> , <i>Rhodococcus</i> ,	<i>Cytophaga</i> , <i>Polyangium</i>	<i>Caulobacter</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Sporocytophaga</i>
Pr8	Бертель		0.53 ± 0.11	<i>Arthrobacter</i>	<i>Мухосoccus</i> ,	<i>Caulobacter</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Sporocytophaga</i>
Pr9	Бертель		0.70 ± 0.15	<i>Arthrobacter</i> , <i>Rhodococcus</i> ,	<i>Мухосoccus</i> ,	<i>Alcaligenes</i> , <i>Aquaspirillum</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Sporocytophaga</i>
A19-1	Альдегонда		0.11 ± 0.02	<i>Arthrobacter</i> , <i>Bacillus</i>	<i>Polyangium</i>	<i>Aquaspirillum</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Sporocytophaga</i>
A19-2	Альдегонда		0.39 ± 0.07	<i>Arthrobacter</i>	<i>Мухосoccus</i> ,	<i>Alcaligenes</i> , <i>Aquaspirillum</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Sporocytophaga</i>
Pr12	Бертель		IV. Переотложенный криоконит, коническая форма с ледяным ядром	7.65 ± 1.63	<i>Bacillus</i>	<i>Мухосoccus</i> ,
Pr28	Бертель	V. Слаборазвитая почва на морене с участием материала криоконита	0.21 ± 0.04	<i>Arthrobacter</i>	<i>Cytophaga</i> ,	<i>Aquaspirillum</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Pseudomonas</i> ,
A19-11	Альдегонда		0.12 ± 0.02	<i>Bacillus</i> , <i>Streptomyces</i>	<i>Polyangium</i>	<i>Aquaspirillum</i> , <i>Caulobacter</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Pseudomonas</i>

Примечание. Для каждого образца число повторностей (количество чашек Петри в которые произведен микробиологический посев) составляло 6. После знака \pm указано стандартное отклонение.

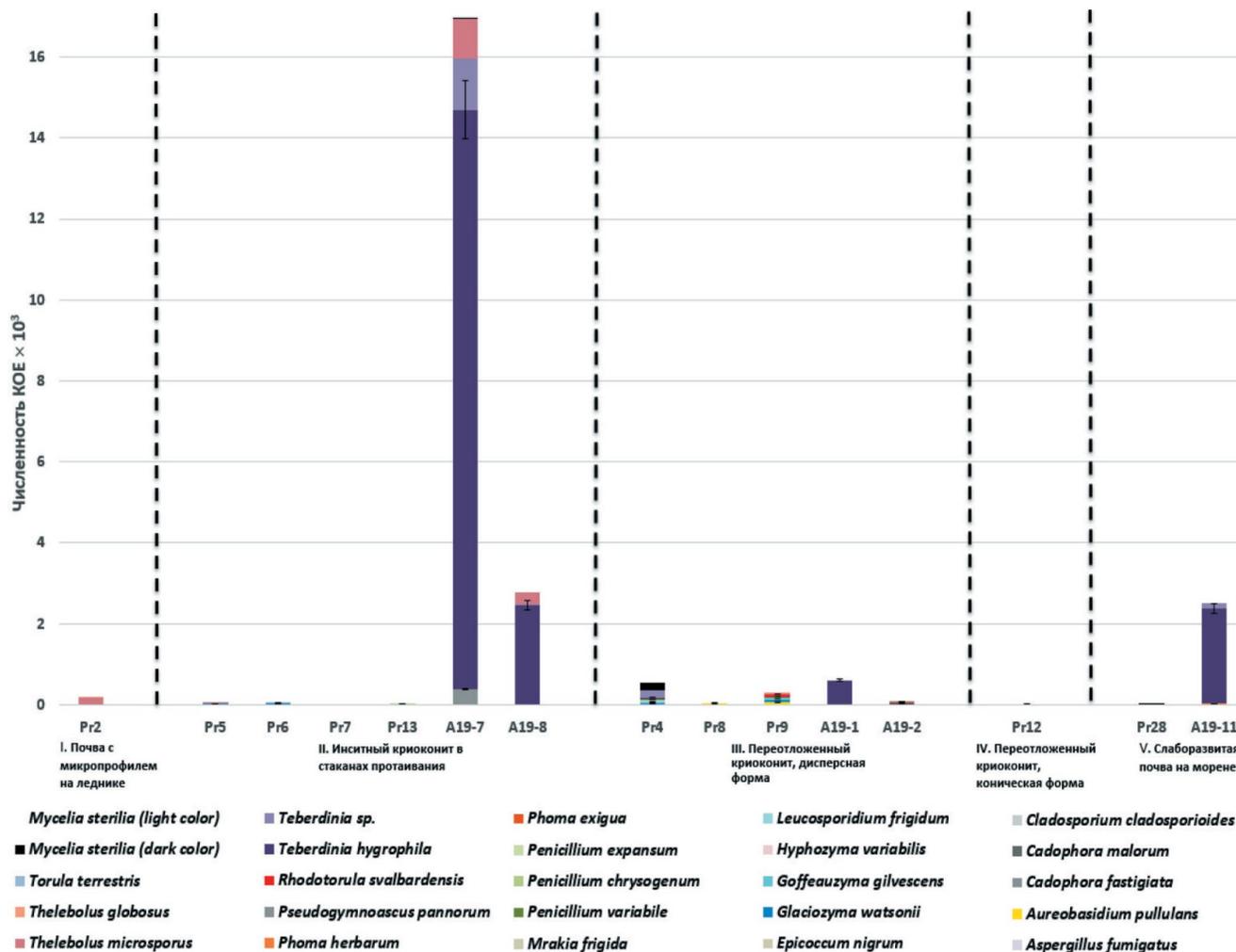


Рис. 3. Численность и таксономическое разнообразие микроскопических грибов.

Hyphozyma, *Penicillium*, *Phoma*, *Teberdinia*). Отдел Basidiomycota представлен только дрожжами — *Glaciozyma*, *Goffeauzyma*, *Leucosporidium*, *Mrakia* и *Rhodotorula*. Представители отдела Mucoromycota не были зафиксированы в изученных образцах. Выделенные микромицеты относятся к 12 порядкам: Pleosporales (роды *Alternaria*, *Epicoccum*, *Phoma*); Eurotiales (роды *Aspergillus*, *Penicillium*); Dothideales (*Aureobasidium*); Helotiales (роды *Cadophora*, *Pseudogymnoascus*); Carnodiales (род *Cladosporium*); Leotiomycetes (роды *Hyphozyma*); Kriegeriales (роды *Glaciozyma*); Tremellales (род *Goffeauzyma*, *Mrakia*); Leucosporidiales (роды *Leucosporidium*); Saccharomycetales (род *Torula*); Dothideomycetes (роды *Teberdinia*); Thelebolales (роды *Thelebolus*); Sporidiobolales (род *Rhodotorula*). Кроме того, было выделено два типа стерильного пигментированного (*Mycelia sterilia* (dark color)) и гиалинового мицелия (*Mycelia sterilia* (light color)), который не удалось идентифицировать.

Для выявления психрофильной микобиоты инкубирование посевов было проведено не только при стандартной (+25°C), но и при пониженной температуре (+5°C). Одни штаммы в посевах были обнаружены только при +5°C (штаммы видов: *Antarctomyces psychrotrophicus*, *Glaciozyma watsonii*, *Goffeauzyma gilvescens*, *Leucosporidium frigidum*, *Mrakia frigida*, *Rhodotorula svalbardensis*, *Thelebolus microsporus*), другие — исключительно при +25°C (штаммы видов: *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Cadophora fastigiata*, *Cadophora malorum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Hyphozyma variabilis*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium variabile*, *Phoma herbarum*), а третьи (*Aureobasidium pullulans*, *Phoma exigua*, *Pseudogymnoascus pannorum*, *Teberdinia hygrophila*, *Teberdinia* sp., *Thelebolus globosus*, *Mycelia sterilia* (dark color), *Mycelia sterilia* (light color)) — отмечены в посевах при обеих температурах. Большинство штаммов выявлено лишь при повышенной температуре.

Таблица 6. Структура сообществ культивируемых почвенных микромицетов

Род/вид	Вариант														
	Pr2	Pr5	Pr6	Pr7	Pr13	A19-7	A19-8	Pr4	Pr8	Pr9	A19-1	A19-2	Pr12	Pr28	A19-11
<i>Alternaria alternata</i> * ^{a,c,d,e} (Fr.) Keissl.															+
<i>Antarctomyces psychrotrophicus</i> * ^{a,f} Stehigel & Guarro	V		V												
<i>Aspergillus fumigatus</i> ^{a,c} Fresen.		+	+					+				+			
<i>Aureobasidium pullulans</i> ^{a,b,c} (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud									+	+	V				
<i>Cadophora fastigiata</i> * ^{c,f} (J. F. H. Beyma) T. C. Harr. et McNew			+												
<i>Cadophora malorum</i> * ^{c,d,f} (Kidd & Beaumont) W. Gams				+		+									
<i>Cladosporium cladosporioides</i> ^{a,c,d,e} (Fresen) G.A. de Vries											+				
<i>Epicoccum nigrum</i> ^{a,b,c} Link					+										
<i>Glaciozyma watsonii</i> * ^f Turchetti, L.B. Connell, Thomas-Hall & Boekhout		V	V					V		V					
<i>Goffeauzyma gilvescens</i> * ^f (Chernov & Babeva) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout								V		V					
<i>Hyphozyma variabilis</i> * ^f de Hoog & M.T. Sm.			+												
<i>Leucosporidium frigidum</i> * ^f Fell, Statzell, I.L. Hunter & Phaff								V							
<i>Mrakia frigida</i> * ^f (Fell, Statzell, I.L. Hunter & Phaff) Y. Yamada & Komag.								V							
<i>Penicillium chrysogenum</i> ^a Thom					+								+		
<i>Penicillium expansum</i> ^a Link					+										
<i>Penicillium variabile</i> ^a Sopp		+						+		+					
<i>Phoma exigua</i> ^{a,c,d} Desm.														V	+
<i>Phoma herbarum</i> ^{a,c,d} Westend.															+
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i> ^{a,e,f} (Link) Minnis & D.L. Lindner						V+	V								
<i>Rhodotorula svalbardensis</i> * ^{b,f} (A. Jörg.) Purnima Singh, Shiv M. Singh, M. Tsuji, G.S. Prasad & Tam. Hoshino										V					
<i>Teberdinia hygrophila</i> * ^f Sogonov, W. Gams, Summerb. & Schroers						V+	V	V+			V+		V	V	V

Род/вид	Вариант														
	Pr2	Pr5	Pr6	Pr7	Pr13	A19-7	A19-8	Pr4	Pr8	Pr9	A19-1	A19-2	Pr12	Pr28	A19-11
<i>Teberdinia</i> sp. ^f						V+	V	V							V
<i>Thelebolus microsporus</i> ^{a,f} (Berk. et Broome) Kimbr.	V	V				V				V					
<i>Thelebolus globosus</i> ^{*,a,f} Brumm. & de Hoog	+		V							+					
<i>Torula terrestris</i> ^{*,f} P.C. Misra			+												
<i>Mycelia sterilia</i> (dark color)			V+			V+									
<i>Mycelia sterilia</i> (light color)		V	V+	V	V			V							

Примечание. * – виды, определенные по анализу участков ITS рДНК; ^a – сапротрофы; ^b – эпифиты/эндофиты/эксрисотрофы; ^c – потенциальные патогены растений; ^d – целлюлолитики; ^e – условные патогены животных и человека; ^f – виды характерные для холодных экосистем. V – рост отмечен при +5°C; + – рост отмечен при +25°C.

Культивируемые микромицеты относились к различным эколого-трофическим и функциональным группам – сапротрофы, эпифиты/эндофиты/эксрисотрофы, потенциальные патогены растений, целлюлолитики, условные патогены животных и человека, виды, характерные для холодных экосистем.

Сапротрофные микромицеты выявлены из всех исследуемых образцов и представлены как типичными почвенными родами [44, 81] – *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Penicillium*, *Phoma*, *Pseudogymnoascus*, *Thelebolus*, так и видами, характерными для холодных экосистем, – *Antarctomyces psychrotrophicus*, *Cadophora fastigiata*, *Cadophora malorum*, *Glaciozyma watsonii*, *Goffeauzyma gilvescens*, *Hyphozyma variabilis*, *Leucosporidium frigidum*, *Mrakia frigida*, *Pseudogymnoascus pannorum*, *Rhodotorula svalbardensis*, *Teberdinia hygrophila*, *Teberdinia* sp., *Thelebolus microsporus*, *Thelebolus globosus*.

Пятая часть (20%) выявленных видов (*Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Pseudogymnoascus pannorum*) входит в базу данных BSL патогенных для человека и животных видов [42].

Среди выделенных микромицетов было мало видов, экологически связанных с растениями, – эпифитов, эндофитов или эксрисотрофов – *Aureobasidium pullulans*, *Epicoccum nigrum* и *Rhodotorula svalbardensis*. Однако 20% видов являлись целлюлолитиками, практически все из которых одновременно и фитопатогены [44, 81], – *Alternaria alternata*, *Cadophora malorum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Phoma exigua*, *Phoma herbarum*.

Наибольшим видовым разнообразием характеризовались роды: *Penicillium* (3 вида), а также *Cadophora*, *Teberdinia* и *Thelebolus* (по 2 вида).

По численности (от 1.43×10^3 до 2.0×10^4 КОЕ/г почвы) и обилию (от 32 до 94%) доминировали представители сапротрофных и характерных для холодных экосистем видов – *Teberdinia hygrophila*, *Teberdinia* sp. и *Thelebolus microsporus*. Субдоминантами по численности (от 2.10×10^2 до 4.1×10^2 КОЕ/г почвы) и обилию (от 10 до 19%) являлись *Pseudogymnoascus pannorum*, *Mycelia sterilia* (dark color) и *Mycelia sterilia* (light color). Численность остальных выявленных микромицетов была мизерна – от 1.40×10^1 до 8.1×10^1 КОЕ/г почвы.

В первичной почве на леднике доминировали микромицеты *Thelebolus microsporus* и *Thelebolus globosus*; впервые показано, что в инситу криоконите в стаканах протаивания преобладает *Teberdinia hygrophila*; в переотложенном дисперсном криоконите – дрожжи *Aureobasidium pullulans*, *Glaciozyma watsonii* и *Goffeauzyma gilvescens*; в переотложенном криоконите конической формы – *Teberdinia hygrophila*; в слаборазвитой почве на морене – *Teberdinia hygrophila* и *Thelebolus microsporus*.

Численность копий функциональных генов цикла азота. Количество генов азотфиксации у бактерий *nifH* варьировало от 9.89×10^7 копий генов/г субстрата (слаборазвитая почва на морене с участием материала криоконита ледника Альдегонда, образец A19-11) до 9.81×10^{10} копий генов/г субстрата (переотложенный дисперсный криоконит с ледника Бертель, образец Pr8) (рис. 4). Большинство образцов (8 из 15) характеризовалось высокими значениями численности гена (около 10^{10} копий гена/г субстрата) и 10^9 копий гена/г субстрата (6 шт. из 15 или 40%). В среднем для образцов с ледника Бертель (группа Pr) средние значения численности гена *nifH* были выше (2.38×10^{10} копий гена/г почвы), чем для образцов с ледника Альдегонда (группа A19) – 2.09×10^{10} копий гена/г почвы. Из этих групп выделяются образцы Pr8 и A19-2

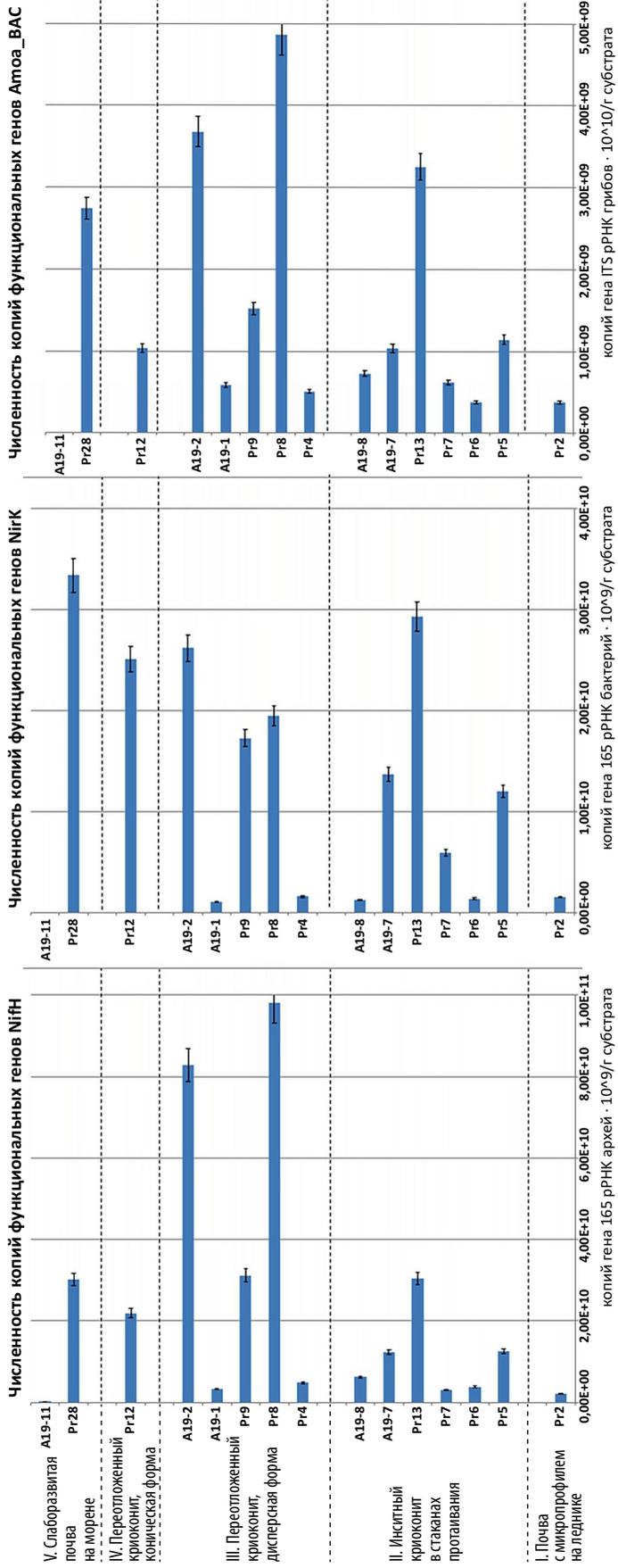


Рис. 4. Численность копий функциональных генов amoA, nifH бактерий и nifK.

с максимальной численностью генов — 9.81×10^{10} и 3.26×10^9 копий гена/г почвы соответственно. На фоне остальных проанализированных криоконитов образец A19-11 характеризовался относительно низкой численностью функциональных генов *nifH* — 9.89×10^7 копий генов/г почвы.

Количество генов нитрификации гена *amoA* у аммонийоксиляющих бактерий варьировало от 5.33×10^6 копий гена/г субстрата в слабообразованной почве на морене с участием материала криоконита ледника Альдегонда (образец A19-11) до 4.86×10^9 копий гена/г почвы в переотложенном дисперсном криоконите (ледник Бертель, образец Pr8). Большинство образцов характеризовалось значениями около 10^9 (8 из 15 или 53%) и 10^6 копий гена/г субстрата (6 из 15 или 40%). Для ледника Бертель (группа Pr) средние значения гена *amoA* выше (1.64×10^9 копий гена/г субстрата), чем для Альдегонда (группа A19) — 1.21×10^9 копий гена/г почвы. Из этих групп выделяются образцы Pr8 и A19-2 (группа III, переотложенный дисперсный криоконит) с максимальной численностью аммонийоксиляющих бактерий — 4.86×10^9 и 3.68×10^9 копий гена/г субстрата соответственно. На фоне остальных проанализированных образцов A19-11 характеризовался низкой численностью *amoA* — 5.33×10^6 копий гена/г субстрата. Количество генов денитрификации у бактерий *nirK* варьировало от 4.82×10^7 копий гена/г субстрата в слабообразованной почве на морене с участием материала криоконита ледника Альдегонда (образец A19-11) до 3.34×10^{10} копий гена/г почвы в слабообразованной почве на морене с участием материала криоконита ледника Бертель (образец Pr28). Большинство образцов (14 из 21 или 67%) характеризовалось значениями около 10^9 копий гена/г почвы. Также многие образцы (8 из 15 или 53%) имели значения около 10^{10} копий гена/г почвы и 10^9 копий гена/г субстрата (6 из 15 или 40%). В среднем для образцов ледника Бертель (группа Pr) средние значения количества функционального гена *nirK* были выше (1.47×10^{10} копий гена/г субстрата) по сравнению с результатами для ледника Альдегонда (группа A19) — 8.46×10^9 копий гена/г почвы. На фоне остальных проанализированных органо-минеральных систем образец A19-11 характеризовался относительно низкой численностью гена *nirK* — 4.82×10^7 копий гена/г почвы.

В целом численность копий всех проанализированных генов цикла азота (*amoA*, *nifH* и *nirK*) имела тенденцию к уменьшению в ряду: группа I почва с микропрофилем на леднике > группа IV переотложенный криоконит конической формы > группа V слабообразованная почва на морене > группа II инзитный криоконит в стаканах протаивания > группа III переотложенный дисперсный криоконит.

ОБСУЖДЕНИЕ

Общая биомасса микроорганизмов. В известных работах микробную биомассу в почвах и криоконитах Шпицбергена определяли лишь с помощью оценки содержания фосфолипидов жирных кислот (метод PLFA) [59], измерения субстрат-индуцированного дыхания в лаборатории [59, 94], а также посредством измерения концентрации аденозин-5-трифосфата (АТФ; индекс живой микробной биомассы) [68]. Однако данные методы, в отличие от люминесцентной микроскопии, не являются прямыми, поэтому не могут дать достоверную информацию о численности и биомассе микроорганизмов в почве [63]. Использованный метод прямой люминесцентной микроскопии позволил визуализировать клетки микроорганизмов и провести расчеты содержания грибной и прокариотной биомассы, а также определить их соотношение.

Впервые показано, что значительная часть микробной биомассы супрагляциальных объектов представлена грибами, что более характерно для почв, а не криоконитов [53, 63]. Полученные значения содержания биомассы микроорганизмов сопоставимы с таковыми для почв северных территорий архипелага Новая Земля [21]. Минимальные значения биомассы в проанализированных образцах сходны, а максимальные — примерно в 8 раз меньше по сравнению с таковыми для почв Земли Франца-Иосифа [26, 23]. Для существенной доли грибов исследованных образцов свойственно преобладание одноклеточных пропагул, по-видимому, по большей части представленных дрожжами, — чрезвычайно устойчивых к негативным абиотическим факторам жизненными формами микобиоты [95]. Объекты ледника Бертель (группа образцов Pr) имеют несколько большие запасы биомассы грибов, численность прокариот, а также длину грибного и актиномицетного мицелия по сравнению с ледником Альдегонда (группа образцов A19).

Структура биомассы грибов. В большинстве исследованных образцов содержание биомассы микобиоты сопоставимо с таковым для почв северных территорий архипелага Новая Земля [21]. Минимальные значения биомассы в проанализированных объектах Шпицбергена сходны, а максимальные примерно в 8 раз меньше, чем для почв Земли Франца-Иосифа [20, 23, 26]. В то же время в инзитных криоконитах в стаканах протаивания (образцы Pr6 и Pr7) биомасса грибов в 2–5.5 выше по сравнению с остальными изученными образцами архипелага Шпицбергена. По-видимому, это может быть обусловлено повышенным содержанием в них органического углерода (2.56 и 2.68% соответственно).

Для большинства органогенных и органо-минеральных горизонтов почв и почвоподобных тел

характерно преобладание мицелия в биомассе микобиоты [24, 72]. Тем не менее ряд исследованных образцов не содержал гиф. Это свидетельствует об угнетенном состоянии грибов в данных локусах, по-видимому, из-за низкого содержания органического вещества и малой активности воды. Такие выводы подтверждаются рядом работ [55, 90]. Около трех четвертей мицелия грибов представлено тонкими формами до 3 мкм в диаметре, что характерно для полярных регионов и, вероятно, является адаптацией к олиготрофным условиям. Не выявлено пряжковых гиф, что косвенно свидетельствует о низком содержании в этих арктических субстратах мицелиальных представителей отдела Basidiomycota [2, 89, 90].

В образцах Pr2 и Pr28, A19-7, A19-8, A19-11 среди одноклеточных пропагул обнаружено много округлых и овальных клеток, которые, судя по морфологическим критериям и наличию у них почкования, можно отнести к дрожжам – одной их характерных жизненных форм микобиоты в экстремально холодных экосистемах [39]. Дрожжи в основном одноклеточны, поэтому их трудно отличить от покоящихся грибных пропагул (спор, конидий и др.) [25].

Объекты на леднике Бертель (группа образцов Pr) имеют несколько большие запасы биомассы грибов, численность одноклеточных пропагул и длину грибного мицелия по сравнению с ледником Альдегонда (группа образцов A19). Однако значения для отдельных образцов Бертель меньше, чем для Альдегонда, и наоборот. Поэтому можно заключить, что условия развития микобиоты зависят не от географической широты, а от локальных условий (экологических факторов), в которых находится объект исследования [95].

Структура биомассы прокариот. Численность одноклеточных прокариот в исследованных объектах архипелага Шпицберген на порядок больше по сравнению со значениями для почв северных территорий архипелага Новая Земля [21] и сопоставима с количеством прокариот для территорий Земли Франца-Иосифа [23, 26] и Восточной Антарктиды [16, 24].

Длина мицелия актиномицетов в проанализированных объектах Шпицбергена в 2–3 раза больше по сравнению с таковой для почв севера Новой Земли [21] и в 4–6 раз меньше, чем для Земли Франца-Иосифа [23].

Практически все объекты на леднике Бертель имеют несколько большую численность прокариот и длину актиномицетного мицелия по сравнению с ледником Альдегонда. Исключением являются лишь образцы A19-7 и A19-8 группы II инзитных криоконитов в стаканах протаивания, где количество одноклеточных прокариот максимально по сравнению со значениями по всей выборке

образцов. Это может быть связано с высокой градулированностью данных объектов, которая обычно обуславливается аккумуляцией полисахаридных слизей в результате активного развития нитчатых цианобактерий [80].

Численность и таксономическая структура комплекса культивируемых сапротрофных бактерий и актиномицетов в исследованных криоконитах Шпицбергена сравнима с таковыми для почв архипелага [82, 83] и севера Новой Земли [22]. Однако численность сапротрофных культивируемых бактерий и число таксонов в проанализированных образцах значительно ниже по сравнению с грунтами Восточной Антарктиды [16, 60]. Такие различия могут быть связаны с климатическим фактором [51].

В проанализированных органо-минеральных системах доминировали грамположительные бактерии, представленные таксонами, устойчивыми к экстремальным условиям, что типично для высоких широт [61, 65]. Субдоминантами в образцах с относительно высоким обилием органического углерода являлись представители родов *Bacillus*, *Cytophaga*, *Mycococcus*, *Polyangium* и *Streptomyces* – активные деструкторы растительных полимеров [13, 47]. В образцах с относительно низким содержанием органического углерода субдоминанты представлены родами *Bacillus* и *Streptomyces*. Группа среднего обилия и минорные компоненты включали грамотрицательные бактерии, доля которых обычно невелика в полярных почвах [65]. Определенного интереса заслуживает выделение из образцов с низким содержанием органического углерода родов *Caulobacter* и *Aquaspirillum* – типичных представителей олиготрофных и обводненных экосистем [78]. Такой перечень таксонов может свидетельствовать о переносе минеральных и органических частиц супрагляциальных объектов с других территорий [32].

Численность и таксономический состав комплексов культивируемых микромицетов изученных объектов Шпицбергена по порядку значений и списку видов в общих чертах соответствовали данным, ранее полученным как для других районов архипелага [9, 10, 12], так и для иных территорий полярных областей: Земли Франца-Иосифа [11, 26] и Восточной Антарктиды [3, 17, 20, 57].

Выявлены специфические черты структуры сообществ микромицетов, свойственные исследованным образцам. Так, *Teberdinia hygrophila*, *Antarctomyces psychrotrophicus* и *Hyphozyma variabilis* обнаружены на территории Шпицбергена впервые. Род *Teberdinia* с единственным видом *T. hygrophila* впервые описан совсем недавно (2005 г.) и выделен из высокогорных почв Теберды (Карачаево-Черкесская Республика, Россия) [84]. В 2010 г. *T. hygrophila* обнаружена в донных отложениях

Карского моря [38]; в 2014 г. — в вечномерзлых грунтах Антарктиды [58]; в 2016 г. — в многолетнем льду пещеры Румынии и в высокогорных почвах Кореи [34]. *Antarctomyces psychrotrophicus* и *Hyphozyma variabilis* также выявляют лишь в полярных экосистемах и высокогорьях [3, 16, 20, 22, 42]. Таким образом, данные таксоны обнаруживаются в мире достаточно редко и в чрезвычайно удаленных друг от друга регионах, характеризующихся экстремально холодным климатом. Такая необычная встречаемость (в Арктике, Антарктике, высокогорьях и дне морей) показана и для других таксонов микроскопических грибов и названа “биологическим эндемизмом” [89].

Отметим, что представители рода *Teberdinia* являлись доминантами для части образцов — численность доходила до 2.0×10^4 КОЕ/г почвы, а относительное обилие возрастало до 94%. Поэтому представляется странным, как данный микромицет оставался невыявленным на Шпицбергене до настоящего времени. Возможно, физиологические особенности рода *Teberdinia* таковы, что его развитие возможно лишь в специфических экологических нишах [84].

Исследованные объекты Шпицбергена отличаются между собой по структуре сообществ микромицетов, однако *Teberdinia hygrophila*, *Thelebolus microsporus* и *Mycelia sterilia* (light color) характерны для большинства образцов.

Отличительной чертой образцов с ледника Альдегонда являлось наличие выраженных доминантов *Teberdinia hygrophila*, *Teberdinia* sp. и *Thelebolus microsporus* и чрезвычайно низкого разнообразия культивируемых микроскопических грибов. Численность практически всех микромицетов для Альдегонда относительно велика. Образцы данной локации отличаются от образцов ледника Бертель отсутствием ряда видов — *Antarctomyces psychrotrophicus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aureobasidium pullulans*, *Cadophora fastigiata*, *Cadophora malorum*, *Epicoccum nigrum*, *Glaciozyma watsonii*, *Goffeaulyzma gilvescens*, *Hyphozyma variabilis*, *Leucosporidium frigidum*, *Mrakia frigida*, *Penicillium variabile*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Rhodotorula svalbardensis*, *Thelebolus globosus*, *Torula terrestris*, а также *Mycelia sterilia* (light color). В образце A19-2 переотложенного дисперсного криоконита микромицеты не выявлены. Важно отметить, что в леднике Альдегонда не обнаружены дрожжи, что может указывать на меньшее содержание доступного ОВ и более суровые климатические условия [31]. Странным кажется отсутствие в образцах Альдегонды представителей эвритонового рода *Penicillium*, который обнаружен в леднике Бертель. Ввиду того, что *Penicillium* — типичный почвенный сапротроф и умеренный ксерофил [43], это может свидетельствовать о большем сходстве объектов ледника Бертель с почвами по структуре

организации, количеству ОВ и условиям увлажнения.

Ледник Бертель характеризовался отсутствием доминантов, но большим по сравнению с Альдегондом разнообразием культивируемых микроскопических грибов. Численность всех микромицетов данных образцов мала; выявлены дрожжи нескольких родов. В образцах ледника Бертель нет некоторых видов, которые отмечены в Альдегонде — эвритонов *Alternaria alternata* и *Cladosporium cladosporioides*, а также типичных видов для холодных экосистем — *Phoma herbarum* и *Pseudogymnoascus pannorum*.

Численность функциональных генов цикла азота.

Численность копий ключевого гена азотфиксации у бактерий *nifH* в исследованных почвах сопоставима со значениями для почв севера Новой Земли [20] и выше значений, полученных для почв тундр Ненецкого автономного округа [98]. Обилие гена *nifH*, ответственного за фиксацию атмосферного азота, коррелирует с содержанием общего почвенного азота, нитратов и аммонийсодержащих соединений, как и в других почвенно-экологических исследованиях [64, 76], в том числе для Арктических территорий [87, 94].

Число копий гена *amoA* в проанализированных криоконитах Шпицбергена на два порядка выше значений, известных для криоконитов ледника Урумчи в горах Тянь-Шаня (Китай) [80], тундровых почв Ненецкого автономного округа [98] и почв севера Новой Земли [20]. Гены аммониймонооксигеназы (*amoA*) имеют большое распространение в почвах и природных водах [88]. В связи с этим предполагаем, что высокую численность данной группы можно связать с интенсивным преобразованием фиксируемого диазотрофами азота в нитратную форму [74]. Наименьшая численность бактериальных генов *amoA* среди всех рассмотренных функциональных генов может быть объяснена низким содержанием органического азота во всех проанализированных почвах [94]. Известно, что обилие бактериального гена *amoA* в почве коррелирует с количеством аммонийсодержащих соединений [73].

Численность функционального гена денитрификации бактерий *nirK* в изученных криоконитах Шпицбергена сопоставима со значениями для почв севера Новой Земли [20] и на порядок меньше, чем для тундровых почв Ненецкого автономного округа [98]. Оценивая процессы денитрификации, обычно рассматривают 2 функциональных гена: *nirK* и *nirS*. Согласно некоторым исследованиям, *nirK* (ген, кодирующий нитритредуктазу меди) более распространен в наземных экосистемах, тогда как *nirS* (ген, кодирующий цитохром cd1-нитритредуктаза) более распространен в морских экосистемах [37, 54, 93].

В целом, численность всех проанализированных функциональных генов, связанных с трансформацией азота (*amoA*, *nifH* и *nirK*), выше для образцов ледника Бертель (группа Pr), чем для образцов ледника Альдегонда (группа A19). Полагаем, это может быть связано с гораздо более высоким отношением C/N в образцах Бертель по сравнению с образцами ледника Альдегонда. Отношение C/N обычно обуславливает интенсивность протекания всех процессов цикла азота в экосистеме [66].

Численность функциональных генов *nifH* и *amoA* максимальна для образцов A19-2 и Pr8, в то время как наибольшие значения гена *nirK* выявлены для образца Pr28. Вероятно, это можно объяснить низким содержанием азота во всех этих криоконитах (особенно для Pr28).

Минимальная численность всех проанализированных функциональных генов, связанных с трансформацией азота (*amoA*, *nifH* и *nirK*), отмечена для образца A19-11. Данный факт, в первую очередь, может быть обусловлен относительно низким соотношением C/N, при котором активно идут процессы иммобилизации азота в биомассу микроорганизмов [28].

Известно, что наличие того или иного функционального гена у микроорганизма не всегда говорит, что такой ген реально работает в природных условиях [52]. Поэтому высокая численность рассмотренных функциональных генов цикла азота еще не доказывает, что в криоконитах Шпицбергена интенсивность процессов выше, чем в более южных регионах с менее суровым климатом.

В исследованных криоконита Шпицбергена наибольшей численностью обладали гены азотфиксации *nifH* (почти до 10^{10} копий гена/г почвы). Это опровергает работы, где выявлено преобладание генов, связанных с денитрификацией (*nirK* и *nirS*) по сравнению с *nifH* и *amoA* [76, 98]. Полагаем, такая закономерность может быть связана с экстремальными климатическими условиями в арктических олиготрофных (обедненных питательными элементами) экосистемах, где развитие жизни, в первую очередь, лимитируется содержанием доступных форм азота [66, 94].

Значительная численность функциональных генов микроорганизмов свидетельствует об интенсивном протекании процессов трансформации азота в супрагляциальных образцах Шпицбергена и заметном вкладе прокариот в продукцию парниковых газов, по крайней мере, в теплый период года.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подтверждена первая выдвинутая рабочая гипотеза. Показано существенное изменение структуры сообщества микроорганизмов (численность, таксономическое разнообразие, соотношение

эколого-трофических групп) в ряду супрагляциальных тел острова Западный Шпицберген по выделенным группам образцов. Количественные показатели микробиома исследованных объектов варьируют в широких пределах, нижние значения которых соответствуют высокоарктическим пустошам, а высшие — ландшафтам умеренного климата. Поэтому, несмотря на общность названия (криоконит), их биологические параметры могут существенно отличаться.

Частично подтверждена вторая предложенная рабочая гипотеза. Впервые показано, что доминирующим (до 99% по массе) компонентом микробиома супрагляциальных объектов (как в аэрируемых криоконитах, так и в стаканах протаивания с талой водой) могут являться грибы, большая часть биомассы которых представлена мицелием, что свидетельствует о высокой активности микробиоты в супрагляциальных объектах архипелага. Микроскопические грибы *Teberdinia hygrophila*, *Antarctomyces psychrotrophicus* и *Hyphozyma variabilis* обнаружены на территории Шпицбергена впервые, что представляет значительный интерес в плане изучения микробного разнообразия экстремально холодных биотопов Арктики. Впервые оценена биомасса микроорганизмов, а также количество функциональных генов цикла азота в криоконитовом материале ледников Альдегонда и Бертель архипелага Шпицберген. Почти три четверти всех выявленных микроорганизмов представлены мелкими формами, что характерно для экстремальных экосистем.

Сопоставляя совокупность проанализированных микробиологических параметров в исследованных супрагляциальных объектах и почвах (почвоподобных телах) других высокоширотных территорий, можно выстроить следующий ряд по увеличению биологической активности субстратов: оазисы Восточной Антарктиды < север Новой Земли = Шпицберген < Земля Франца-Иосифа. Можно предположить, что на рост и активность микроорганизмов, в первую очередь, будут влиять параметры конкретной экологической ниши, а не глобальные географические условия региона. Например, в криоконитах складываются относительно благоприятные условия для развития жизни — защищенность от ветра, повышенная инсоляция и более высокая температура, высокое содержание питательных элементов, достаточная влажность и др. В то же время архипелаг Шпицберген находится в высокоарктической природной зоне с экстремальным климатом, а также имеет мощный ледниковый покров, оказывающий иссушающее и охлаждающее действие.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ в рамках научного проекта № 20-17-00212: блок микробиологических исследований и определение содержания углерода и азота в криоконите и почвах. Полевые работы проводились при поддержке темы государственного задания Института географии РАН по Шпицбергену.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белкина О.А., Мавлюдов Б.Р. Мхи на ледниках Шпицбергена. // Ботанический журнал. 2011. № 96(5). С. 582–596.
2. Бубнова Е.Н., Никитин Д.А. Грибы в донных грунтах Баренцева и Карского морей // Биология моря. 2017. № 43(5). С. 366–371.
3. Власов Д.Ю., Кирицели И.Ю., Абакумов Е.В., Новожилков Ю.К., Зеленская М.С., Баранцевич Е.П. Антропогенная инвазия микромицетов в ненарушенные экосистемы оазиса Холмы Ларсеманн (Восточная Антарктида) // Российский журнал биологических инвазий. 2020. № 13(2). С. 23–34.
4. Глазовская М.А. Эоловые мелкоземистые накопления на ледниках хребта Терской Ала-Тау // Тр. Ин-та географии АН СССР. 1952. Вып. 49. С. 55–69.
5. Глазовская М.А. Эоловые отложения на ледниках Тянь-Шаня // Природа. 1954. № 2. С. 90–92.
6. Глушакова А.М., Качалкин А.В., Чернов И.Ю. Особенности динамики эпифитных и почвенных дрожжевых сообществ в зарослях недотроги железконосной на перегнойно-глеевой почве // Почвоведение. 2011. № 8. С. 966–972.
7. Зазовская Э.П., Мергелов Н.С., Шишков В.А., Долгих А.В., Добрянский А.С., Лебедева М.П., Турчинская С.М., Горячкин С.В. Криокониты как факторы развития почв в условиях быстрого отступления ледника Альдегонда, Западный Шпицберген // Почвоведение. 2022. № 3. С. 281–295. <https://doi.org/10.31857/S0032180X22030157>
8. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1991. С. 60.
9. Кирицели И.Ю. Микромицеты из почв и грунтов Северо-восточной Земли (архипелаг Шпицберген) // Микология и фитопатология. 2010. № 44(2). С. 116–125.
10. Кирицели И.Ю. Микроскопические грибы в почвах и грунтах арктических горных систем // Биосфера. 2016. № 8(1). С. 63–78.
11. Кирицели И.Ю. Микроскопические грибы в почвах острова Хейса (Земля Франца-Иосифа) // Новости систематики низших растений. 2015. № 49. С. 151–160.
12. Кирицели И.Ю., Власов Д.Ю., Зеленская М.С., Ильюшин В.А., Новожилков Ю.К., Чуркина И.В., Баранцевич Е.П. Оценка антропогенной инвазии микроскопических грибов в арктические экосистемы (архипелаг Шпицберген) // Гигиена и санитария. 2020. № 99(2). С. 145–151.
13. Корнейкова М.В., Редькина В.В., Мязин В.А., Фокина Н.В., Шальгина Р.Р. Микроорганизмы почв полуострова Рыбачий // Тр. Кольского научного центра РАН. 2019. № 10. С. 108–122. <https://doi.org/10.25702/KSC.2307-5252.2019.4.108-122>
14. Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е., Карасев С.Г., Гавриш Е.Ю., Гурина Л.И., Евтушенко Л.И., Спирина Е.В., Воробьева Е.А., Гиличинский Д.А., Озерская С.М. Микромицеты и актинобактерии в условиях многолетней естественной криоконсервации // Микробиология. 2001. Т. 70. № 3. С. 412–420.
15. Лысак Л.В., Максимова И.А., Никитин Д.А., Иванова А.Е., Кудинова А.Г., Соина В.С., Марфенина О.Е. Микробные сообщества почв российских полярных станций Восточной Антарктиды // Вестник Моск. ун-та. Сер. 16, биология. 2018. № 3. С. 132–140.
16. Лысак Л.В., Скворцова И.Н., Добровольская Т.Г. Методы оценки бактериального разнообразия почв и идентификации почвенных бактерий. 2003. М.: Макс-пресс, 120 с.
17. Марфенина О.Е., Никитин Д.А., Иванова А.Е. Структура грибной биомассы и разнообразие культивируемых микромицетов в почвах Антарктиды (станции Прогресс и Русская) // Почвоведение. 2016. № 8. С. 991–999. <https://doi.org/10.7868/S0032180X16080074>
18. Мергелов Н.С., Горячкин С.В., Зазовская Э.П., Карелин Д.В., Никитин Д.А., Курузов С.С. Супрагляциальные почвы и почвоподобные тела: разнообразие, генезис, функционирование (обзор) // Почвоведение. 2023. № 12. С. 1522–1539. <https://doi.org/10.31857/S0032180X230601494>
19. Мигунова В.Д., Кураков А.В. Структура микробной биомассы и трофические группы нематод в дерново-подзолистых почвах постагрогенной сукцессии в южной тайге (Тверская область) // Почвоведение. 2014. № 5. С. 584–584. <https://doi.org/10.7868/S0032180X14050165>
20. Никитин Д.А., Лысак Л.В., Бадмадашиев Д.В. Молекулярно-биологическая характеристика почвенного микробиома северной части архипелага Новая Земля // Почвоведение. 2022. № 8. С. 1035–1045.
21. Никитин Д.А., Лысак Л.В., Бадмадашиев Д.В., Холод С.С., Мергелов Н.С., Долгих А.В., Горячкин С.В. Биологическая активность почв в условиях покровного оледенения в северной части архипелага Новая Земля // Почвоведение. 2021. № 10. С. 1207–1230. <https://doi.org/10.31857/S0032180X21100087>

22. *Никитин Д.А., Лысак Л.В., Кутовая О.В., Грачева Т.А.* Эколого-трофическая структура и таксономическая характеристика сообществ микроорганизмов почв северной части архипелага Новая Земля // Почвоведение. 2021. № 11. С. 1346–1362. <https://doi.org/10.31857/S0032180X21110101>
23. *Никитин Д.А., Лысак Л.В., Мергелов Н.С., Долгих А.В., Заовская Э.П., Горячкин С.В.* Микробная биомасса, запасы углерода и эмиссия CO₂ в почвах Земли Франца-Иосифа: высокоарктические тундры или полярные пустыни? // Почвоведение. 2020. № 4. С. 1–19. <https://doi.org/10.31857/S0032180X20040115>
24. *Никитин Д.А., Марфенина О.Е., Кудинова А.Г., Лысак Л.В., Мергелов Н.С., Долгих А.В., Лупачев А.В.* Микробная биомасса и биологическая активность почв и почвоподобных тел береговых оазисов Антарктиды // Почвоведение. 2017. № 9. С. 1122–1133. <https://doi.org/10.7868/S0032180X17070073>
25. *Никитин Д.А., Марфенина О.Е., Максимова И.А.* Использование сукцессионного подхода при изучении видового состава микроскопических грибов и содержания грибной биомассы в антарктических почвах // Микология и фитопатология. 2017. № 51(4). С. 211–219.
26. *Никитин Д.А., Семенов М.В., Семиколенных А.А., Максимова И.А., Качалкин А.В., Иванова А.Е.* Биомасса грибов и видовое разнообразие культивируемой микобиоты почв и субстратов о. Нортбрук (Земля Франца-Иосифа) // Микология и фитопатология. 2019. Т. 53. № 4. С. 210–222. <https://doi.org/10.1134/S002636481904010X>
27. *Полянская Л.М., Звягинцев Д.Г.* Содержание и структура микробной биомассы как показатели экологического состояния почв // Почвоведение. 2005. № 6. С. 706–714.
28. *Семенов В.М.* Функции углерода в минерализационно-иммобилизационном обороте азота в почве // Агрохимия. 2020. № 6. С. 78–96. <https://doi.org/10.31857/S0002188120060101>
29. *Хабидуллина Ф.М., Кузнецова Е.Г., Васенева И.З.* Микробиоты подзолистых и болотно-подзолистых почв в подзоне средней тайги на северо-востоке европейской части России // Почвоведение. 2014. № 10. С. 1228–1228. <https://doi.org/10.7868/S0032180X14100049>
30. *Хоулт Дж., Круга Н., Снита П., Стейли Дж., Уилльямса С.* Определитель бактерий Берджи (в 2 томах) // Пер. с англ. под ред. Заварзина Г.А. М.: Мир, 1997. 800 с.
31. *Чернов И.Ю.* Широтно-зональные и пространственно-сукцессионные тренды в распределении дрожжевых грибов // Журнал общей биологии. 2005. № 66(2). С. 123–135.
32. *Aalto J., Scherrer D., Lenoir J., Guisan A., Luoto M.* Biogeophysical controls on soil-atmosphere thermal differences: implications on warming Arctic ecosystems // Environ. Res. Lett. 2018. V. 13(7). P. 074003. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/aac83e>
33. *Abakumov E., Nizamutdinov T., Polyakov V.* Analysis of the polydispersity of soil-like bodies in glacier environments by the laser light scattering (diffraction) method // Biol. Comm. 2021. V. 66(3). P. 198–209. <https://doi.org/10.21638/spbu03.2021.302>
34. *Adhikari K., Hartemink A.E.* Linking soils to ecosystem services—A global review // Geoderma. 2016. V. 262. P. 101–111. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.08.009>
35. *Anesio A.M., Laybourn-Parry J.* Glaciers and ice sheets as a biome // TREE. 2012. V. 27(4). P. 219–225. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.09.012>
36. *Bekku Y.S., Nakatsubo T., Kume A., Koizumi H.* Soil microbial biomass, respiration rate, and temperature dependence on a successional glacier foreland in Ny-Ålesund, Svalbard // Arct. Antarct. Alp. Res. 2004. V. 36(4). P. 395–399. [https://doi.org/10.1657/1523-0430\(2004\)036\[0395:SMBRRA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1657/1523-0430(2004)036[0395:SMBRRA]2.0.CO;2)
37. *Braker G., Fesefeldt A., Witzel K.P.* Development of PCR primer systems for amplification of nitrite reductase genes (*nirK* and *nirS*) to detect denitrifying bacteria in environmental samples // Appl. Environ. Microbiol. 1998. V. 64. P. 3769–3775.
38. *Bubnova E.N.* Fungal diversity in bottom sediments of the Kara Sea // Botanica marina. 2010. V. 53(6). P. 595–600. <https://doi.org/10.1515/BOT.2010.063>
39. *Buzzini P., Turchetti B., Yurkov A.* Extremophilic yeasts: the toughest yeasts around? // Yeast. 2018. V. 35(8). P. 487–497. <https://doi.org/10.1002/yea.3314>
40. *Cameron K., Hodson A.J., Osborn M.* Carbon and nitrogen biogeochemical cycling potentials of supraglacial cryoconite communities // Polar Biology. 2012. V. 35. P. 1375–1393. <https://doi.org/10.1007/s00300-012-1178-3>
41. *Chapin F.S., Matson P.A., Vitousek P.M.* Nutrient cycling // Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology. 2011. P. 259–296. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9504-9>
42. *De Hoog G.S., Gottlich E., Platas G., Genilloud O., Leotta G., Van Brummelen J.* Evolution, taxonomy and ecology of the genus *Thelebolus* in Antarctica // Studies in Mycology. 2004. V. 51. P. 33.
43. *Dix N.J., Webster J.* Fungal ecology. Springer Science & Business Media, 2012. P. 376.
44. *Domsch K.H., Gams W., Anderson T.* Compendium of soil fungi. Eching: IHW-Verlag, 2007.
45. *Edwards A., Anesio A.M., Rassner S.M., Sattler B., Hubbard B., Perkins W.T., Youn M., Gareth W.G.* Possible interactions between bacterial diversity, microbial activity and supraglacial hydrology of cryoconite holes in Svalbard // ISME J. 2011. V. 51(1). P. 150–160. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.100>
46. *Edwards A., Douglas B., Anesio A., Rassner S.M., Irvine-Fynn T.D., Sattler B., Griffith G.W.* A distinctive fungal community inhabiting cryoconite holes on glaciers in Svalbard // Fungal Ecology. 2013. V. 6. P. 168–176. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2012.11.001>

47. *Flimban S., Oh S.E., Joo J.H., Hussein K.A.* Characterization and identification of cellulose-degrading bacteria isolated from a microbial fuel cell reactor // *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 2019. V. 24(4). P. 622–631. <https://doi.org/10.1007/s12257-019-0089-3>
48. *Freitag T.E., Chang L., Prosser J.I.* Changes in the community structure and activity of betaproteobacterial ammonia-oxidizing sediment bacteria along a freshwater-marine gradient // *Environ. Microbiol.* 2006. V. 8(4). P. 684–696.
49. *Hassan N., Rafiq M., Hayat M., Shah A.A., Hasan F.* Psychrophilic and psychrotrophic fungi: a comprehensive review // *Rev. Environ. Sci.* 2016. V. 15. P. 147–172. <https://doi.org/10.1007/s11157-016-9395-9>
50. *Hoham R.W., Remias D.* Snow and glacial algae: a review // *J. Phycol.* 2020. V. 56(2). P. 264–282. <https://doi.org/10.1111/jpy.12952>
51. *Hutchins D.A., Jansson J.K., Remais J.V., Rich V.I., Singh B.K., Trivedi P.* Climate change microbiology—problems and perspectives // *Nat. Rev. Microbiol.* 2019. V. 17(6). P. 391–396. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0178-5>
52. *Imhoff J.F.* New dimensions in microbial ecology—functional genes in studies to unravel the biodiversity and role of functional microbial groups in the environment // *Microorganisms*. 2016. V. 4(2). P. 19. <https://doi.org/10.3390/microorganisms4020019>
53. *Joergensen R.G., Emmerling C.* Methods for evaluating human impact on soil microorganisms based on their activity, biomass, and diversity in agricultural soils // *JPNSS*. 2006. V. 169(3). P. 295–309. <https://doi.org/10.1002/jpln.200521941>
54. *Jones C.M., Hallin S.* Ecological and evolutionary factors under lying global and local assembly of denitrifier communities. *ISMEJ*. Nature Publishing Group. 2010. V. 4. P. 633–641. PMID: 2009078549. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.152>
55. *Joshi S., Bajpai A., Johri B.N.* Extremophilic fungi at the interface of climate change // *Fungi Bio-Prospect in Sustainable Agriculture, Environment and Nano-technology*. P. 1–22. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821925-6.00001-0>
56. *Kaczmarek L., Jakubowska N., Sofia C.G. et al.* The microorganisms of cryoconite holes (algae, Archaea, bacteria, cyanobacteria, fungi, and protista): a review // *Polar Record*. 2015. V. 52(2). P. 176–203. <https://doi.org/10.1017/S0032247415000637>
57. *Kochkina G.A., Ivanushkina N.E., Lupachev A.V., Starodumova I.P., Vasilenko O.V., Ozerskaya S.M.* Diversity of mycelial fungi in natural and human-affected Antarctic soils // *Polar Biol.* 2019. V. 42(1). P. 47–64. <https://doi.org/10.1007/s00300-018-2398-y>
58. *Kochkina G.A., Ozerskaya S.M., Ivanushkina N.E., Chigineva N.I., Vasilenko O.V., Spirina E.V., Gili-chinskii D.A.* Fungal diversity in the Antarctic active layer // *J. Microbiol.* 2014. V. 83(1). P. 94–101. <https://doi.org/10.1134/S002626171402012X>
59. *Kotas P., Šantrůčková H., Elster J., Kaštovská E.* Soil microbial biomass, activity and community composition along altitudinal gradients in the High Arctic (Billefjorden, Svalbard) // *Biogeosciences*. 2018. V. 15(6). P. 1879. <https://doi.org/10.5194/bg-15-1879-2018>
60. *Kudinova A.G., Petrova M.A., Dolgikh A.V., Soina V.S., Lysak L.V., Maslova O.A.* Taxonomic Diversity of Bacteria and Their Filterable Forms in the Soils of Eastern Antarctica (Larsemann Hills and Bunger Hills) // *J. Microbiol.* 2020. V. 89(5). P. 574–584. <https://doi.org/10.1134/S0026261720050136>
61. *Kumar S., Suyal D.C., Yadav A., Shouche Y., Goel R.* Microbial diversity and soil physicochemical characteristic of higher altitude // *PLoS One*. 2019. V. 14(3). P. e0213844. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213844>
62. *Lang C., Fettweis X., Ericum M.* Stable climate and surface mass balance in Svalbard over 1979–2013 despite the Arctic warming // *The Cryosphere*. 2015. V. 9(1). P. 83–101. <https://doi.org/10.5194/tc-9-83-2015>
63. *Li Y., Dick W.A., Tuovinen O.H.* Fluorescence microscopy for visualization of soil microorganisms—a review // *Biol. Fertil. Soils*. 2004. V. 39(5). P. 301–311. <https://doi.org/10.1007/s00374-004-0722-x>
64. *Ma W., Jiang S., Assemien F., Qin M., Ma B., Xie Z.* Response of microbial functional groups involved in soil N cycle to P and N fertilization in Tibetan pine meadows // *Soil Biol. Biochem.* 2016. V. 101. P. 195–206. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.07.023>
65. *Malcheva B., Nustorova M., Zhiyanski M., Sokolovska M., Yaneva R., Abakumov E.* Diversity and activity of microorganisms in Antarctic polar soils // *One Ecosystem*. 2020. V. 5. P. e51816. <https://doi.org/10.3897/oneeco.5.e51816>
66. *Martínez-Espinosa R.M.* Microorganisms and their metabolic capabilities in the context of the biogeochemical nitrogen cycle at extreme environments // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21(12). P. 4228. <https://doi.org/10.3390/ijms21124228>
67. *Musilova M., Tranter M., Bamber J.L., Takeuchi N., Anesio A.M.* Experimental evidence that microbial activity lowers the albedo of glaciers // *Geochem. Perspect. Lett.* 2016. V. 2. P. 106–116. <https://doi.org/10.7185/geochemlet.1611>
68. *Nakatsubo T., Yoshitake S., Uchida M., Uchida M., Shibata Y., Koizumi H.* Organic carbon and microbial biomass in a raised beach deposit under terrestrial vegetation in the High Arctic, Ny-Ålesund, Svalbard // *Polar Res.* 2008. V. 27(1). P. 23–27. <https://doi.org/10.1111/j.1751-8369.2008.00037.x>
69. *Nizamutdinov T., Mavlyudov B., Polyakov V., Abakumov E.* Sediments from cryoconite holes and dirt cones on the surface of Svalbard glaciers: main chemical and physicochemical properties // *Acta Geochimica*. 2023. V. 42(2). P. 346–359. <https://doi.org/10.1007/s11631-022-00586-3>

70. Pittino F., Maglio M., Gandolfi I., Azzoni R.S., Diolaiti G., Ambrosini R., Franzetti A. Bacterial communities of cryoconite holes of a temperate alpine glacier show both seasonal trends and year-to-year variability // *Ann. Glaciol.* 2018. V. 59(77). P. 1–9. <https://doi.org/10.1017/aog.2018.16>
71. Polyakov V., Zazovskaya E., Abakumov E. Molecular composition of humic substances isolated from selected soils and cryoconite of the Grønffjorden area, Spitsbergen // *Pol. Polar Res.* 2019. V. 40(2). P. 105–120. <https://doi.org/10.24425/ppr.2019.128369>
72. Polyanskaya L.M., Yumakov D.D., Tyugay Z.N., Stepanov A.L. Fungi and Bacteria in the Dark-Humus Forest Soil // *Eurasian Soil Sci.* 2020. V. 53(9). P. 1255–1259. <https://doi.org/10.1134/S1064229320090124>
73. Prosser J.I., Nicol G.W. Prosser J.I., Nicol G.W. Archaeal and bacterial ammonia-oxidisers in soil: the quest for niche specialisation and differentiation // *Trends in Microbiol.* 2012. V. 20. P. 523–531. PMID: 22959489. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2012.08.001>
74. Purkhold U., Pommerening-Röser A., Juretschko S., Schmid M.C., Koops H.P., Wagner M. Phylogeny of all recognized species of ammonia oxidizers based on comparative 16S rRNA and amoA sequence analysis: implications for molecular diversity surveys // *Appl. Environ. Microbiol.* 2000. V. 66(12). P. 5368. <https://doi.org/10.1128/aem.66.12.5368-5382.2000>
75. Ravolainen V., Soininen E.M., Jónsdóttir I.S., Eisechid I., Forchhammer M., van der Wal R., Pedersen Å.Ø. High Arctic ecosystem states: Conceptual models of vegetation change to guide long-term monitoring and research // *Ambio.* 2020. V. 49(3). P. 666–677. <https://doi.org/10.1007/s13280-019-01310-x>
76. Regan K., Stempfhuber B., Schloter M., Rasche F., Prati D., Philippot L., Boeddinghaus R.S., Kandeler E., Marhan S. Spatial and temporal dynamics of nitrogen fixing, nitrifying and denitrifying microbes in an unfertilized grassland soil // *Soil Biol. Biochem.* 2017. V. 109. P. 214–226. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.11.01145>
77. Rozwalak P., Podkova P., Buda J., Niedzielski P., Kawecki S., Ambrosini R., Azzoni R.S. et al. Cryoconite—From minerals and organic matter to bioengineered sediments on glacier's surfaces // *Sci. Total Environ.* 2022. V. 807. P. 150874. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150874>
78. Salcher M.M. Isolation and cultivation of planktonic freshwater microbes is essential for a comprehensive understanding of their ecology // *Aquat. Microb. Ecol.* 2016. V. 77(3). P. 183–196. <https://doi.org/10.3354/ame01796>
79. Schuler T.V., Kohler J., Elagina N., Hagen J.O.M., Hodson A.J., Jania J.A., et al. Reconciling Svalbard glacier mass balance // *Front. Earth Sci.* 2020. V. 9. P. 156. <https://doi.org/10.3389/feart.2020.00156>
80. Segawa T., Takeuchi N., Mori H., Rathnayake R.M., Li Z., Akiyoshi A., Satoh H., Ishii S. Redox stratification within cryoconite granules influences the nitrogen cycle on glaciers // *FEMS microbiology ecol.* 2020. V. 96(11). P. fiaa199. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa199>
81. Seifert K.A., Gams W. The genera of Hyphomycetes—2011 update // *Persoonia: Mol. Phylogeny Evol. of Fungi.* 2011. V. 27(1). P. 119–129. <https://doi.org/10.3767/003158511X617435>
82. Singh P., Singh S.M. Characterisation of yeasts and filamentous fungi isolated from cryoconite holes of Svalbard, Arctic // *Polar Biol.* 2012. V. 35. P. 575–583. <https://doi.org/10.1007/s00300-011-1103-1>
83. Singh P., Singh S.M., Singh R.N., Naik S., Roy U., Srivastava A., Bölter M. Bacterial communities in ancient permafrost profiles of Svalbard, Arctic // *J. basic microbiol.* 2017. V. 57(12). P. 1018–1036. <https://doi.org/10.1002/jobm.201700061>
84. Sogonov M.V., Schroers H.J., Gams W., Dijksterhuis J., Summerbell R. C. The hyphomycete *Teberdinia hygrophila* gen. nov., sp. nov. and related anamorphs of *Pseudeurotium* species // *Mycologia.* 2005. V. 97(3). P. 695–709. <https://doi.org/10.1080/15572536.2006.11832799>
85. Stibal M., Sabacka M., Kastova K. Microbial communities on glacier surfaces in Svalbard: impact of physical and chemical properties on abundance and structure of cyanobacteria and algae // *Microb. Ecol.* 2006. V. 52(4). P. 644–654. <https://doi.org/10.1007/s00248-006-9083-3>
86. Takeuchi N. Optical characteristics of cryoconite (surface dust) on glaciers: the relationship between light absorbency and the property of organic matter contained in the cryoconite // *Ann. Glaciol.* 2002. V. 34. P. 409–414.
87. Taş N., Prestat E., Wang S., Wu Y., Ulrich C., Kneafsey T., et al. Landscape topography structures the soil microbiome in arctic polygonal tundra // *Nat Commun.* 2018. V. 9. P. 777. PMID: 29472560. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03089-z>
88. Tourna M., Stieglmeier M., Spang A., Könneke M., Schintlmeister A., Urich T., Engel M., Schloter M., Wagner M., Richter A., Schleper C. Nitrososphaera viennensis, an ammonia oxidizing archaeon from soil // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011. V. 108(20). P. 8420–8425. <https://doi.org/10.1073/pnas.1013488108>
89. Wang M., Jiang X., Wu W., Hao Y., Su Y., Cai L., Xiang M., Liu X. Psychrophilic fungi from the world's roof. *Persoonia* // *Mol. Phylogenet. Evol. Fungi.* 2015. V. 34. P. 100–112. <https://doi.org/10.3767/003158515X685878>
90. Wang M., Tian J., Xiang M., Liu X. Living strategy of cold-adapted fungi with the reference to several representative species // *Mycology.* 2017. V. 8(3). P. 178–188. <https://doi.org/10.1080/21501203.2017.1370429>
91. Wong M.L., Medrano J.F. Real-time PCR for mRNA quantitation // *Biotechniques.* 2005. V. 39(1). P. 75–85. <https://doi.org/10.2144/05391RV01>
92. Wouters B., Gardner A.S., Moholdt G. Global glacier mass loss during the GRACE satellite mission (2002–2016) // *Front. Earth Sci.* 2019. V. 7. P. 96. <https://doi.org/10.3389/feart.2019.00096>

93. Yang Y., Zhao J., Jiang Y., Hu Y., Zhang M., Zeng Z. Response of bacteria harboring nir Sand nir Kgenesto different N fertilization rates in an alkaline northern Chinese soil // Eur. J. Soil Biol. 2017. V. 82. P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2017.05.006> MicrobiomeshiftsduringsoilformationintundraPLO
94. Yoshitake S., Uchida M., Koizumi H., Nakatsubo T. Carbon and nitrogen limitation of soil microbial respiration in a High Arctic successional glacier foreland near Ny-Ålesund, Svalbard // Polar Res. 2007. V. 26(1). P. 22–30. <https://doi.org/10.1111/j.1751-8369.2007.00001.x>
95. Yurkov A. Temporal and geographic patterns in yeast distribution / Yeasts in Natural Ecosystems: Ecology. 2017. P. 101–130. https://doi.org/10.1007/978-3-319-61575-2_4
96. Zdanowski M.K., Bogdanowicz A., Gawor J., Gromadka R., Wolicka D., Grzesiak J. Enrichment of cryocoonite hole anaerobes: implications for the subglacial microbiome // Microb. Ecol. 2017. V. 73(3). P. 532–538. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0886-6>
97. Zhang T., Wang N.F., Liu H.Y., Zhang Y.Q., Yu L.Y. Soil pH is a key determinant of soil fungal community composition in the Ny-Ålesund Region, Svalbard (High Arctic) // Front. Microbiol. 2016. V. 7. P. 227. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00227>
98. Zhelezova A., Chernov T., Tkhakakhova A., Xenofontova N., Semenov M., Kutovaya O. Prokaryotic community shifts during soil formation on sands in the tundra zone // PloS one. 2019. V. 14(4). P. e0206777. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206777>

Microbiome of Supraglacial Systems on the Aldegonda and Bertel Glaciers (Western Spitsbergen Island)

D. A. Nikitin^{1, 2, *}, L. V. Lysak³, E. P. Zazovskaya^{2, 4}, N. S. Mergelov², and S. V. Goryachkin²

¹Dokuchaev Soil Science Institute, Moscow, 119017 Russia

²Institute of Geography, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119017 Russia

³Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

⁴Center for Applied Isotope Studies, University of Georgia, Athens, GA30602 USA

*e-mail: dimnik90@mail.ru

Microbial biomass, diversity of cultivated bacteria and micromycetes, as well as the number of functional nitrogen cycle genes in the supraglacial systems of the Aldegonda and Bertel glaciers were studied. Biomass of microorganisms varied from 2.54 to 722 µg/g of substrate. It has been shown for the first time that the majority (78.7–99.8%) of the microbial biomass of supraglacial objects is represented by fungi rather than prokaryotes. Main part (from 70 to 90%) of the fungal biomass was mycelium, the length of which varied from 6.70 to 537.51 m/g of substrate. The number of prokaryotes varied from 2.4×10^8 to 1.95×10^9 cells/g of substrate. The length of actinomycete mycelium varied from 2.6 to 62.61 m/g of substrate. The abundance of cultivated bacteria and actinomycetes varied from 3.3×10^4 to 1.2×10^6 CFU/g of substrate, and that of micromycetes varied from 2.2×10^1 to 1.7×10^4 CFU/g of substrate. Bacteria of the genera *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, and *Streptomyces*, as well as micromycetes of the genera *Antarctomyces*, *Cadophora*, *Hyphozyma*, *Teberdina* and *Thelebolus* dominated. Micromycetes *Antarctomyces psychrotrophicus*, *Hyphozyma variabilis* and *Teberdina hygrophila* were found in Svalbard for the first time. The number of amoA genes in ammonium-oxidizing bacteria varied from 5.33×10^6 to 4.86×10^9 ; nitrogen fixation genes nifH, from 9.89×10^7 to 9.81×10^{10} ; nirK denitrification genes, from 4.82×10^7 to 3.34×10^{10} gene copies/g of substrate. The results obtained indirectly indicate the leading role of fungi in the microbiome of the supraglacial objects of Svalbard and the significant contribution of prokaryotes to the emission of greenhouse gases from them.

Keywords: High Arctic, glaciers, supraglacial objects, biomass of microorganisms, CFU abundance, microscopic fungi, bacteria, actinomycetes, functional nitrogen cycle genes