

УДК 579.26: 631.4

Т.Д. Доолоткельдиева, С.Т. Бобушова, Б. Бектурганова

Кыргызско-Турецкий Университет «Манас», Кыргызстан, г. Бишкек

e-mail: tdoolotkeldieva@gmail.com

### Сравнительное изучение микробиологического разнообразия почв двух высокогорных долин Кыргызстана

С помощью анализа последовательностей 16SrRNA было изучено количественное соотношение и биоразнообразие микробных комплексов почвенных биотопов урочища Чон-Курчак Кыргызского Хребта и высокогорной долины Сон-Куль.

Анализ последовательностей 16SrRNA показал, что в осенний период в почвах урочища Чон-Курчак доминирующими филогенетическими группами бактерий были Firmicutes, Actinobacteria, Gammaproteobacteria, Betaproteobacteria. В летний период в почвах высокогорной долины Сон-Куль доминирующими филогенетическими группами были Actinobacteria (55,0%), Gammaproteobacteria (33,0%) и Firmicutes phyla (22,0%). Структура видового состава бактерий отличалась в почвах под различным покровом растительности по мере возрастания высоты местности.

**Ключевые слова:** горные экосистемы, структура микробных сообществ, биоразнообразие почвенных микроорганизмов, экология микроорганизмов.

Т.Д. Доолоткельдиева, С.Т. Бобушова, Б. Бектурганова

### Кыргызстанның екі биіктаулы аймағы топырағының микробиологиялық алуантүрлілігін салыстырмалы зерттеу

16SrRNA кезектілігінің сарапталуымен Чон-Курак Қырғыз жотасының және Сон-Куль биік таулы аймағының топырақ биотоптарының микробтық кешендерінің биоалуантүрлілігі мен сандық қатынасы зерттелінді.

16SrRNA кезектілігінің сараптамасы күз мезгілінде Чон-Курак шатқалында Firmicutes, Actinobacteria, Gammaproteobacteria, Betaproteobacteria бактерияларының филогенетикалық топтарының басым болғандығын көрсетті. Жазғы уақытта Сон-Куль биік таулы топырағында Actinobacteria (55,0%), Gammaproteobacteria (33,0%) и Firmicutes phyla (22,0%) филогенетикалық топтары басым болған. Бактериялардың түрлік құрамының құрылымы әр түрлі өсімдіктер өсетін топырақта орналасқан орнының биіктігіне байланысты ерекшеленеді.

**Түйін сөздер:** тау экожүйелері, микробтық қауымдастықтың құрылымы, топырақ микроорганизмдерінің құрылымы, микроорганизмдер экологиясы.

T.D. Doolotkeldieva, S.T. Bobushova, B. Bekturganova

### Comparative study of the microbial diversity of soils of two high mountain valleys of Kyrgyzstan

The quantitative correlation and the soil microbial communities' biodiversity of Jong-Kurchak Tracts and alpine Son-Kul valley have been the 16SrRNA sequence analysis. The structure of the bacterial species composition was differed in soils under different vegetation with increasing altitude.

16SrRNA sequence analysis has showed that phylogenetic groups of Firmicutes, Actinobacteria, Gammaproteobacteria, Betaproteobacteria bacteria were dominant in soils of Tracts Jong-Kurchak in the autumn. The Actinobacteria (e.g. 55,0%), the Gammaproteobacteria (e.g. 33,0%), and the Firmicutes phyla (e.g. 22,0%) were the dominant phylogenetic groups during the summer in the alpine soils of Son-Kul valley.

**Keywords:** high- and low-temperature ecosystems, the structure of microbial communities, soil microbial biodiversity, ecology of microorganisms.

Почвенная микробиота играет важную роль в почвенной агрегации и осуществляет разложение целлюлозы, лигнина и азотификации [1, 2]. Почвенные микроорганизмы являются важными двигателями таких биохимических процессов как C, N, и S циклов и непосредственно влияет на широкий круг функций экосистем [7,8]. Исследования, проведенные в раннем 1990 годах на базе метагеномной ДНК денатурации экспериментов установили, что в 1 грамм почвы содержатся более чем 4,000 бактериальных видов [3]. Однако большую часть микробных сообществ обитающих в почве невозможно культивировать на синтетических питательных средах. Более широкий доступ к микробиологическому биоразнообразию обеспечивается с применением современных методов молекулярной биологии [4,5,6].

Жизнедеятельность микроорганизмов в почве, их качественный и количественный состав определяется почвенными условиями: наличием питательных веществ, влажностью, аэрацией, реакцией среды, температурой и т.д. Большое влияние, как на общую численность, так и на соотношение отдельных систематических групп микроорганизмов оказывает тип почвы и покрывающая ее растительность [9].

Урочища Чон-Курчак расположена в субальпийском поясе центральной части северного макросклона Киргизского хребта (водораздел Аламедин и Ала-Арча), на высотах 2300–2400 м н.у.м. и представляет собой еще неизученный природный уголок Кыргызстана на наличие в нем микробиологического разнообразия.

Высокогорная долина Сон-Куль представляет собой также уникальный и еще неисследованный уголок, которая находится на высоте более 3000 м над уровнем моря и отличается постоянной низкой температурой. Среднегодовая температура воздуха минус 18-20°C.

Целью настоящей работы явилось изучение и сравнение численности, таксономической структуры сапротрофного блока бактерий в разных биотопах, расположенных на разных рельефах и высотных поясах почвы урочища Чон-Курчак и долины Сон-Куль, оценка роли почвенных микроорганизмов в трансформации органических растительных остатков в высоко-

горных и низких температурных жизненных условиях.

Почвенные образцы были отобраны в осенний период (в начале октября) из шести биотопов по мере возрастания высоты от предгорной долины до вершины субальпийского пояса Урочища Чон-Курчак и в летний период (в начале июля) из 10 биотопов по мере возрастания высоты долины Сон-Куль. Для изучения микробиологического биоразнообразия этих уникальных уголков были использованы классические методы микробиологии и методы молекулярной биологии. Полной длины фрагментов гена 16S rRNA почвенных микроорганизмов были амплифицированы с использованием следующих праймеров: 16S-27F (5'-AGAGTTTGGATCMTGGCTCAG-3') и 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3').

Статистический анализ результатов проводили с использованием пакета программ SPSS 12.0. Для непараметрической оценки видового богатства был использован Chao1 показатель и индекс Шеннона.

Как показали наши исследования в осенний период в почвах урочища Чон –Курчак доминирующими филогенетическими группами были Firmicutes, Actinobacteria, Gammaproteobacteria, Betaproteobacteria. Структура видового состава бактерий отличалась в различных типах почв по мере возрастания высоты местности.

В темно – каштановой почве предгорной долины (на высоте 1691 м.н.у.) доминировали бактерии рода *Nocardia* (Actinobacteria phylum), их доля в общей флоре доходила почти 70,0% , тогда бактерии рода *Bacillus* (Firmicutes phylum) и бактерии *Pseudomonas* (Gammaproteobacteria phylum) составляли по 15%.

В горных темно- каштановых почвах, в зоне начала предгорья (1847 м.н.у) доминировали бактерии рода *Bacillus* (Firmicutes phylum), составляя 70,0% от общего биоразнообразия видов, тогда бактерии рода *Micrococcus* (Actinobacteria phylum) и бактерии *Pseudomonas* (Gammaproteobacteria phylum) составляли по 15%.

В горных темно- каштановых почвах в зоне предгорья (1851 м.н.у) было выявлено богатое биоразнообразие по сравнению с другими типами почв : бактерии рода *Pseudomonas*

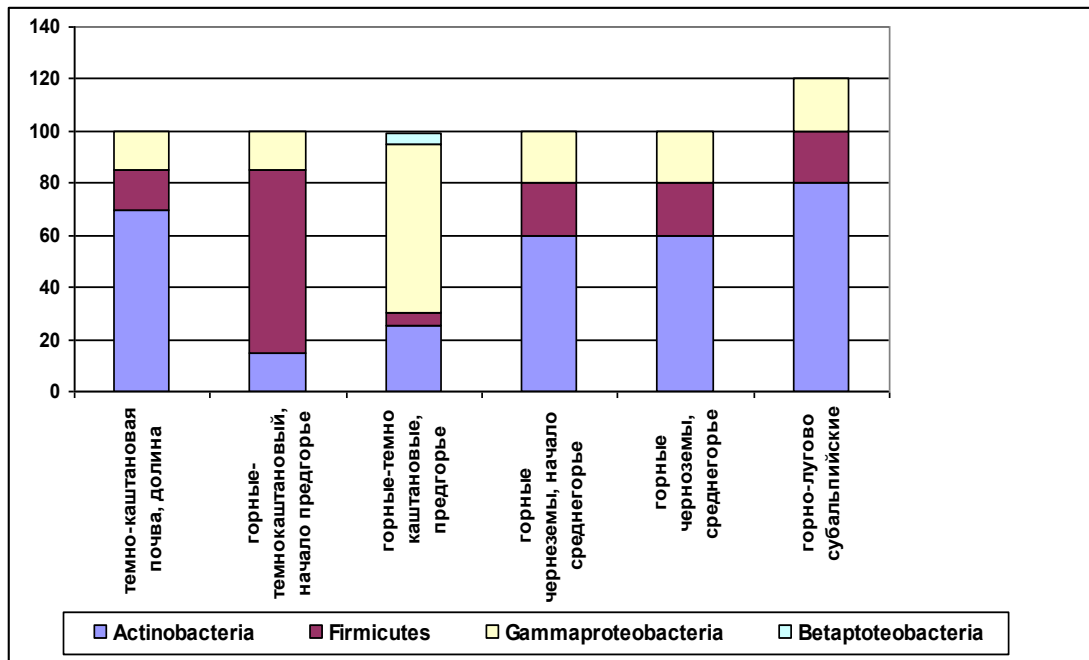


Рисунок 1 – Структура бактериального сообщества почв Урочища Чон-Курчак Кыргызского хребта, основанной на анализе последовательностей 16SrRNA чистых культур бактерий

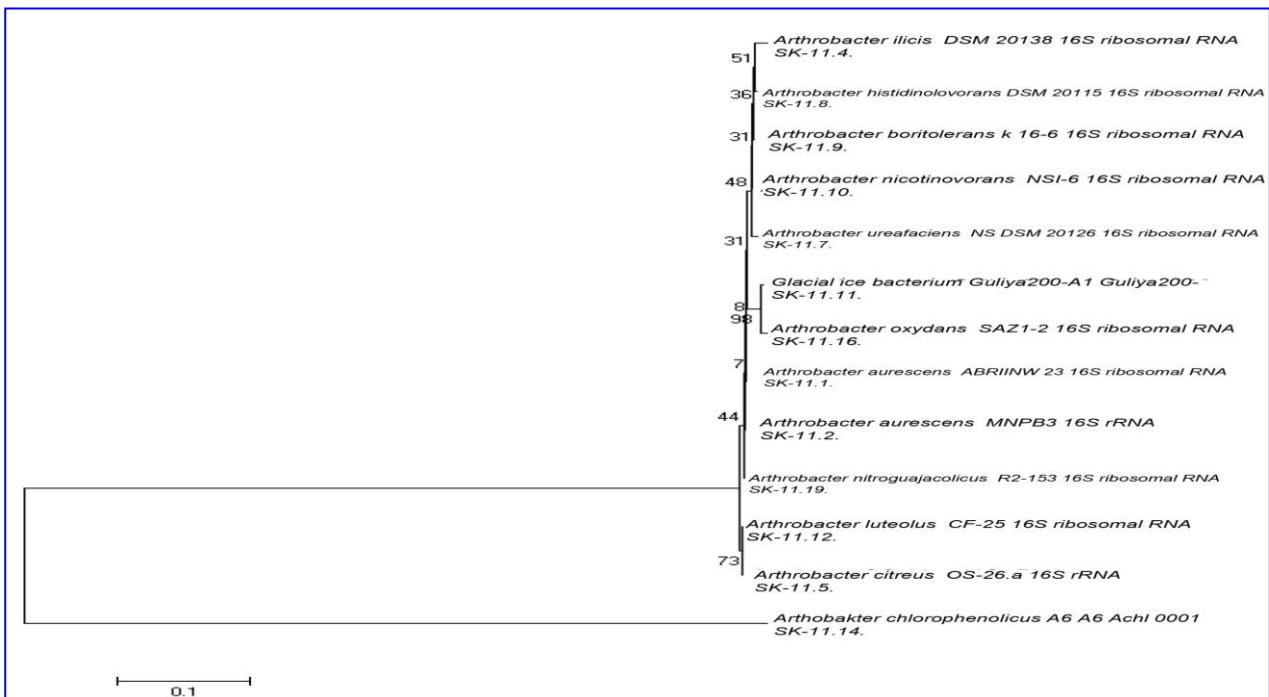


Рисунок 2 – Филогенетическое дерево бактерий обнаруженных в почвах Сон-Кульской долины сайтов SK-9 и SK-10

(Gammaproteobacteria phylum) и Pimelobacter (Actinobacteria phylum) составляли больше 65%, тогда бактерии рода Micrococcus (Actinobacteria phylum) были на второй позиции около 25%, бактерии рода Bacillus (Firmicutes phylum) и Proteobacteria (Betaproteobacteria phylum) имели по 5% долю в структуре этих комплексов.

В горных черноземах начало среднегорья (1920 м.н.у.) доминировали бактерии рода Rhodococcus (Actinobacteria phylum) т.е. они составляли около 60% от общей доли бактерий, другие аммонифицирующие бактерии как Pseudomonas (Gammaproteobacteria phylum) и Bacillus (Firmicutes phylum) занимали по 20% общей микрофлоры. Такая же структура бактериальных комплексов была обнаружена в такой же почве в зоне среднегорья на высоте 2011 м.н.у.

В горно-луговых субальпийских почвах на склонах хребта была обнаружена отличающаяся от горных черноземов структура бактериальных комплексов: доминировали бактерии рода Bacillus (Firmicutes phylum) они составляли около 80% от общей доли бактерий и бактерии Pseudomonas (Gammaproteobacteria phylum), Micrococcus (Actinobacteria phylum) были около 20% (рис.1).

Как показал анализ 16S rRNA обнаруженных бактерий во всех типах почв мы обнаружили истинных аммонификаторов осуществляющие разложение свежих растительных остатков – это бактерии родов Pseudomonas, Bacillus и Micrococcus, Arthrobacter и др

В почвах Сон-Кульской долины, где температура крайне неустойчива и в разное время года может колебаться от – 50 до +18–20°C, микробные сообщества биотопов были представлены преимущественно автохтонной популяцией. Так, из исследованных 10 биотопов в 5 представители фило типа Actinobacteria были доминирующими, т.е. почти 55,5% обнаруженного общего

биоразнообразия было представлено этими бактериями. Представители Actinobacteria широко распространены в различных экосистемах земного шара, исследователи их выявляли в самых различных почвенных типах, среди них есть виды, адаптированные в холодных экстремальных условиях жизни. Так, обнаруженный нами вид Janibacter sp. BSi20546 был выделен из льда Арктического Моря, на берегах Канады]. Метаболизм представителей Actinobacteria рассчитан на усвоение органического вещества. Обычно группы бактерий Nocardia и Arthrobacter из этого фило типа представляют функцию, разлагающую гумусовые соединения в почве. Они свойственны более поздним стадиям распада органического вещества и предпочитают нейтральную среду. Представители фило типа Gammaproteobacteria занимали вторую позицию по концентрации видов и представляли зимогенную популяцию. Они доминировали в почвах под сочной, низкорослой и луговой растительностью. Бактерии рода Pseudomonas из этого фило типа, как организмы, являющиеся пионерами освоения органических растительных остатков, были богато представлены в почвах высокогорной низкотемпературной долины. А также представители родов Stenotrophomonas и Xanthomonas, по ряду признаков родственные к Pseudomonas, были богато представлены в этих почвах и являются пионерами освоения органических растительных остатков, где медленно идет процесс минерализации. Относительное изобилие этих протеобактерий зависит от химического состава растительных остатков. Это группа бактерий может служить хорошим индикатором разлагаемости растительных остатков и изменения течения процесса распада. На поздних стадиях распада материал интенсивно разлагается с помощью Actinobacteria групп бактерий (рис.2).

## Reference

- 1 Donnelly PK, Entry JA, Crawford DL, Cromack KJr (1990). Cellulose and lignin degradation in forest soils: response to moisture, temperature and acidity. *Microb. Ecol.* 20(1):289–295
- 2 Hu S, van Bruggen AHC (1997). Microbial dynamics associated with multiphasic decomposition of <sup>14</sup>C-labeled cellulose in soil. *Microb. Ecol.* 33(2):134–143.
- 3 Hugenholtz P, Goebel BM, Pace NR (1998). Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of Bacterial diversity. *J. Bacteriol.* 180(18):4765–4774.
- 4 Lane DJ (1991). 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt E, Goodfellow M (eds) *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. Wiley, Chichester pp 115–175.

5 Sait M, Hugenholtz P, Janssen PH (2002). Cultivation of globally distributed soil bacteria from phylogenetic lineages previously only detected in cultivation-independent surveys. *Environ Micro-Bio* 14(11):654–666.

6 Schimel J (1995). Ecosystem consequences of microbial diversity and community structure. In: Chapin FS, Körner C (eds) *Arctic and Alpine biodiversity: patterns, causes, and ecosystem consequences*. Springer, Berlin, pp 239–254.

7 Torsvik V, Övreås L, Thingstad TF (2002). Prokaryotic diversity magnitude, dynamics, and controlling factors. *Science* 296(5570): 1064–1066

8 Torsvik V, Goksøyr J, Daae FL (1990). High diversity in DNA of soil bacteria. *Appl Environ Microbiol* 56(3):782–787.

9 Ulrich A, Wirth S (1999). Phylogenetic diversity and population densities of culturable cellulolytic soil bacteria across an agricultural encatchment. *Microb Ecol* 37(4):238–247.