

**SYSTEMS APPROACH TO THE STUDY OF MICROBIAL METHANOGENESIS
IN WEST-SIBERIAN WETLANDS***Kotsyurbenko O.R.^{1,2}, Glagolev M.V.^{1,2,3,4,5}, Sabrekov A.F.^{1,2,4,5}, Terentieva I.E.^{1,4}*¹Yugra State University, Khanty-Mansyisk, Russia²Institute of Water Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia³Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia⁴Tomsk State University, Tomsk, Russia⁵Institute of Forest Science, Russian Academy of Sciences, Uspenskoe (Moscow region), Russia*Corresponding authors:* kotsor@mail.ru**Citation:** Kotsyurbenko O.R., Glagolev M.V., Sabrekov A.F., Terentieva I.E. 2020. Systems approach to the study of microbial methanogenesis in West-Siberian wetlands // *Environmental Dynamics and Global Climate Change*. Vol. 11. N. 1. P. 54-68.**DOI:** 10.17816/edgcc15809**Text of the article in English:** <https://edgccjournal.org/EDGCC/article/view/15809>

This work is a lecture adapted to the format of a journal article on the course "Modern Topics in Biology", delivered by one of the authors in Yugra State University.

The modern stage of the development of science and biology, in particular, is characterized by a systematic approach to the evaluation of various phenomena. In the concept of hierarchical holism, which dominates the systems approach, various biological systems form a hierarchical structure in which an element of one system is an independent system of a lower level. In any individual system, the key points are the interaction of its components and the structure that determines the stability of the system. The microbial systems of wetlands in West Siberia play a crucial ecological role in the context of the problem of greenhouse gases and changes in climate and atmospheric composition. The greenhouse gas methane entering the atmosphere is formed by the methanogenic microbial community, which is a complex biological system containing microbial groups which are closely related to each other by trophic interactions. The result of the work and the efficiency of the methanogenic microbial community is also determined by various physicochemical parameters of the environment. The main microbial agents responsible for the production of CH₄ are methanogenic archaea, which are divided into three main trophic groups. The application of a systematic approach to the study of the methane cycle in wetlands of West Siberia allows us to comprehensively evaluate the vertical and horizontal system relationships, identify key elements and conduct a complex analysis of the problem under study.

Key words: system approach, methanogenesis, greenhouse gases, West Siberian wetlands, microbial communities, methanogens

Данная работа представляет собой адаптированную к формату журнальной статьи лекцию курса «Современные проблемы биологии», читаемого одним из авторов в Югорском Государственном Университете.

Современный этап развития науки и биологии, в частности, характеризуется системным подходом к рассмотрению различных явлений. В концепции иерархического холизма, доминирующего в системном подходе, различные биологические системы образуют иерархическую структуру, в которой элемент одной системы является самостоятельной системой низшего уровня. В любой отдельной системе ключевым является взаимодействие ее компонентов и структура, которая обуславливает устойчивость системы. Микробные системы увлажненных земель Западной-Сибири играют важнейшую экологическую роль в контексте проблемы парниковых газов и изменения состава атмосферы и климата. Парниковый газ метан, поступающий в атмосферу, образуется метаногенным микробным сообществом, представляющим собой сложную биологическую систему, микробные группы которого тесно связаны трофическими взаимодействиями. Результат работы и эффективность функционирования метаногенного микробного сообщества также определяется различными физико-химическими параметрами окружающей среды. Основными микробными агентами, ответственными за продукцию CH₄, являются метаногенные археи, которые подразделяются на три основные трофические группы. Применение системного подхода к изучению цикла метана в болотных системах Западной Сибири позволяет наиболее полно оценить вертикальные и горизонтальные системные взаимосвязи, определить ключевые элементы и провести комплексный анализ исследуемой проблемы.

Ключевые слова: системный подход, метаногенез, парниковые газы, болота Западной-Сибири, микробные сообщества, метаногены

Используемые сокращения:

ЛЖК — летучие жирные кислоты;

IPCC — Intergovernmental Panel on Climate Change.

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ СИСТЕМНОГО ПОДХОДА ПРИ ИЗУЧЕНИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Идея рассматривать объект исследования как целостную систему упоминается еще в античной философии и науке, например, в натурфилософском учении Аноксагора (ок. 500 до н. э. — 428 до н. э.) о неразрушимых элементах, из которых происходит всякое возникновение благодаря соединению качеств этих элементов или в системном мировоззрении Аристотеля о космосе и о биологической целесообразности (384 год до н. э. — 322 год до н. э.). Позднее в средние века формируется идея системной организации знания, которая позже получает наибольшее развитие в немецкой классической философии и, в частности, в идеях о системной связи живой и неживой природы И. Канта (1724–1804) и необходимости субординации и координации в системе И.Г. Ламберта (1728–1777).

В биологии первые идеи системной организации связывают со взглядами Клавдия Галена (ок. 130 — ок. 217), который постулировал разную системообразующую функцию артериальной и венозной крови в организме человека. Намного позже в попытке систематизировать природу в целом и исследовать влияние на организмов факторов окружающей среды связаны с работами К. Линнея (1707–1778), Ж.Б. Ламарка (1744–1829), Ч. Дарвина (1809–1882) и И.В. Вернадского (1863–1945).

В начале 1920-х гг. австрийский биолог Людвиг фон Берталанфи (1901–1972) начал изучать живые организмы как системы и обобщил свои выводы в книге «Современная теория развития» (1929). Именно Берталанфи считается разработчиком системного подхода к изучению биологических организмов, хотя у него было несколько предшественников, в частности, русский ученый А. А. Богданов (1873–1928), разрабатывающий теорию организации.

В 30-е годы XX века Берталанфи создает общую теорию систем — научно-методологическую концепцию исследований объектов, включая живые организмы, которые рассматривались как системы, постоянно обменивающиеся со средой веществом и энергией. В рамках этой теории, система — это совокупность взаимодействующих элементов, которые могут, в свою очередь, являться системой более низкого уровня. Структура системы — это совокупность устойчивых связей между элемен-

тами. Свойства объекта как целостной системы определяются не простым суммированием свойств его отдельных элементов, а особыми системообразующими эмерджентными свойствами его структуры [Глаголев и Фастовец, 2012].

Дальнейшее развитие теории систем в рамках биологии привело к возникновению системной биологии. В настоящее время, эта научное направление обрело мощнейшую экспериментальную базу с развитием различных омиксных технологий в биологии и получении огромного количества данных, которые требуют обработки и систематизации.

Термин «системный подход» (system approach) активно используется в научной русскоязычной литературе с 1970-х гг. В англоязычной литературе для обозначения этого понятия чаще используются «системный анализ» (systems analysis) и «общая теория систем» (systems theory).

В целом, системный подход ориентирован на изучение объекта как целостной системы, на выявление ее элементов и типов взаимодействия между ними и обобщения полученных результатов в виде единого теоретического представления. Структурное сходство законов, установленных в различных сферах науки и практики, позволяют выявлять общесистемные закономерности, которые являются основой системного подхода.

СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД С ФОРМАЛЬНОЙ ТОЧКИ ЗРЕНИЯ

В самом общем виде системный подход выражается в стремлении построить целостную картину объекта. Если в качестве объекта рассматривается экосистема, то системный подход состоит в (i) определении образующих ее составных частей и взаимодействующих с ней объектов окружающей среды; (ii) установлении структуры экосистемы, т.е. совокупности внутренних связей и отношений, а также связей между экосистемой и окружающей средой и (iii) нахождении функции (закона функционирования) экосистемы, определяющей характер изменения ее компонентов и связей между ними под действием внешних объектов [Федоров и Гильманов, 1980, 49, 52]. Еще в прошлом веке сложилась весьма четкая схема применения системного подхода (табл. 1).

Таблица 1. **Схема системного подхода (согласно (Федоров и Гильманов, 1980, с. 73, 75, 78-82))**

Название этапа	Пояснение
Постановка задачи	
Концептуализация	Суммирование (в свете поставленной задачи) известных сведений и представлений об изучаемой экосистеме в виде достаточно полной и логически непротиворечивой концептуальной модели. Прежде всего устанавливаются «входы» и «выходы» экосистемы, т.е. связи с соседними экосистемами, с атмосферой, нижележащими геологическими слоями и водными массами, а также с деятельностью человека. Далее раскрывается состав экосистемы (т.е. элементы, из которых она состоит) и ее структура (т.е. способ связи — взаимодействия — между элементами), а также некоторые черты функционирования экосистемы (под функционированием понимается процесс изменения свойств ее элементов в результате реакции на действие внешних факторов и взаимодействий между внутренними элементами).
Спецификация	Определение множества входных переменных и переменных состояния будущей математической модели. В частности, указывается, каким измеримым свойствам (характеристикам) экосистемы и ее внешней среды сопоставляются переменные, какие методы и единицы измерения при этом используются.
Наблюдения	
Идентификация	Установление образующих структуру модели математических соотношений между специфицированными выше переменными.
Эксперименты	
Реализация модели	Расчет переменных состояния с помощью модели.
Проверка модели	
Исследование (анализ) модели	Включает как характеристику общих черт ее поведения в пространстве состояний (таких как существование и единственность, ограниченность, периодичность, устойчивость и др.), так и более конкретное изучение зависимости решения от начального состояния, входов и структуры модели (т.е. от вида использованных зависимостей между переменными модели). На этом этапе широко используется «анализ чувствительности».
Оптимизация	Этот этап возникает не всегда, а лишь для тех моделей, которые строятся с целью оптимизации какой-либо функции системы. Практически всегда необходимость оптимизации возникает в биотехнологии.
Заключительный синтез	В итоге проделанной работы окончательно оцениваются полученные результаты (прежде всего — построенная имитационная модель) и намечаются перспективы для будущих исследований. Традиционно все эти материалы излагаются в сборнике или монографии, где представляются результаты наблюдений и экспериментов, дается описание построенной модели, характеризуются ее возможности, достоинства, недостатки и приводятся примеры использования, например, в целях прогнозирования и оптимизации.

Как видно из приведенной таблицы, современная реализация системного подхода направлена, фактически, на создание математической модели системы. В связи с этим разные этапы системного подхода относятся к сферам различных наук и должны реализовываться коллективом соответствующих специалистов, таких как биологи, физики, математики и программисты. Однако, в настоящей статье обсуждение проблемы метаногенеза в болотных экосистемах ограничивается рамками биологии, и соответственно, этапами «Концептуализация» и «Спецификация», которыми данная проблематика, конечно, не исчерпывается. Существует, в частности, достаточно обширная информация в отношении структуры математических моделей метаногенеза [Калюжный и др., 1988; James, 1993; Grant, 1998; Сабреков и Глаголев, 2008].

СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД В МИКРОБИОЛОГИИ

Применительно к микробной экологии и биогеохимии необходимо отметить выдающиеся работы российского академика Г.А. Заварзина [1933-2011], который активно использовал основные принципы системного подхода при изучении микробных сообществ и их роли в глобальной экологии в своих работах [Заварзин, 2011]. Микроорганизмы, объединенные в сообщества, на основе трофических взаимодействий, представляют собой сложные биологические системы, вовлеченные в различные биогеохимические циклы элементов на Земле.

Применение системного подхода к изучению биологических систем связано с разработкой концепции структурных уровней организации живой материи. Для наиболее полного анализа системы

необходимо прежде всего определить ее иерархический уровень и связи с другими системами. Общепринято относить к организменному уровню целый организм, его подсистемы (например, клетки) к суборганизменному, а популяционно-видовую организацию – к надорганизменному уровням. Однако при рассмотрении микробных систем мы по большей части имеем дело с отдельным одноклеточным организмом, и в этом случае клетка, например, бактерии рассматривается на организменном уровне как единица живого вещества. Тогда системы более высокого уровня относятся к надорганизменным, а более низкого, например, клеточные структуры – к суборганизменным. Тем не менее, взаимодействие различных систем, характеризующих организацию живой материи и их связь с окружающей средой настолько тесная, что комплексное изучение какого-либо системного явления требует определения его положения в иерархическом ранге соподчиненных систем, определения основных межсистемных и внутрисистемных взаимодействий.

Наиболее точной теоретической концепцией такого подхода является иерархический холизм [Заварзин, 1995а], сформировавшийся в современном естествознании и, применительно к биологии, утверждающий, что биологические явления или процессы в природе объединяются в системы, каждая из которой может являться в свою очередь элементом другой системы более высокого ранга и, что точность описания изучаемого объекта связана прежде всего с корректным определением действительной системы, в которой этот объект функционирует. Неверная характеристика исследуемой системы приводит к ложным выводам.

Многообразие уровней структурной организации живой материи определяет дифференциацию биологии, при которой каждый такой уровень более детально изучается соответствующей биологической наукой. В тоже время, системный подход способствует интеграции отдельных биологических дисциплин, предлагая более общий взгляд на различные явления, которые могут быть поняты только при их совокупном рассмотрении в рамках различных биологических направлений.

Одной из актуальных проблем глобальной экологии в настоящее время является проблема изменения климата, обусловленная поступлением в атмосферу парниковых газов, мощными источниками которых являются обширные территории, занятые Западносибирскими болотными экосистемами. Применение системного подхода к изучению данной проблемы позволяет определить соответствующую иерархию взаимодействующих систем и их элементы, играющие ключевую роль в исследуемых биологических процессах (Рис.1) и провести их анализ в рамках соответствующей методологии.

БИОСФЕРА И ГЛОБАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛИМАТА

Изменение состава атмосферы и климата является проблемой планетарного масштаба. Это изменение обусловлено постоянно возрастающей концентрацией в атмосфере основных парниковых газов – метана и CO_2 [IPCC, 2013]. Вместе с увеличением концентрации этих газов наблюдается повышение средней глобальной температуры на Земле со скоростью примерно $0,15^\circ\text{C}$ в десятилетие (Рис.2).

Такое повышение впоследствии может оказать сильное воздействие на различные регионы Земного шара. Этими последствиями могут быть таяние вечной мерзлоты и полярных ледников, увеличение частоты экстремальных погодных явлений и глобальное изменение климатических зон.

Метан является вторым по значимости парниковым газом после CO_2 . Несмотря на то, что концентрация метана в атмосфере значительно ниже, чем углекислого газа, молекула CH_4 обладает парниковым потенциалом (global warming potential – GWP – англ.) в 28 раза более сильным при расчете за 100 последних лет, и в 84 раза сильнее в 20-летней перспективе, чем молекула CO_2 [IPCC, 2014, p.87].

Еще одной важной особенностью метана является его, преимущественно, биологическое происхождение. В совокупности, микробные сообщества различных экосистем генерируют 85-90% метана, поступающего в атмосферу [Ehhalt and Schmidt, 1978]. Метан поступает в атмосферу неравномерно. Определено, что его основная часть приходится на северные широты, а точнее на увлажненные наземные экосистемы, находящиеся в бореальной климатической зоне [Matthews and Fung 1987; Cicerone and Oremland 1988; IPCC 2013, p.505-510].

Таким образом, проблема изучения роли метана как парникового газа в атмосфере на уровне биосферы состоит в изучении его наиболее мощных источников. Для определения таких источников и оценки их потенциала проводятся многочисленные измерения эмиссии метана в различных экосистемах [Adhya et al., 1994; Butterbach-Bahl et al., 2004; Kutzbach et al., 2004; Глаголев и Шнырев, 2007]. Результаты таких измерений обрабатываются и систематизируются в рамках деятельности Межгосударственной комиссии экспертов по изменению климата (IPCC – Intergovernmental Panel on Climate Change), которая представляет периодические отчеты. В таких отчетах обобщаются результаты измерений концентрации и скорости эмиссии метана исследователями, полученные различными методами [Глаголев и



Рис. 1. Иерархия уровней систем и ключевые элементы в контексте проблемы эмиссии метана в атмосферу

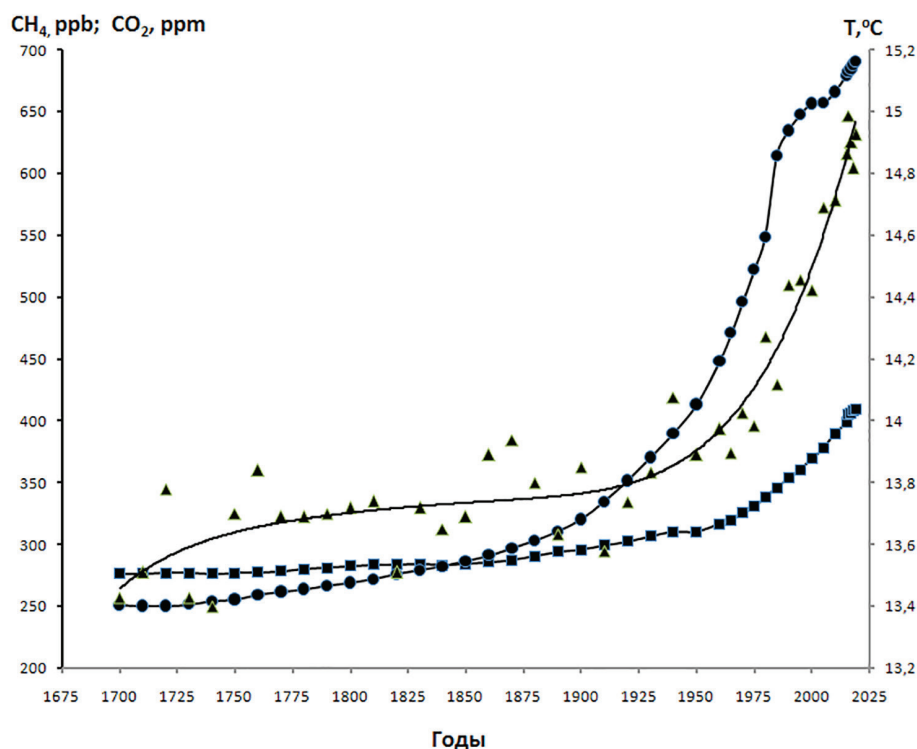


Рис. 2. Повышение температуры (▲) и атмосферной концентрации парниковых газов (CH₄ (●) и CO₂ (■)).
Графики построены по данным сайта: <https://www.methanelevels.org/>

Суворов, 2007; Haddaway et al., 2014; Анисимов и Кокорев, 2015; Kotsyurbenko and Glagolev, 2015; Lin et al. 2015; Terentieva et al., 2016; Li et al. 2019] и в различном масштабе (локальном, региональном, континентальном или глобальном). В зависимости от используемого метода и рассматриваемого масштаба для проведения измерений могут применяться стационарные наземные камеры, метеовышки, самолеты или данные спутников. Так как невозможно провести измерения в каждой географической точке, то для уменьшения неопределенностей в оценках текущей эмиссии метана и предсказания ее изменения в будущем применяется построение различных типов математических моделей [Cao et al., 1995; Glagolev et al., 2012; Sabrekov et al., 2014; Kotsyurbenko et al., 2019].

БОЛОТНАЯ ЭКОСИСТЕМА КАК ИСТОЧНИК МЕТАНА

Основными природными источниками метана, поступающего в атмосферу Земли, являются переувлажненные почвы бореального пояса, которые располагаются в основном на территориях России, Канады, США и скандинавских странах [Glagolev et al. 2012; IPCC, 2013, p.505-510; Haddaway et al., 2014; Webster et al. 2018]. Россия вмещает в себя самые обширные в мире территории болот и заболоченных почв, включая Западно-Сибирскую низменность, территория которой является самой крупной среди территорий, занимаемыми увлажненными землями в мире [Panikov, 1994]. Многочисленные полевые исследования этих экосистем показали, что они являются мощными источниками атмосферного метана [Panikov, 1995; Глаголев и Суворов, 2007; Глаголев и Клепцова, 2009; Sabrekov et al., 2014].

Болота Западной Сибири характеризуются большим разнообразием и по положению в рельефе подразделяются на низинные, верховые и переходные; а их биогеоценозы в зависимости от минерального режима питания — на эвтрофные, олиготрофные и мезотрофные. Каждый из этих типов характеризуется своей растительностью и видом торфа [Masing, 1974; Лисс и др., 2001, с. 84-85, 196-198]. Низинные болота богаты минеральными веществами и, как правило, содержат разнообразную травянистую растительность и имеют значения pH в области слабокислой, нейтральной или слабощелочной реакции среды. Верховые болота питаются в основном атмосферными осадками и потому бедны минеральными компонентами и характеризуются растениями, приспособленными к жизни в условиях лимитированного

питания, и наиболее низкими значениями pH. Болота переходного типа имеют соответственно промежуточные характеристики.

В климатических условиях Западной Сибири болота определяются как природные экосистемы с достаточно низкой среднегодовой температурой с резкими колебаниями в летнее и зимнее время на поверхности и с более стабильной температурой в глубинных слоях [Whalen and Reeburgh, 2000].

В структуру болота входят различные элементы ландшафта, такие как кочки, мочажины, и т.д., что влияет на водный режим и кислородный баланс и является причиной высокой мозаичности эмиссии парниковых газов с одной отдельно взятой болотной системы [Sabrekov et al. 2014, 2016]. В зависимости от пространственного масштаба применяются различные методы оценки продукции и эмиссии метана. Точность оценки зависит от правильно выбранного метода измерения, как можно более полно учитывающего специфику конкретной метан-генерирующей почвенной системы. Так, при полевых измерениях камерные методы напрямую дают информацию об удельном потоке газа с площади, равной основанию камеры, т.е. до 1 м². Оценки с большей площади этим методом также возможно получить, но при этом резко возрастут трудозатраты из-за многократной перестановки камеры или использования множества камер, а измерения будут отчасти косвенные из-за необходимости экстраполяции на участки поверхности, на которых камеры не размещались. Микрометеорологические методы измерения дают надежные оценки эмиссии парниковых газов обычно в диапазоне 105 ÷ 106 м² (для уникальных вышек, на которых сенсор размещается на высотах ~ 60 м фут-принт может возрасти до 108 м²), несмотря на пространственные и временные неоднородности в системе [Глаголев, 2010; Chen et al., 2010; Glazunov et al., 2016]. Причем из физической сути микрометеорологических методов следует их чрезвычайно важная и полезная особенность: они автоматически усредняют пространственные и временные неоднородности в системе, выдавая средний по площади поток. Получение такого среднего потока при помощи камерного метода весьма затруднительно: необходимо провести многократные измерения на каждом типе микрорельефа (кочка, мочажина и т.п.) и учесть долю каждого такого элемента от общей площади болота.

В совокупности различные методы позволяют составить полную картину метаногенеза и скорости его эмиссии в атмосферу. Причем возможна как детализированная (с учетом неоднородностей пространственной структуры и специфики физи-

ко-химических условий в месте измерения), так и усредненная идентификация потока в исследуемой экосистеме. Последнее важно для оценки значимости конкретной экосистемы как источника атмосферного метана и повышает точность прогнозирования потоков парниковых газов.

МИКРОБНЫЙ ЦИКЛ МЕТАНА

Метан образуется в наземных природных экосистемах благодаря деятельности микроорганизмов. Его поступление в атмосферу – результат незамкнутости микробного цикла метана, который также называют циклом Зенгена [Zavarzin, 1995]. Метановый цикл обеспечивается взаимодействием метаногенного и метанотрофного микробных сообществ [Zavarzin, 1995; Каллистова и др., 2017], которые довольно четко разделены пространственно из-за разного отношения к кислороду. Микроорганизмы, участвующие в образовании метана, являются анаэробами, и в присутствии кислорода метаногенез прекращается. Напротив, микробное окисление метана происходит с участием кислорода. В водном слое концентрация растворенного кислорода падает и на некоторой глубине создаются анаэробные условия, в которых функционирует метаногенное сообщество. Образующийся, в результате анаэробной деградации органического вещества, метан далее поступает в верхние слои, где в присутствии кислорода, окисляется аэробными метанотрофами, главным компонентом так называемого бактериального фильтра – сообщества аэробных бактерий, которые перехватывают продукты жизнедеятельности анаэробных микроорганизмов, поступающие из нижних слоев. Если весь метан, образующийся в анаэробной зоне, поглощается бактериальным фильтром, то метановый цикл замкнут. Такая ситуация часто возникает в заболоченных лесах и некоторых болотных экосистемах, в частности, в так называемых рослых рямах (сосново-осоково-кустарничково-сфагновых фитоценозах с уровнем стояния болотных воды на глубине 50-60 см [Лапшина, 2003, с. 57]). Однако, во многих типах болотных ландшафтов часть метана проходит через бактериальный фильтр и поступает в атмосферу, где далее может участвовать в различных фотохимических реакциях и вносить вклад в парниковый эффект.

Таким образом, микробный цикл метана представляет собой сложную систему, в которой осуществляются трофические взаимодействия между двумя основными ее компонентами: метаногенным и метанотрофным микробными сообществами [Заварзин, 1995б;

Conrad, 2007]. Активность сообществ регулируется различными факторами внешней среды, такими как температура, pH, Eh, концентрация кислорода и минеральных элементов, доступность органических субстратов и т.д. Поскольку эти сообщества пространственно разделены, то их регуляция вышеупомянутыми факторами может происходить в достаточной степени независимо. Так температурные условия, напрямую влияющие на скорость метаболических процессов, могут существенно различаться на поверхности и в глубоких слоях торфа, причем эти различия могут варьировать в зависимости от сезона. Соответственно, результат работы метанового цикла будет также варьировать.

Западно-Сибирские переувлажненные почвенные экосистемы являются одним из наиболее мощных естественных источников метана, благодаря специфическим особенностям региона, когда в обширных заболоченных пространствах создаются условия для анаэробного процесса образования метана, а холодные условия препятствуют активной жизнедеятельности бактерий аэробного фильтра и способствуют эмиссии метана в атмосферу.

Из-за пространственного разделения двух микробных сообществ процесс доставки субстрата (метана) от одного сообщества к другому приобретает определенную специфику. В верхние слои метан поступает тремя основными способами: (i) диффузией, (ii) в составе газа пузырьков или (iii) за счет пока еще плохо исследованного механизма переноса, связанного с растениями [Lansdown et al. 1992; Kutzbach et al. 2004].

Таким образом, метановый цикл представляет собой сложную систему взаимодействия микробных сообществ, функционирующих в разных пространственных слоях, и регулируется большим количеством факторов [Conrad, 1996; Limpens et al., 2008].

Для изучения работы метанового цикла исследователи используют мезокосмы (большие почвенные монолиты с ненарушенной структурой) или микрокосмы (почва, перемешанная с водой или культуральной средой, помещенная в какую-либо емкость), которые инкубируют при заданной температуре и исследуют динамику накопления метана во времени. Концентрацию образующегося CH_4 определяют хроматографически. Полученные данные можно также использовать для построения соответствующих моделей происходящих процессов. В случае использования мезокосмов при минимальном воздействии на структуру образца метангенерирующая система находится в состоянии, максимально приближенном к условиям *in situ*.

АНАЭРОБНОЕ МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО

Анаэробное микробное сообщество, образующее метан, является прекрасным примером сложной биологической системы, где все ее компоненты тесно связаны друг с другом трофическими взаимодействиями. Сложные органические вещества разлагаются в таком сообществе поэтапно — продукты одной микробной группы являются субстратами другой, в результате чего совокупная энергия разлагаемых полимерных соединений перераспределяется между различными микробными группами в сообществе (Рис. 3).

Осуществление последовательных метаболических реакций в микробном сообществе обусловлено их термодинамикой, значениями энергии Гиббса, которые должны быть достаточно отрицательными, чтобы микробная группа могла извлекать энергию для поддержания жизнедеятельности. Анаэробные процессы сильно уступают по энергетическому выходу аэробным процессам, поэтому анаэробные организмы вынуждены вступать в тесную тро-

фическую кооперацию (McInerney and Beauty, 1988; Schink, 1997; McInerney et al., 2010).

В зависимости от типа органического вещества, поступающего в анаэробную зону, трофическая структура метаногенного сообщества может сильно различаться. Если основным первичным компонентом является растительный опад, то формируется вся трофическая цепочка. Это — наиболее характерная ситуация в природных экосистемах.

Целлюлоза (главный компонент растительного опада) расщепляется экзоферментами гидролитических микроорганизмов с высвобождением молекул глюкозы, которые далее потребляются теми же гидролитиками, а также большой группой микроорганизмов, осуществляющих различные типы брожения. Основными продуктами ферментации глюкозы, а также других сахаридов и полимеров иной химической природы, например, аминокислот, которые также могут присутствовать в системе и разлагаться параллельно основному метаболическому пути, являются летучие жирные кислоты (ЛЖК), а также водород и углекислый газ

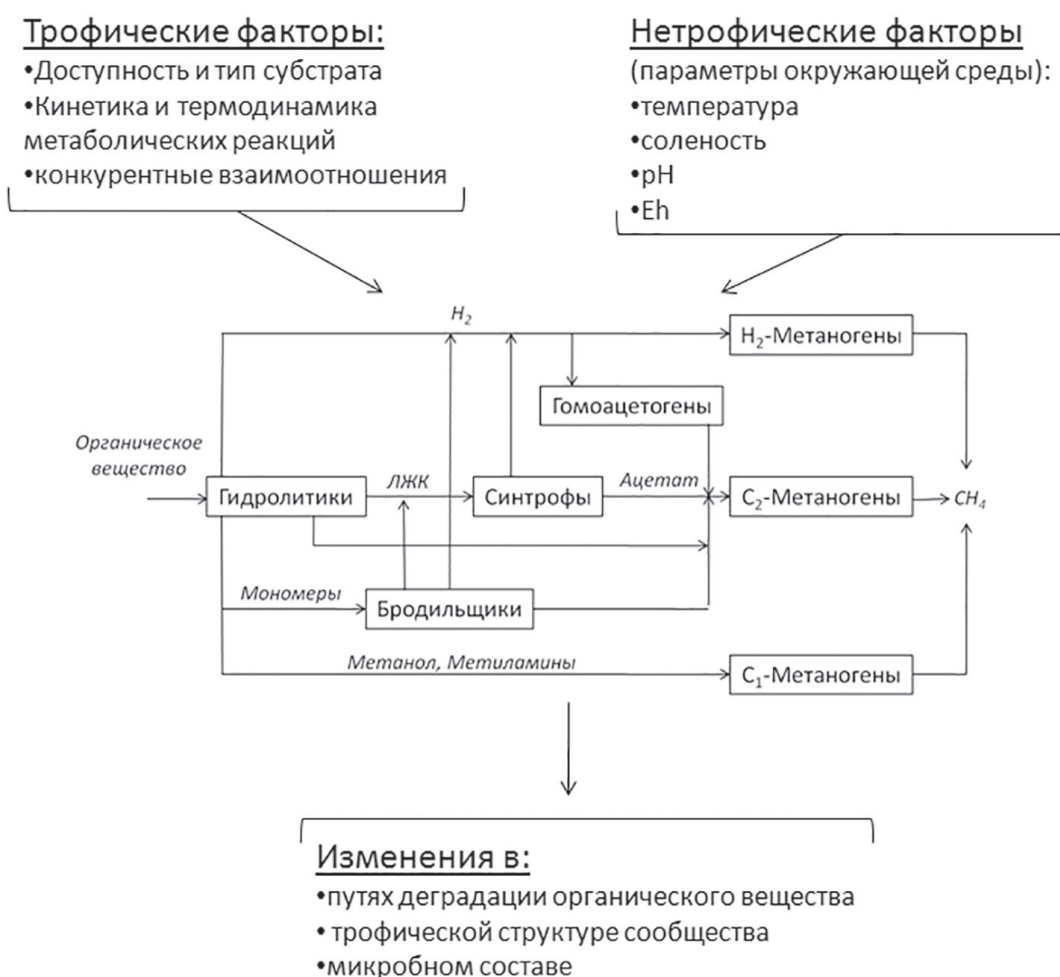
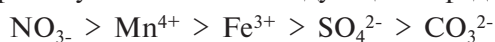


Рис. 3. Метаногенное микробное сообщество как система, основные регулирующие факторы и стратегии устойчивости

Разложение ЛЖК происходит в результате синтрофных взаимодействий. Они являются наиболее тесными микробными взаимодействиями в анаэробном сообществе из-за особенностей термодинамики таких процессов, которые становятся энергодающими для микроорганизмов, их осуществляющих, только если продукты их метаболических реакций (ацетат и водород) активно выводятся из системы в результате потребления другой микробной группой [Schink, 1997; Jakson and McInerney, 2002], находящейся, как правило, в самом конце трофической цепи. В качестве такой терминальной группы, использующей простые соединения для своего метаболизма, могут выступать микроорганизмы осуществляющие различные типы анаэробного дыхания и использующие различные неорганические акцепторы электронов, термодинамическая эффективность реакций с которыми уменьшается в следующем порядке:



Поскольку в природных болотных системах все акцепторы электронов, кроме карбонатов, как правило, лимитированы, то анаэробы, осуществляющие карбонатный тип дыхания являются главной терминальной группой, и продукты их жизнедеятельности являются конечными продуктами сообщества [Kotsyurbenko, 2005]. В подавляющем большинстве случаев такими микроорганизмами являются метаногены, принадлежащие к группе архей. Тем не менее, необходимо учитывать возможную конкуренцию за общие субстраты между метаногенами и другими терминальными группами, например, железоредуцирующими бактериями [Küsel et al., 2008].

Метаногенная микробная система регулируется различными факторами, которые можно разделить на две основные группы – трофические и нетрофические (Рис.3). Трофические микробные взаимодействия составляют структурную основу функционирования метаногенного сообщества. При сбалансированном функционировании сообщество как система имеет замкнутую трофическую структуру и конечным продуктом его жизнедеятельности является метан. Этому способствуют стабильные внешние условия и регулярное поступление необходимых питательных веществ в систему. При этом в сообществе формируется такие трофические взаимодействия, когда концентрация промежуточных метаболитов находится на стабильно низком уровне. Если при этих условиях в системе наблюдается линейное возрастание концентрации метана, то метаногенная система является сбалансированной. Такое состояние, например, возможно достичь в лабораторных инкубационных экспериментах, в которых происходит метаногенная деградация органического вещества при контролируемых условиях процесса.

В природе такое состояние может достигаться в течение определенного периода. Сезонные изменения условий внешней среды, и прежде всего температуры как нетрофического фактора, воздействуют на стабильность метаногенного сообщества, которое стремится адаптироваться к происходящим изменениям посредством перестановок в его трофической структуре, в результате чего могут меняться основные пути деградации органических соединений, что приводит к перенаправлению потоков вещества, проходящих через микробное сообщество.

Основными изменениями трофической структуры метаногенного сообщества связаны с изменениями в метаболических путях, осуществляемых одной и той же микробной группой, например, в сторону более восстановленных соединений, или с заменой ключевых микробных групп в трофической цепи. Изменения первого типа наиболее характерны для микробных групп, находящихся в начале трофической цепи, способных осуществлять брожение более сложных органических соединений с образованием нескольких продуктов. Например, в случае если потребление водорода – основного промежуточного соединения в микробной системе, участвующего в различных регулирующих взаимодействиях, затруднено, то регуляция процессов брожения происходит в сторону от ацетата как наиболее окисленного продукта к этанолу или более восстановленным формам ЛЖК с целью компенсации избытка восстановительных эквивалентов в системе. Изменение второго типа относится больше к микроорганизмам терминального положения в трофической цепи, использующим простые соединения и синтезирующим один или два конечных продукта.

В целом, стратегия метаногенного микробного сообщества направлена на сохранения основной его системной структуры в изменяющихся условиях внешней среды.

Для определения метаболического потенциала отдельной микробной группы, входящей в состав метаногенного сообщества, используют метод внесения элективных субстратов с последующим исследованием динамики накопления продуктов их разложения. Возможность варьирования условий инкубационных экспериментов позволяет получить данные для моделирования микробных метаногенных процессов.

Для оценки скорости определенного пути метаногенеза используются специфические ингибиторы, блокирующие общий метаногенез или его отдельный метаболический путь [Conrad, Klose, 2000; Kotsyurbenko et al., 2004, 2007], а также радиоактивные субстраты метаногенов, которые преобразуются в радиоактивный метан в процессе жизнедеятельности микроорганизмов, детектируемый далее специальными счетчиками радиоактивности [Conrad, Klose, 1999].

ОСОБЕННОСТИ СУЩЕСТВОВАНИЯ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ КАК БИОЛОГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

Основной принцип иерархического холизма — субординация различных систем, их соподчиненность. Микробные сообщества являются ключевыми системами в рамках экологической микробиологии. В качестве элементов таких систем рассматриваются единицы живого вещества — микроорганизмы, связанные трофически и активно взаимодействующие с внешней средой. Основные системные свойства микробного сообщества были подробно рассмотрены в работах Г.А. Заварзина [2015].

Формирование микробного сообщества происходит по системному принципу целесообразности. Включения того или иного организма в его состав зависят не от того, насколько высоким потенциалом этот организм обладает в отношении присущего ему метаболического процесса, а от того, насколько выгодно его включение самому сообществу в отношении увеличения потенциала сообщества в целом при его функционировании в окружающей среде и повышения его устойчивости как системы.

Одновременно микроорганизмы, включенные в сообщество, вступают в кооперативные взаимовыгодные отношения. Таким образом, можно сказать, что микробное сообщество возникает на основе неадарвиновских законов и главной движущей силой при его формировании является кооперация, а не конкуренция, последняя играет лишь регулирующую роль [Заварзин, 1995а].

Успешное функционирование сообщества зависит от согласованной работы всех его элементов, и его структурная устойчивость определяется согласно закону Ле Шателье, сформулированному изначально для физических и химических систем: если система, находящаяся в равновесии, подвергается воздействию, отклоняющему эту систему от состояния равновесия, то в ней возникают процессы, противодействующие этому отклонению. В этой связи сообщество как система сопротивляется включению в свой состав чужеродного элемента, который способен понизить его устойчивость. Искусственное введение какого-либо организма в природную систему будет приводить к его элиминированию в случае противоречия системному свойству целесообразности для микробного сообщества.

Устойчивость микробного сообщества как системы определяется способностью сохранять основную структуру под воздействием различных факторов внешней среды. Устойчивость такой биологической системы зависит от сохранения ее функциональной значимости для окружающей экосистемы — системы более высокого порядка. Метаногенное микробное сообщество обладает

различными механизмами адаптации к изменению условий окружающей среды. Как уже было сказано, на воздействие различных факторов окружающей среды система реагирует перестройкой своей трофической структуры и изменением состава ключевых микроорганизмов (Рис. 3).

Способность к адаптации сообщества тем выше, чем разнообразнее метаболические пути и микробные группы их осуществляющие. Важным системным признаком микробного сообщества является первостепенное значение функциональной составляющей над таксономической. Установлено, например, что в разных типах болотных систем эвтрофных, мезотрофных и олиготрофных метаногенные микробные сообщества функционально сходные, однако, таксономически могут существенно различаться [Hunger et al., 2015]. На позициях ключевых микробных групп, характерных для трофической структуры каждого из таких сообществ, могут находиться филогенетически разные микроорганизмы [Stoeva et al., 2014]. Иными словами, разнообразие метаболических путей и таксономических групп в сообществе — важный механизм сохранения функции.

Чем экстремальнее внешние условия, тем меньше микробное разнообразие, и тем сложнее микробному сообществу сохранять функциональную составляющую при изменении внешних условий и соответственно ниже адаптационный потенциал. Тем не менее, при достаточно стабильных условиях формируется микробная система, состоящая из экстремофильных микроорганизмов, устойчивость которой ко всему прочему определяется также специфичностью условий их экологической ниши, в которых востребованы их уникальные неконкурентные адаптационные механизмы выживания и необходимые функциональные возможности.

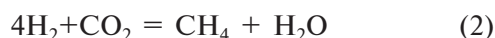
Таким образом, функциональная составляющая оказывается наиболее важной характеристикой микробного сообщества и определяет целесообразность его существования в той или иной экосистеме. Специализация увеличивает потенциал организма на выполнение какой-либо функции, тогда как универсализм повышает его адаптационные возможности. Очевидно, природа выбирает ту или иную стратегию в зависимости от экосистемной целесообразности. Если адаптационные возможности сообщества не в состоянии противостоять внешним факторам, иными словами, если воздействие на систему слишком велико, то закон Ле Шателье уже не выполняется, и сообщество распадается или меняет свою структуру, что означает переход в новое стационарное состояние — новую биологическую систему.

МЕТАНОГЕНЫ КАК КЛЮЧЕВАЯ МИКРОБНАЯ ГРУППА И ИХ КОНКУРЕНТЫ

Метаногенные археи находятся в конце трофической цепи анаэробного микробного сообщества, образующего метан в качестве конечного продукта разложения сложных органических соединений. В отсутствие иных акцепторов электронов, кроме CO_2 , они являются единственной терминальной микробной группой, что характерно для болотных экосистем, обедненных минеральными компонентами.

В трофической цепи анаэробного микробного сообщества метаногены представлены тремя группами: водород-использующими (с CO_2 в качестве источника углерода и акцептора электронов), ацетат-использующими (ацетокластическими) и потребляющими простые одноуглеродные (C_1 -) соединения (метилотрофными). В пресноводных наземных экосистемах, включая болота и заболоченные почвы, основными трофическими группами метанообразующих архей являются ацетокластические и H_2 -использующие метаногены. Процентное соотношение этих двух путей метаногенеза в экосистеме, является важной характеристикой микробного сообщества, осуществляющего деградацию органического вещества. Обычно в сбалансированной системе при умеренных температурах, нейтральных pH и отсутствии иных, кроме CO_2 , акцепторов электронов соотношение ацетокластического и водородного метаногенеза равно 2/1. Это обусловлено тем, что разложение органики в природных наземных экосистемах по классическому варианту происходит с образованием, приблизительно, 1 моля ацетата и 2 молей водорода, и что терми-

нальной группой являются метаногены. Тогда исходя их стехиометрии реакций образования метана из ацетата и водорода и CO_2 , получается вышеуказанное соотношение (2/1) этих путей метаногенеза.



На изменение этого соотношения может повлиять изменение состава продуктов разложения органики с образованием, например, большего количества водородных эквивалентов или потребления ацетата в результате другого метаболического процесса (соотношение сдвигается в сторону H_2 -метаногенеза), а также при возрастании конкурентных отношений метаногенов с другими микробными группами за водород (соотношение сдвигается в сторону ацетокластического метаногенеза).

В пресноводных наземных системах основными конкурентами метаногенов за водород являются гомоацетатные бактерии, также осуществляющие автотрофный процесс потребления водорода и углекислого газа, но с образованием ацетата вместо метана:



Гомоацетогены обладают более высокой скоростью роста по сравнению с метаногенами в условиях пониженных температур, характерных для большинства наземных экосистем, включая болотные системы, и способны выигрывать конкуренцию за водород при его избытке [Kotsyurbenko et al., 2001]. Однако, в большинстве случаев в природных условиях метаногены, обладающие намного более вы-

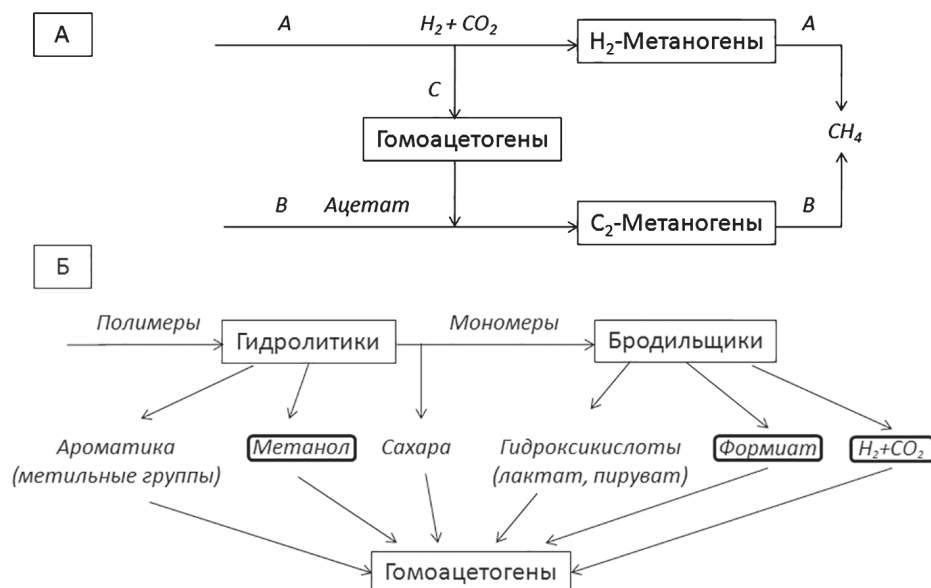


Рис. 4. Трофические взаимоотношения между гомоацетатными бактериями и метаногенными археями в анаэробном микробном сообществе. **А** — Основные потоки вещества, проходящие через терминальные микробные группы метаногенного сообщества, **Б** — Доступность субстратов для гомоацетатных бактерий в анаэробном микробном сообществе (вещества в рамке — конкурентные субстраты гомоацетогенов и метаногенов).

соким сродством к водороду, перехватывают этот субстрат, снижая и удерживая его концентрацию до недоступной для гомоацетогенов. В результате такой конкуренции потребление водорода может проходить не по метаногенному пути А-А, а по гомоацетогенному пути с последующим потреблением ацетата А-С-В и соответствующим увеличением вклада ацетокластического метаногенеза в общую продукцию CH_4 (Рис. 4а).

Однако, в отличие от метаногенов, субстратный спектр гомоацетатных бактерий достаточно разнообразен [Drake et al., 1997, 2008]. Поэтому они могут поддерживать свою численность в сообществе на достаточном уровне, поскольку имеют возможность переключаться на другие субстраты (Рис. 4б).

Таким образом, совокупность факторов, как трофических, так и нетрофических определяет результат конкуренции этих двух микробных групп за водород. Роль гомоацетатных бактерий может возрастать в эвтрофных системах при пониженных температурах, когда происходят достаточно интенсивные процессы деградации органического вещества [Kotsyurbenko, 2005]. В стабильных олиготрофных экосистемах метаногены являются главной терминальной группой, причем роль водородного метаногенеза может возрастать.

Важнейшими нетрофическими факторами, влияющими на функцию микроорганизмов, являются температура и pH. Поскольку подавляющая часть болотных систем, включая всю экосистему Западной Сибири, находится под влиянием пониженных температур, актуальным в отношении образования метана и его эмиссии в атмосферу являлось открытие и изучение физиологии психрофильных или психротолерантных метаногенов. Впоследствии Г.А.Заварзин ввел термин: «психроактивный» [Zavarzin, 1995], более четко характеризующий экологическую роль данной физиологической группы. Действительно, многие микроорганизмы в холодных наземных экосистемах имеют достаточно высокие температурные оптимумы роста, которые могут быть намного выше, чем температурные максимумы в экосистеме их обитания. Вместе с тем, они достаточно активно (условно активно, так как все процессы при пониженных температурах происходят с намного меньшей скоростью, чем при повышенных температурах) осуществляют процессы деградации, сохраняя баланс в сообществе. Интересно, что именно психроактивные микроорганизмы могут доминировать в постоянно холодных экосистемах.

Значения pH в болотных системах колеблется от близких к нейтральным (6,5–7,0) в эвтрофных болотах до довольно кислых (3,5–4,0) в олиготрофных системах. Долгое время выделить ацидофильных метаногенов не удавалось. Однако, прогресс

в этом направлении был достигнут, когда исследователи сделали сильный акцент на подбор и варьирование среды культивирования в отношении ее соответствия составу минеральных компонентов естественной среды обитания, отказавшись от классической среды для метаногенов [Bräuer et al., 2006, 2011]. Оказалось, что ацидофильные метаногены из болот особенно чувствительны к высокой ионной силе, которая создается повышенными концентрациями минеральных солей.

Таким образом, на системном уровне микробной группы идентифицируется ключевой микробный агент, ответственный за образование метана в болотных экосистемах, определяется его потенциал в конкурентных взаимоотношениях с другими микробными группами и основные факторы, регулирующие его активность.

БИОХИМИЯ МЕТАНОГЕНЕЗА

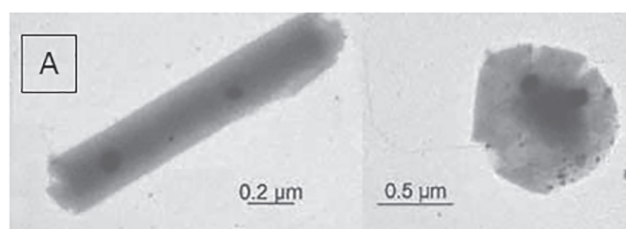
Метаногенез как метаболический процесс является одной из подсистем, функционирующей в клетках метаногенных архей. Особенностью данного метаболического пути является уникальная ферментная система, которая содержится только у метаногенов [Thauer, 1998]. Благодаря специфическим ферментам, осуществляющим данную последовательность реакций, метаногены получили возможность извлекать энергию для своей жизнедеятельности при синтезе метана из различных простых соединений.

Процесс синтеза метана микроорганизмами считается одним из наиболее древних, если не самым древним, метаболическим процессом, используемым земными организмами, причем из-трех возможных путей синтеза метана (водородного, ацетокластического и метилотрофного) водородный путь датируется как наиболее древний [Battistuzzi et al., 2004; Borrel et al., 2016; Martin and Sousa, 2016]. По последним оценкам ученых так называемый LUCA (Last Universal Common Ancestor – Последний Универсальный Общий Предок всех живых земных организмов [Марков и 544 Наймарк, 2014]), вполне возможно, имел протосистему метаболических реакций, основанную на получении энергии через генерацию CH_4 [Weiss et al., 2016].

Помимо обитания в древних земных экосистемах, метаногены рассматриваются в качестве возможных модельных организмов внеземных экосистем в рамках астробиологической концепции поиска жизни [Taubner 2015, 2018]. Эти микроорганизмы, способные использовать такие простые соединения, как водород и углекислый газ, в качестве источников углерода и энергии с образованием метана, могут существовать практически в любых экосистемах, бедных органикой, где вышеназванные газы доступны в необходимых

количествах. Интересным в этой связи является микробное сообщество экосистемы глубоких подземных вод, где трофическая цепочка начинается как раз с вышеупомянутых газов, и где было обнаружено, что сильно преобладающими микробными группами являются литотрофные метаногенные археи и гомоацетатные бактерии [Kotelnikova and Pedersen, 1997; Chapelle et al., 2002]. Метан, в частности, предлагается считать важным биомаркером возможной микробной жизнедеятельности на других космических телах [Seager et al., 2016].

Уникальность ферментов метаногенеза позволила также разработать метод маркеров метаногенных архей с целью их качественной и количественной идентификации в исследуемом микробном сообществе. В основе данного метода используется специфическая последовательность гена, кодирующего один из ключевых ферментов метаногенеза — метил-коэнзим М редуктазу (methyl-coenzyme M reductase -MCR). В результате данного метода оказывается возможным идентифицировать присутствие различных метаногенных архей в экосистемах [Friedrich, 2005]. Этот метод идентификации метаногенов по функциональному гену широко применяется также и для изучения разнообразия метаногенов в болотных экосистемах. Установлено, что в увлажненных землях различных регионов, включая Западную Сибирь, присутствуют метаногены всех трофических групп, и их разнообразие сильно зависит от типа болотной системы [Kotsyurbenko et al., 2004, 2007; Yavitt et al., 2006, 2012; Andersen et al., 2013]. Основными преобладающими семействами метаногенов являются *Methanomicrobiaceae*, *Methanobacteriaceae* и *Methanococcaceae* и, сравнительно недавно открытые ацидо-толерантные метаногены семейства *Methanoregulaceae*, осуществляющие водород-зависимый путь синтеза метана, а также ацетокластические представители *Methanosaetaceae* и представители *Methanosarcinaceae*, способные осуществлять все три основных пути метаногенеза [Basiliko et al., 2003; Kotsyurbenko et al., 2004; Galand et al., 2005; Narrowe et al., 2017] (Рис. 5).



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Системность и целостность являются важнейшими признаками живых объектов. Биологические системы являются одними из наиболее сложных систем по типу организации. Сложная система состоит из большого числа независимых переменных и большого количества связей между ними, что обуславливает увеличение у нее эмерджентных свойств.

Использование принципа системности для успешного исследования какой-либо научной проблемы предполагает, в частности, идентификацию основной системы, в рамках которой поставленная задача будет решаться, определение ее ключевых элементов, взаимосвязей между ними и основных регулирующих факторов, а также установление положения исследуемой системы относительно других систем (уровень иерархии).

Проблема парниковых газов и их влияние на климат относится к сложным комплексным проблемам, изучение которых требует применение системного подхода. Чтобы понять механизмы образования и эмиссии метана, одного из основных и активных парниковых газов биологического происхождения необходимо изучить взаимодействие систем различных уровней, в которых этот газ играет ключевую роль. Структура и взаимосвязь различных систем устанавливается как по горизонтальному, так и по вертикальному уровню.

Обширные заболоченные территории Западной Сибири являются ключевыми экосистемами в рамках данной проблематики как источники больших количеств метана, поступающего в атмосферу. Метаногенные микробные сообщества, функционирующие в этих регионах, образуют метан в условиях пониженных значений температуры и pH, в результате сложных трофических взаимодействий, в которых главной микробной группой являются метаногенные археи, находящиеся в конце трофической цепи анаэробного микробного сообщества и обладающие уникальной ферментной системой для получения энергии. Их метаногенная активность регулируется различными факторами, которые необходимо учитывать при прогностическом моделировании процессов метаногенеза в условиях изменений в окружающей среде.

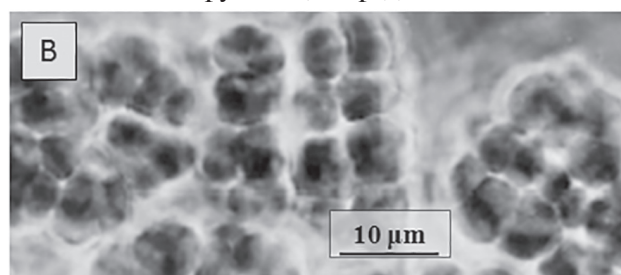


Рис. 5. Метаногены, выделенные в холодных пресноводных экосистемах. **А** — *Methanoregula boonei* штамм 6A8, имеющая палочковидную (а) и кокковидную (б) морфологию (Фотографии взяты с Genome Portal: <https://genome.jgi.doe.gov/portal/metbo/metbo.home.html>. Оригинальная публикация: Bräuer et al., 2011); **Б** — *Methanosarcina lacustris*. (Фотографии предоставлены автором оригинальной публикации: Simankova et al., 2011).

Системный анализ проблемы образования парникового газа метана требует вовлечения методологии и научного потенциала различных дисциплин биологического направления таких как экология, биогеохимия, микробиология, молекулярная биология и т.д. В результате комплексного решения поставленных задач затрагивается широкий круг научных вопросов от функционирования современных биогеохимических циклов до проблемы происхождения жизни.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа была профинансирована в рамках выполнения проекта РФФИ 18-45-860015 p_a и государственной программы АААА-А15-115122810146-4.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Анисимов О.А., Кокорев В.А. 2015. Сравнительный анализ наземных, морских и спутниковых измерений метана в нижней атмосфере российской части Арктики в условиях изменения климата // Исследование Земли из космоса. Т. 2. С. 1–14. [Anisimov O.A., Kokorev V.A. 2015. Comparative analysis of land, sea and satellite measurements of methane in the lower atmosphere of the Russian part of the Arctic under climate change// Earth exploration from space. V 2. P. 1–14. (In Russian)]. doi: 10.7868/S0205961415020037
- Глаголев М.В. 2010. К методу «обратной задачи» для определения поверхностной плотности потока газа из почвы // Динамика окружающей среды и глобальные изменения климата. Т. 1. № 1. С. 17–36. [Glagolev M.V. 2010. On the «inverse problem» method for determining the surface density of gas flow from the soil // Environmental Dynamics and Global Climate Change. V. 1. No.1. P. 17–36. (In Russian)].
- Глаголев М.В., Клепцова И.Е. 2009. Эмиссия метана в лесотундре: к созданию «стандартной модели» (Aa2) для Западной 613 Сибири // Вестник Томского государственного педагогического университета. Т. 3. С. 77–81. [Glagolev M.V., Kleptsova I.E. 2009. Methane emission in the forest-tundra: towards the creation of a «standard model» (Aa2) for Western Siberia // Bulletin of Tomsk State Pedagogical University. V 3. P. 77–81. (In Russian)].
- Глаголев М.В., Суворов Г.Г. 2007. Эмиссия метана болотными почвами Средней Тайги Западной Сибири (на примере Ханты-Мансийского Автономного Округа) // Доклады по экологическому почвоведению. Т. 2. С. 90–162. [Glagolev M.V., Suvorov G.G. 2007. Methane emission by marsh soils of the Middle Taiga of Western Siberia (on the example of the Khanty-Mansiysk Autonomous Okrug) // Reports on ecological soil science. V. 2. Iss. 6. P. 90–162. (In Russian)].
- Глаголев М.В., Фастовцев И.А. 2012. Апология редукционизма (редукционизм — как мировоззренческая основа 619 математического моделирования) // Динамика окружающей среды и глобальные изменения климата. Т. 3. С. 1–24. [Glagolev M.V., Fastovets I.A. 2012. Apology of reductionism (reductionism as the worldview of mathematical modeling) // Environmental dynamics and global climate change. V. 3. № 2 (6). P. 1–24. (In Russian)].
- Глаголев М.В., Шнырев Н.А. 2007. Динамика летне-осенней эмиссии CH₄ естественными болотами (на примере юга Томской области) // Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение. Т. 1. С. 8–14. [Glagolev M.V., Shnyrev N.A. 2007. Dynamics of summer-autumn CH₄ emission by natural bogs (by the example of the south of the Tomsk Region) // Moscow University Herald. Series 17: Soil Science. V. 1. P. 8–14. (In Russian)]. doi: 10.3103/s0147687407010024
- Заварзин Г.А. 1995а. Анти-рынок в природе. Природа. Т. 3. С. 46–60. [Zavarzin G.A. 1995a. Anti-rynok v prirode // Priroda. V. 3. P. 46–60. (In Russia)].
- Заварзин Г.А. 1995б. Микробный цикл метана в холодных условиях. Природа. 6:3–14. [Zavarzin G.A. 1995b. Mikrobnyy tsikl metana v kholodnykh usloviyakh // Priroda. V. 6. P. 3–14. (In Russian)].
- Заварзин Г.А. 2015. Избранные труды. МАКС Пресс, Москва: 512 с. [Zavarzin G.A. 2015. Selected Works. M.: MAX Press. 512 p. (In Russian)].
- Заварзин Г.А. 2011. Какосфера. Философия и публицистика. Ruthenica, Москва: 460с. [Zavarzin G.A. 2011. Kakosfera. Filosofiya i Publitsistika. M.: Ruthenica. 460 p. (In Russian)].
- Каллистова А.Ю., Меркель А.Ю., Тарновецкий И.Ю., Пименов Н.В. 2017. Образование и окисление метана прокариотами // Микробиология. Т. 86. С. 661–683. [Kallistova A.Yu., Merkel A.Yu., Tamovetsky I.Yu., Pimenov N.V. 2017. The formation and oxidation of methane by prokaryotes // Microbiology. V. 86. № 6. P.661–683. (In Russian)]. doi: 10.7868/S002636561706009X
- Калюжный С.В., Пузанков А.Г., Варфоломеев С.Д. 1988. Биогaz: проблемы и решения // Биотехнология (Итоги науки и 627 техники ВИНТИ АН СССР). Москва, Т. 21. С. 26–32 [Kalyuzhny S.V., Puzankov A.G., Varfolomeev S.D. 1988. Biogaz: problem i resheniya // Biotekhnologiya (Itogi Nauki i 627 Tekhniki VINITI AN SSSR), Moscow, V. 21. P. 26–32. (In Russian)].
- Лисс О.Л., Абрамова Л.И., Аветов Н.А., Березина Н.А., Инишева Л.И., Курнишкова Т.В., Слукa З.А., Толпышева Т.Ю., Шведчикова Н.К. 2001. Болотные системы Западной Сибири и их природоохранное значение. Тула: Гриф и К. 584 с. [Liss O.L., Abramova L.I., Avetov N.A., Berezina N.A., Inisheva L.I., Kurnishkova T.V., Sluka Z.A., Tolpysheva T.Yu., Shvedchikova N.K. 2001. Bolotnyye Sistemy Zapadnoy Sibiri i Ikh Prirodookhrannoye Znachenie. Tula: Grif and K. 584 P. (In Russian)].
- Мазинг В.В. 1974. Актуальные проблемы классификации и терминологии в болотоведении // Типы болот СССР и принципы их классификации / Под ред. Т.Г. Абрамовой, М.С. Боч и Е.А. Галкиной. Л: Наука. С. 6–12. [Masing V.V. 1974. Aktual'nye problemy klassifikatsii i terminologii v bolotovedenii // Tipy Bolot SSSR i Printsipy Ikh Klassifikatsii / Abramova T.G., Botch M.S., Galkina E.A. (eds.). Leningrad: Nauka. P. 6–12. (In Russian)].
- Марков А., Наймарк Е. 2014. Эволюция. Классические идеи в свете новых открытий. М: ACT: CORPUS. 57 с. [Markov A., Naimark E. 2014. Evolyutsiya. Klassicheskie Idei v Svine Novykh Otkrytiy. M.: AST: CORPUS. P. 57. (In Russian)].
- Сабреков А.Ф., Глаголев М.В. 2008. К математическому моделированию микробного сообщества цикла метана // Динамика окружающей среды и глобальные изменения климата. Т. 1. С. 84–97. [Sabrekov A.F., Glagolev M.V. 2008. On the mathematical modeling of the microbial community of the methane cycle // Environmental Dynamics and Global Climate Change. V 1. P. 84–97. (In Russian)].
- Федоров В.Д., Гильманов Т.Г. 1980. Экология. Москва: Изд-во МГУ. 464 с. [Fedorov V.D., Gilmanov T.G. 1980. Ecologia. M.: Publishing House of Moscow State University. 464 p. (In Russian)].
- Adhya T.K., Rath A.K., Gupta P.K., Rao V.R., Das S.N., Parida K.M., Parashar D.C., Sethunathan N. 1994. Methane emission from flooded rice fields under irrigated conditions // Biol. Fertil. Soils. V. 18. P. 245–248.
- Andersen R., Chapman S.J., Artz R.R.E. 2013. Microbial communities in natural and disturbed peatlands: a review // Soil Biol. Biochem. V. 57. P. 979–994.
- Aselmann I., Crutzen P.J. 1989. Global distribution of natural freshwater wetlands and rice paddies, their net primary productivity, seasonality and possible methane emissions // J.Atmos.Chem. V. 8. P. 307–358.
- Basiliko N., Yavitt J.B., Dees P.M., Merkel S.M. 2003. Methane biogeochemistry and methanogen communities in two northern peatland ecosystems, New York State // Geomicrobiol. J. V. 20. P. 563–577.
- Battistuzzi F.U., Feijao A., Hedges S.B. 2004. A genomic timescale of prokaryote evolution: insights into the origin of methanogenesis, phototrophy, and the colonization of land // BMC Evol. Biol. V. 4. P. 44. doi: 10.1186/1471-2148-4-44
- Borrel G., Adam P.S., Gribaldo S. 2016. Methanogenesis and the Wood–Ljungdahl Pathway: An Ancient, Versatile, and Fragile Association Genome // Biol. Evol. V. 8. No. 6. P. 1706–1711. doi:10.1093/gbe/eww114
- Bräuer S.L., Cadillo-Quiroz H., Ward R.J., Yavitt J.B., Zinder S.H. 2011. Methanoregula boonei gen. nov., sp. nov., an acidiphilic methanogen isolated from an acidic peat bog // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. V. 61. P. 45–52. doi: 10.1099/ijs.0.021782-0
- Bräuer S.L., Cadillo-Quiroz H., Yashiro E., Yavitt J.B., Zinder S.H. 2006. Isolation of a novel acidiphilic methanogen from an acidic peat bog // Nature. V. 442. P. 192–194.
- Butterbach-Bahl K., Kock M., Willibald G., Hewett B., Buhagiar S., Papen H., Kiese R. 2004. Temporal variations of fluxes of NO, NO₂, N₂O, CO₂, and CH₄ in a tropical rain forest ecosystem // Global Biogeochem. Cycles. V. 18. GB3012.
- Cao M., Dent J.B., Heal O.W. 1995. Modeling methane emissions from rice paddies // Global Biogeochem. Cycles. V. 9. P. 183–195.
- Chapelle F.H., O'Neill K., Bradley P.M., Methe A.B.A., Ciufo S.A., Knobel L.L., Lovley D.R. 2002. A hydrogen-based subsurface microbial community dominated by methanogens // Nature. V. 415. P.312–315.
- Chen B., Ge Q., Fu D., Yu G., Sun X., Wang S., Wang H. 2010. A data-model fusion approach for upscaling gross ecosystem productivity to the landscape scale based on remote sensing and flux footprint modelling // Biogeosciences. V. 7. Iss. 9. P. 2943–2958.
- Cicerone R.J., Oremland R.S. 1988. Biogeochemical aspects of atmospheric methane // Global Biogeochem. Cycles. V. 2. P. 299–327.
- Conrad R. 1996. Soil microorganisms as controllers of atmospheric trace gases (H₂, CO, CH₄, OCS, N₂O, NO) // Microbiol. Rev. V. 60. P. 609–640.
- Conrad R. 2007. Microbial ecology of methanogens and methanotrophs // Advan. Agron. V. 96. P. 1–63. doi: 10.1016/S0065-2113(07)96005-8.
- Conrad R., Klose M. 1999. Anaerobic conversion of carbon dioxide to methane, acetate and propionate on washed rice roots // FEMS Microbiol. Ecol. V. 30. № 30. P. 147–155.
- Conrad R., Klose M. 2000. Selective inhibition of reactions involved in methanogenesis and fatty acid production on rice roots // FEMS Microbiol. Ecol. V. 34. № 1. P.27–34.
- Drake H.L., Daniel S.L., Küsel K., Matthies C., Kuhner C., Braus-Stromeier S. 1997. Acetogenic bacteria: what are the *in situ* consequences of their diverse metabolic versatility? // BioFactors. V. 6. P. 13–24.

36. Drake H.L., Göbner A.S., Daniel S.L. 2008. Old Acetogens, New Light // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1125: 100–128, doi: 10.1196/annals.1419.016
37. Ehrlert D.H., Schmidt U. 1978. Sources and sinks of atmospheric methane // *Pageoph.* V. 116. P. 452–464.
38. Friedrich M.W. 2005. Methyl-Coenzyme M reductase genes: unique functional markers for methanogenic and anaerobic methane-oxidizing archaea // *Methods Enzymol.* V. 397. P. 428–442. doi: 10.1016/S0076-6879(05)97026-2
39. Galand P.E., Fritze H., Conrad R., Yrjälä K. 2005. Pathways for methanogenesis and diversity of methanogenic archaea in three boreal peatland ecosystems // *Appl. Environ. Microbiol.* V. 71. P. 2195–2198.
40. Glagolev M.V., Sabrekov A.F., Kleptsova I.E., Filippov I.V., Lapshina E.D., Machida T., Maksyutov S.S. 2012. Methane emission from bogs in the subtaiga of Western Siberia: the development of standard model // *Eurasian Soil Sci.* V. 45. P. 947–957. doi: 10.1134/S106422931210002X
41. Glazunov A., Rannik Ü., Stepanenko V., Lykosov V., Auvinen M., Vesala T., Mammarella I. 2016. Large-eddy simulation and stochastic modelling of Lagrangian particles for footprint determination in the stable boundary layer // *Geosci. Model Dev.* V. 9. P. 2925–2949.
42. Grant R.F. 1998. Simulation of methanogenesis in the mathematical model ecosystem // *Soil Biol. Biochem.* V. 30. P. 883–896.
43. Haddaway N.R., Burden A., Evans C.D., Healey J.R., Jones D.L., Dalrymple S.E., Pullin A.S. 2014. Evaluating effects of land management on greenhouse gas fluxes and carbon balances in boreotemperate lowland peatland systems // *Environ. Evid.* V. 3:5. doi: 10.1186/2047-2382-3-5
44. Hunger S., Göbner A.S., Drake H.L. 2015. Anaerobic trophic interactions of contrasting methane-emitting mire soils: processes versus taxa // *FEMS Microbiol. Ecol.* V. 91. № 5. doi: 10.1093/femsec/fiv045
45. IPCC. 2013. Carbon and other biogeochemical cycles. Chapter 6 // *Climate change. The physical science basis. Global methane budget.* Cambridge University Press. Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. P. 505–510.
46. IPCC. 2014. Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 p. https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2018/02/SYR_AR5_FINAL_full.pdf
47. Jackson B.E., McInerney M.J. 2002. Anaerobic microbial metabolism can proceed close to thermodynamic limits // *Nature.* V. 415. P. 454–456.
48. James R.T. 1993. Sensitivity analysis of a simulation model of methane flux from the Florida Everglades // *Ecol. Model.* V. 68. P. 119–146.
49. Kotelnikova S., Pedersen K. 1997. Evidence for methanogenic Archaea and homoacetogenic Bacteria in deep granitic rock aquifers // *FEMS Microbiol. Rev.* V. 20. P. 339–349.
50. Kotsyurbenko O.R. 2005. Trophic interactions in the methanogenic microbial community of low-temperature terrestrial ecosystems. Mini-Review // *FEMS Microbiol. Ecol.* V. 53. P. 3–13.
51. Kotsyurbenko O.R., Chin K.-J., Glagolev M.V., Stubner S., Simankova M.V., Nozhevnikova A.N., Conrad R. 2004. Acetoclastic and hydrogenotrophic methane production and methanogenic populations in an acidic West-Siberian peat bog // *Environ. Microbiol.* V. 6. № 11. P. 1159–1173.
52. Kotsyurbenko O.R., Glagolev M.V. 2015. Protocols for measuring methanogenesis. // *Hydrocarbon and lipid microbiology protocols (Springer Protocols Handbooks) / McGenty T.J., Timmis K.N., Nogales B. (Eds.)* Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. P. 227–243. doi: 10.1007/8623_2015_89
53. Kotsyurbenko O.R., Glagolev M.V., Nozhevnikova A.N., Conrad R. 2001. Competition between homoacetogenic bacteria and methanogenic archaea for hydrogen at low temperature // *FEMS Microbiol. Ecol.* V. 38. P. 153–159.
54. Kotsyurbenko O.R., Glagolev M.V., Merkel A.Y., Sabrekov A.F., Terentjeva I.E. 2019. Methanogenesis in soils, wetlands and peat // *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology Series. Biogenesis of hydrocarbons / A.J.M. Stams and Diana Z. Sousa (Eds.)* Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. doi: 10.1007/978-3-319-53114-4_9-1
55. Kotsyurbenko O.R., Friedrich M.W., Simankova M.V., Nozhevnikova A.N., Golyshin P., Timmis K., Conrad R. 2007. Shift from acetoclastic to H₂-dependent methanogenesis in a West Siberian peat bog at low pH // *Appl. Environ. Microbiol.* V. 73. No. 7. P. 2344–2348.
56. Küsel K., Blöthe M., Schulz D., Reiche M., Drake H.L. 2008. Microbial reduction of iron and porewater biogeochemistry in acidic peatlands // *Biogeochemistry.* V. 5. P. 1537–1549.
57. Kutzbach L., Wagner D., Pfeiffer E.M. 2004. Effect of microrelief and vegetation on methane emission from wet polygonal tundra, Lena Delta, Northern Siberia // *Biogeochemistry.* V. 69. P. 341–362. doi: 10.1023/B:BIOG.0000031053.81520.db
58. Lansdown J.M., Quay P.D., King S.L. 1992. CH₄ production via CO₂ reduction in a temperate bog: a source of 13C-depleted CH₄ // *Geochim. Cosmochim. Acta* V. 56. P. 3493–3503.
59. Li T., Li H., Zhang Q., Ma Z., Yu L., Lu Y., Niu Z., Sun W., Liu J. 2019. Prediction of CH₄ emissions from potential natural wetlands on the Tibetan Plateau during the 21st century // *Sci. Total Environ.* V. 657 P. 498–508.
60. Limpens J., Berendse F., Blodau C., Canadell J.G., Freeman C., Holden J., Roulet N., Rydin H., Schaeppman-Strub G. 2008. Peatlands and the carbon cycle: from local processes to global implications – a synthesis // *Biogeochemistry.* V. 5. P. 1475–1491.
61. Lin Y., Liu D., Ding W., Kang H., Freeman C., Yuan J., Xiang J. 2015. Substrate sources regulate spatial variation of metabolically active methanogens from two contrasting freshwater wetlands // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* V. 99. P. 10779–10791. doi: 10.1007/s00253-015-6912-7
62. Martin W.F., Sousa F.L. 2016. Early Microbial Evolution: The Age of Anaerobes // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 8:a018127. doi: 10.1101/cshperspect.a018127
63. Matthews E., Fung I. 1987. Methane emission from natural wetlands: global distribution, area and environmental characteristics of sources // *Global Biogeochem. Cycles.* V. 1. P. 61–86.
64. McInerney M., Hoehler T., Gunsalus R.P., Schink B. 2010. Introduction to microbial hydrocarbon production: bioenergetics // *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology / Timmis K.N. (Ed.)*. Springer, Berlin, Heidelberg.
65. McInerney M.J., Beatty P.S. 1988. Anaerobic community structure from a nonequilibrium thermodynamic perspective // *Can. J. Microbiol.* V. 34. P. 487–493.
66. Narrows A.B., Angle J.C., Daly R.A., Stefanik K.C., Wrighton K.C., Miller C.S. 2017. High-resolution sequencing reveals unexplored archaeal diversity in freshwater wetland soils // *Environ. Microbiol.* V. 19. P. 2192–2209.
67. Panikov N.S. 1994. CH₄ and CO₂ emission from northern wetlands of Russia: Source strength and controlling mechanisms // *Proceedings of the International Symposium on Global Cycles of Atmospheric Greenhouse Gases.* Sendai: Tohoku University. P. 100–112.
68. Panikov N.S., Sizova M.V., Zelenov V.V., Machov G.A., Naumov A.V., Gadzhiev I.M. 1995. Methane and carbon dioxide emission from several Vasyugan wetlands: spatial and temporal flux variations // *Ecol. Chem.* V. 4. No. 1. P. 13–23.
69. Sabrekov A.F., Runkle B.R.K., Glagolev M.V., Kleptsova I.E., Maksyutov S.S. 2014. Seasonal variability as a source of uncertainty in the West Siberian regional CH₄ flux upscaling // *Environ. Res. Lett.* V. 9. 045008.
70. Sabrekov A.F., Filippov I.V., Terentjeva I.E., Glagolev M.V., Ilyasov D.V., Smolentsev B.A., Maksyutov S.S. 2016. The Spatial Variability of Methane Emission from Subtaiga and Forest–Steppe Grass–Moss Fens of Western Siberia // *Biology Bulletin.* V. 43.No. 2. P. 62–168.
71. Schink B. 1997. Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* V. 61. No. 2. P. 262–280.
72. Seager S., Bains W., Petkowski J.J. 2016. Toward a list of molecules as potential biosignature gases for the search for life on exoplanets and applications to terrestrial biochemistry. *Astrobiology.* V. 16. № 6. doi: 10.1089/ast.2015.1404
73. Simankova M.V., Parshina S.N., Tourova N.P., Kolganova T.V., Zehnder A.J.B., Nijzhevnikova A.N. 2001. *Methanosarcina lacustris* sp. nov., a New psychrotolerant methanogenic archaeon from anoxic lake sediments // *System. Appl. Microbiol.* V. 24. P. 362–367.
74. Stoeva M.K., Aris-Brosou S., Chittelat J., Hintelmann H., Pelletier P., Poulain A.J. (2014) Microbial community structure in lake and wetland sediments from a high arctic polar desert revealed by targeted transcriptomics // *PLoS ONE.* V. 9. № 3. e89531.
75. Taubner R.-S., Pappenreiter P., Zwicker J., Smrzka D., Pruckner C., Kolar P., Bernacchi S., Seifert A.H., Krajete A., Bach W., Peckmann J., Paulik C., Firneis M.G., Schleper C., Rittmann S.K.-M.R. 2018. Biological methane production under putative Enceladus-like conditions // *Nature Com.* V. 9. P. 748.
76. Taubner R.-S., Schleper C., Firneis M.G., Simon Rittmann S. K.-M. R. 2015. Assessing the ecophysiology of methanogens in the context of recent astrobiological and planetological studies // *Life (Basel).* V. 5. N. 4. P. 1652–1686.
77. Terentjeva I.E., Glagolev M.V., Lapshina E.D., Sabrekov A.F., Maksyutov S.S. 2016. Mapping of West Siberian taiga wetland complexes using Landsat imagery: implications for methane emissions // *Biogeochemistry.* V. 13. No. 16. P. 4615–4626.
78. Thauer R.K. 1998. Biochemistry of methanogenesis: a tribute to Marjory Stephenson // *Microbiology.* V. 144. P. 2377–2406.
79. Webster K.L., Bhatti J.S., Thompson D.K., Nelson S.A., Shaw C.H., Bona K.A., Hayne S.L., Kurz W.A. 2018. Spatially-integrated estimates of net ecosystem exchange and methane fluxes from Canadian peatlands // *Carbon Balance Manag.* V. 13. P. 16.
80. Weiss M.C., Sousa F.L., Mrnjavac N., Neukirchen S., Roettger M., Nelson-Sathi S., Martin W.F. 2016. The physiology and habitat of the last universal common ancestor // *Nature microbiology.* V. 1. doi: 10.1038/NMICROBIOL.2016.116
81. Whalen S.C., Reeburgh W.S. 2000. Methane oxidation, production, and emission at contrasting sites in a boreal bog // *Geomicrobiol. J.* V. 17. P. 237–251.
82. Yavitt J.B., Basiliko N., Turetsky M.R., Hay A.G. 2006. Methanogenesis and methanogen diversity in three peatland types of the discontinuous permafrost zone, boreal western continental Canada // *Geomicrobiol. J.* V. 23. P. 641–651.
83. Yavitt J.B., Yashiro E., Cadillo-Quiroz H., Zinder S.H. 2012. Methanogen diversity and community composition in peatlands of the central to northern Appalachian Mountain region // *North Am. Biogeochem. V.* 109. P. 117–131.
84. Zavarzin G.A. 1995b. Soengen psychrophilic cycle // *Ecol. Chem.* V. 4. P. 3–12.
85. Zhu X., Zhuang Q., Qin Z., Song L., Glagolev M. 2013. Estimating wetland methane emissions from the northern high latitudes from 1990 to 2009 using artificial neural networks // *Global Biogeochem. Cycles.* V. 27. No. 2. P. 592–604.