

УДК 631.461

МИКРОБНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПОГРЕБЕННЫХ СТЕПНЫХ ПОЧВ В СВЯЗИ С ХОДОМ ГОДОВЫХ ОСАДКОВ¹

© 2022 г. Т. Э. Хомутова^а *, А. В. Борисов^а^аИнститут физико-химических и биологических проблем почвоведения Пушчинского центра биологических исследований Российской академии наук, ул. Институтская, 2/2, Пушкино, Московская область, 142290 Россия

*e-mail: khomutova-t@rambler.ru

Поступила в редакцию 05.05.2022 г.

После доработки 30.05.2022 г.

Принята к публикации 30.06.2022 г.

Проведено сравнение микробного разнообразия современной светло-каштановой почвы (Cambisol) и палеопочв, погребенных под курганами, возведенными от 3900–3700 до 2400–2300 лет до н. э. в пустынно-степной зоне Ергенинской возвышенности. Химические и морфологические свойства палеопочв различались, что свидетельствует о различиях природных условий в периоды возведения курганов. Микробное разнообразие в горизонтах АJ и ВМК изучали методом полиморфизма длины концевых рестриктов фрагмента гена 16S рРНК (TRFLP). С использованием базы данных известных микроорганизмов (RDP), была проведена таксономическая идентификация бактериальных филотивов. Бактериальные сообщества были разнообразны и отражали функционирование почвенной биоты, включая патогенные микроорганизмы растительного и животного мира. В современной почве бактериальное разнообразие в горизонтах АJ и ВМК различалось, тогда как в палеопочвах оно было сходным. В самой древней палеопочве, погребенной в 3900–3700 годах до н. э., бактериальные группы были общими с таковыми других палеопочв и/или современной почвы. Напротив, две палеопочвы, погребенные в засушливые периоды бронзового века (вторая половина III тысячелетия до н. э.), содержали специфические бактериальные группы, особенно палеопочва, погребенная на пике аридизации климата (2400–2300 лет до н. э.). Высокое микробное биоразнообразие погребенных почв засушливых периодов связано с соответственными изменениями внутригодового хода осадков.

Ключевые слова: годовые осадки, погребенные палеопочвы, микробное разнообразие**DOI:** 10.31857/S0032180X22110065

ВВЕДЕНИЕ

Разнообразие почвенных микробных сообществ формируется в результате взаимодействия широкого спектра природных факторов. Среди них наличие питательных веществ, физические и химические свойства почв, климатические условия и т. д. [7, 23]. Было показано, что палеопочвы, погребенные в различные исторические периоды, содержат жизнеспособные формы микроорганизмов. Несмотря на то, что их количество меньше по сравнению с современной почвой, они сохраняют особенности профильного распределения биомассы и ее активности [4, 6]. Бактериальные сообщества палеопочв были предложены в качестве чувствительных индикаторов экологического функционирования почв [19]. Они также могут служить индикаторами изменения увлажненности климата в различные истори-

ческие периоды [10, 11] и в этой связи являются информативными объектами исследования [8]. Курганы обычно группируются в непосредственной близости, и погребенные палеопочвы вместе с современной фоновой почвой образуют педохроноряды, что позволяет проводить сравнительные исследования в историческом масштабе. При изучении динамики климата микробное разнообразие может служить полезной характеристикой развития почв [20].

Многочисленные исследования морфологии и химических свойств палеозолей в сухостепной и пустынно-степной зонах указали на значительные изменения влажности климата в течение бронзового века. Мягкие влажные условия, существовавшие в конце IV–начале III тысячелетия до н. э., сменились более засушливыми. Постепенная аридизация стимулировала образование карбонатных засоленных почв с признаками эрозии, которые стали преобладать в степном почвенном покрове. Максимум засушливости был зафиксирован в конце III тысячелетия до н. э. [9].

¹ К статье имеются дополнительные материалы, доступные для авторизованных пользователей по doi: 10.31857/S0032180X22110065.

В результате границы природных зон сместились на север, в степях шло опустынивание, а в ряде природных регионов бывшие лесостепные ландшафты превратились в степные [8]. Однако недавно в нескольких педохронорядах все химические свойства палеопочв, погребенных во второй половине II тысячелетия до н. э., показали признаки аридизации, в то время как характеристики микробных сообществ свидетельствовали о благоприятных условиях для развития растительности. Палеопочвы отличались высокой микробной биомассой и количеством микроорганизмов, потребляющих растительные остатки. Чтобы объяснить такое противоречие, мы выдвинули гипотезу об изменении внутригодового характера осадков [15, 16]. Гипотеза была основана на фактах, что химические свойства степных почв (засоленность, содержание карбонатов и гипса) зависят главным образом от количества зимних осадков. При малом количестве осадков почва не получает достаточного количества влаги, легкорастворимые соли и гипс не вымываются, линия вскипания смещается в глубь почвенного профиля, исчезают карбонаты и их сегрегационные формы, уменьшается мощность гумусового горизонта и развивается эрозия. Альтернативно, состояние микробных сообществ — их биомасса и трофическая структура — определяется развитием растительности, то есть количеством летних осадков. В теплый период дожди слегка увлажняют почву, не вымывают соли, но предотвращают раннее высыхание растений и “выгорание” степи, обеспечивая высокую биомассу растений и поступление растительных остатков в почву. Такое изменение внутригодовой структуры осадков соответствует археологическим данным о развитии древних скотоводческих обществ в регионе. Количество курганов майкопской культуры (первая половина IV тысячелетия до н. э.) было очень небольшим, и все захоронения производились в конце весны — летом [23], то есть зимой население, вероятно, покидало регион и возвращалось весной [24]. К концу среднего бронзового века (конец III тысячелетия до н. э.) количество курганов резко возросло, и никакой сезонности погребений выявлено не было, предположительно степь была заселена круглогодично. Предполагается, что население в то время было способно использовать все степные экологические ниши [23].

Целью этой работы было выявить изменения в разнообразии микробных сообществ в палеопочвах, погребенных в период IV—III тыс. до н. э., и выяснить, действительно ли изменения внутригодового хода атмосферных осадков влияли на состояние почвенных микробных сообществ.

Разнообразие микробных сообществ оценивали с помощью метода полиморфизма длины концевых рестриктов фрагмента гена 16S рРНК (TRFLP) [3, 19].

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Район исследования. Исследованные почвы расположены на Ергенинской возвышенности (Республика Калмыкия, N 45°42'; E 44°42', 100 м над уровнем моря) в пустынно-степной зоне, где преобладают светло-каштановые почвы и солонцы. Климат в регионе умеренно-континентальный со среднегодовым количеством осадков 300—350 мм. Рельеф пологий, хорошо дренирован. Почвы формируются на лессовидных карбонатных засоленных суглинках. В растительном покрове преобладают полынно-злаковые ассоциации. Археологические раскопки на территории курганного могильника Манджикины были проведены проф. Шишлиной [24]. Три кургана располагались на плоском водоразделе, покрытом целинной полынно-злаковой растительностью. Сходные литологические и геоморфологические характеристики, близкое расположение курганов и фоновой современной почвы позволяют рассматривать исследуемые почвы как один педохроноряд. Высота насыпей курганов варьировала от 53 до 203 см, что было достаточно для консервации погребенных палеопочв. Радиоуглеродное датирование основных захоронений в курганах показало, что возведение курганов датируется 3900—3700 гг. до н. э. (палеопочва 1, PS-1), 3100—2600 гг. до н. э. (палеопочва 2, PS-2) и 2400—2300 гг. до н. э. (палеопочва 3, PS-3).

Отбор проб и анализ почвенных образцов. Отбор почвенных образцов проводили по стенкам траншей (глубина 160 см), выполненных под насыпями курганов и в современной почве, образцы помещались в пластиковые зип-пакеты и транспортировались в лабораторию. Исследовали морфологию почвенных профилей. Анализ содержания карбонатов, гипса, растворимых солей, величин рН и органического углерода был выполнен стандартными методами [20]. Для микробиологических исследований отбор производили аналогично, но с соблюдением асептических условий, образцы отбирали из горизонтов А₁ и ВМК (их общая мощность составляла около 30—35 см), помещали в пластиковые зип-пакеты. До проведения измерений все образцы содержались в условиях, аналогичных условиям отбора проб в отношении влажности и температуры.

Экстракция ДНК, амплификация, рестрикция и электрофорез. Навеску каждого образца почвы (порция 0.5 г) экстрагировали с помощью набора для извлечения ДНК (UltraClean, Bio Lab. Inc., США) путем нагревания при 70°C в течение 10 мин с последующей обработкой керамическими шариками в течение 30 с. Для накопления достаточного количества ДНК, эту процедуру выполняли на 5—10 порциях каждого образца, рассчитывали среднее содержание ДНК (мкг ДНК/г абсолютно сухой почвы). После оптимизации

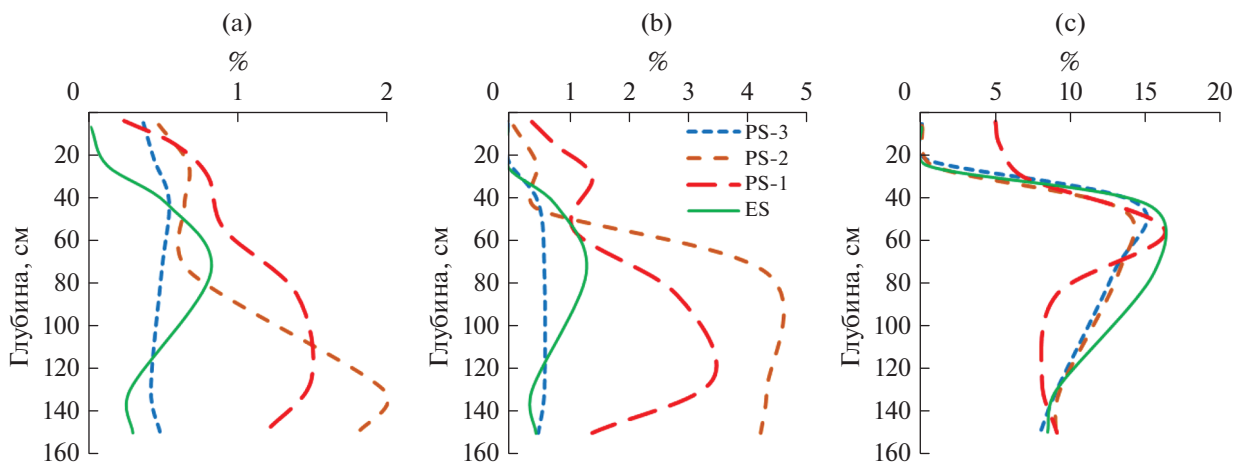


Рис. 1. Содержание легкорастворимых солей (а), гипса (б), карбонатов (с) в исследованных почвах (ES – современная почва, PS – подкурганые палеопочвы).

условий ПЦР выполняли ее в препаративном масштабе, проводили рестрикцию и электрофорез, как было описано ранее [15]. Вкратце, для амплификации участка гена 16S рРНК в препаративном масштабе проводили ПЦР (50 мкл) с использованием прямого праймера, меченного 5-карбоксихлорофлуоресцеином (FAM) 8-27F (AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG, Integrated DNA Technologies Coralville, Айова, США) и праймера 1525R (AAG GAG GTG ATC CAG CC). Смесь для ПЦР содержала 0.04 мкг бычьего сывороточного альбумина (Boehringer Mannheim Biochemicals, США), 0.2 мм каждого дезоксирибонуклеозидфосфата, 2.5 мм $MgCl_2$, 0.05 ед./мкл ДНК-полимеразы (Taq, Invitrogen, США), 1× ПЦР-буфер (Invitrogen, США) и 0.2 мкм праймеров. ПЦР проводили в термоциклере Perkin-Elmer 9600 после нагревания блока до 80°C, предварительной инкубации при 94°C в течение 3 мин. Проводили 35 циклов денатурации (94°C), отжиг праймера при 55°C в течение 50 с, удлинение вели при 72°C в течение 10 мин. Для накопления 2 мкг каждого продукта выполняли 10–15 повторов указанной процедуры. Продукты ПЦР объединяли и очищали с использованием набора для очистки QIAquick (QIAGEN, Германия). Объем рестрикции (15 мкл) содержал 300 нг очищенного продукта ПЦР и 15 ед./мкл каждого фермента рестрикции (Hha I, Msp I и Rsa I), реакцию рестрикции вели 3 ч при 37°C, затем 10 мин при 70°C для денатурации фермента рестрикции. Продукты рестрикции очищали этанольным осаждением, разводили в 5 мкл воды и проводили анализ размеров фрагментов рестрикции. Разделение рестриционных фрагментов вели на секвенаторе ABI в Мичиганском государственном университете в автоматической системе высоковольтного электрофореза в 6% денатурирующем полиакриламидном геле с 1× TBE буфером при 1680 В в течение

14 ч; 2 мкл образцов смешивали с 2 мкл загрузочного коктейля (1.25 мкл деионизированного формамида, 0.25 мкл голубого декстрана в 50 мм ЭДТА, 0.5 мкл маркера GeneScan 2500 TAMRA). Данные были проанализированы с помощью набора программ GeneScan (ABI).

Анализ данных. Наборы данных, содержащие размеры и концентрации рестриционных фрагментов ампликонов 16S рРНК (TR-фрагментов), были импортированы в таблицы Excel. Для каждого набора рассчитывали общую флуоресценцию TR-фрагментов и нормализовали высоту пиков. Бактериальное разнообразие в горизонтах АJ и ВМК для палеопочв и современной почвы анализировали путем сравнения наличия и концентрации TR-фрагментов с использованием программы STATISTICA и анализа методом главных компонент (PCA). Наиболее распространенные TR-фрагменты были отобраны для таксономической идентификации микроорганизмов с использованием базы данных известных микроорганизмов (RDP, Центр микробной экологии, Мичиганский государственный университет). В некоторых случаях идентификация в триадах Hha I-Msp I-Rsa I проводилась с использованием двух обильных фрагментов и одного фрагмента меньшей концентрации.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Морфология и физико-химические свойства изученных почв существенно различались. Принимая во внимание, что все исследованные курганы были расположены в непосредственной близости, имели схожее положение в рельефе и почвообразующую породу, различия в свойствах погребенных палеопочв являются результатом различий в ходе почвообразования, определяемых динамикой влажности климата (рис. 1). Та-

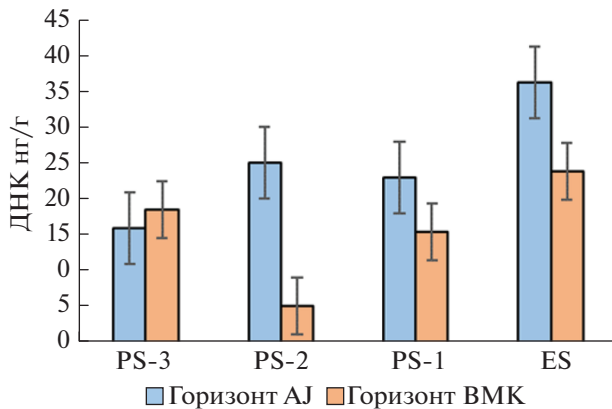


Рис. 2. Содержание ДНК в исследованных почвах (ES – современная почва, PS – поджурганные палеопочвы).

ким образом, в самой древней почве PS-3 (3900–3700 лет до н. э.) содержание солей и гипса было минимальным и значительно меньше, чем в современной почве. Содержание органического углерода в горизонте АЖ составляло 0.4–0.5%. Значения рН составляли 7.4–7.6, а на глубине более 30 см они увеличивались до 8.1–8.5. Линия вскипания проявлялась с глубины 30 см. Содержание растворимых солей и гипса было низким ($\leq 0.6\%$). Свойства почвы свидетельствуют о том, что палеопочва PS-3 развивалась в относительно влажных климатических условиях. Палеопочва PS-2 (3100–2600 лет до н. э.) характеризовалась большей соленостью в нижней части профиля (рис. 1а) и более высоким содержанием гипса (рис. 1б). Гипс был обнаружен с глубины 80 см. Растворимые соли залегали с глубины 80 см; их распределение по профилю имело четко определенный максимум в слое 120–140 см. Такие особенности указывают на увеличение засушливости климата в период возведения кургана. В палеопочве PS-1 (2400–2300 лет до н. э.) содержание солей было выше по сравнению с другими почвами, а верхняя

граница солевого горизонта располагалась ближе к поверхности почвы. В этой палеопочве высокое содержание карбонатов отмечалось уже в верхнем горизонте (рис. 1с). Мы полагаем, что палеопочва PS-1 сформировалась в весьма засушливых условиях, которые имели место в конце III тысячелетия до нашей эры.

Содержание ДНК и анализ рестриктов. Содержание почвенной ДНК, которое является показателем микробной биомассы, было довольно равномерным и только в палеопочве PS-2 оно достоверно уменьшалось с глубиной (рис. 2). В целом оно варьировалось от 5.2 до 25 нг/г в палеопочвах и достигало в среднем 57% от количества в современной почве.

Анализ наборов рестриктов ДНК в составе электрофореграмм (TR-фрагменты) приведен в табл. 1. Фрагменты, концентрация которых превышала установленный порог (единицы флуоресценции, RFU), выбранный для рестриктаз Nha I и Msp I (RFU > 50) и для рестриктазы RsaI (RFU > 23), составляли 49–100% от флуоресценции всех фрагментов в современной почве и 38–100% в палеопочвах. Суммарная флуоресценция этих фрагментов достигала 87–100% для всех рестриктов.

Ранее было показано [15], что различия между независимыми повторностями для современной почвы и PS-3 (α -разнообразии) были значительно ниже, чем различия между двумя почвами (β -разнообразии). Принимая во внимание этот факт, мы сравнили закономерности содержания TR-фрагментов в почвах хроноряда, их количество и концентрации, используя метод главных компонент (PCA, рис. 3). На факторной плоскости современная почва и палеопочва PS-1 располагались отдельно от палеопочв PS-2 и PS-3, которые группировались рядом. Это проявлялось для рестриктов Nha I и Msp I и было менее выражено для рестриктов Rsa I. В современной почве горизонты АЖ и ВМК также разделялись, а в па-

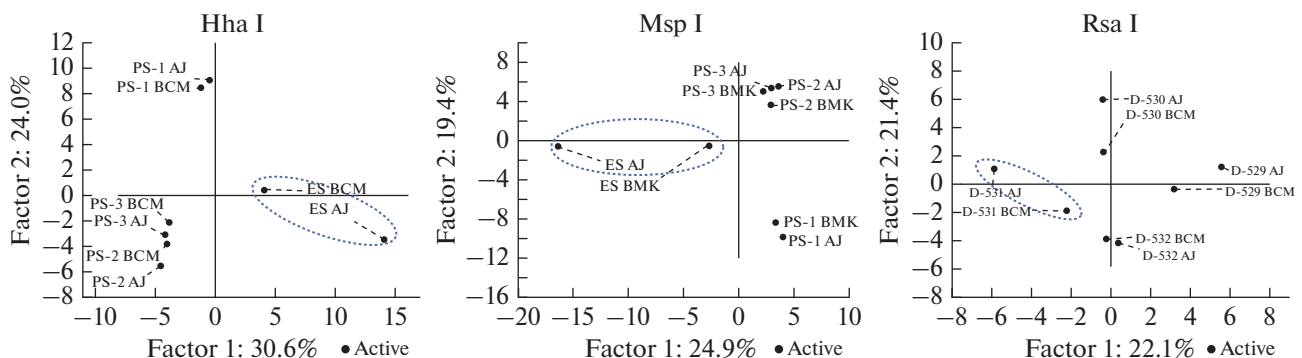


Рис. 3. Распределение микробных сообществ (горизонты АЖ и ВМК) современной почвы (ES) и палеопочв (PS) в плоскости главных компонент.

Таблица 1. Описание наборов TR-фрагментов палеопочв (PS-1, PS-2, PS-3) и современной почвы (ES)

Параметр	PS-2		PS-2		PS-1		ES	
	Ae	Bt	Ae	Bt	Ae	Bt	Ae	Bt
Рестриктаза Hha I (нормализованная флуоресценция 12267 ед.)								
Число TR-фрагментов	74	41	44	49	81	67	57	88
TR-фрагменты с RFU > 50	29	26	41	34	51	46	56	44
Их флуоресценция (% от общей)	88	92	95	93	93	95	99	87
TR-фрагменты для таксономической идентификации (% от общей флуоресценции)	59	79	34	36	47	50	34	27
Рестриктаза Msp I (нормализованная флуоресценция 20069 ед.)								
Число TR-фрагментов	112	44	91	81	126	110	97	121
TR-фрагменты с RFU > 50	52	44	50	51	61	54	64	59
Их флуоресценция (% от общей)	94	100	94	99	93	94	94	93
TR-фрагменты для таксономической идентификации (% от общей флуоресценции)	16	47	46	44	34	45	33	36
Рестриктаза Rsa I (нормализованная флуоресценция 1532 ед.)								
Число TR-фрагментов	12	16	17	20	21	18	14	16
TR-фрагменты с RFU > 23	12	10	17	17	15	16	14	13
Их флуоресценция (% от общей)	100	94	100	97	95	100	100	96
TR-фрагменты для таксономической идентификации (% от общей флуоресценции)	36	79	69	73	88	88	50	65

леопочвах группировались рядом. Различия в разнообразии рестриктов в горизонтах современной почвы и отсутствие различий в палеопочвах объясняются длительным погребением палеопочв и изоляцией их горизонтов AJ от поступления органического вещества.

Таксономический анализ. Концентрация TR-фрагментов, взятых для таксономической идентификации (их флуоресценция), составляла 34–59% от общей флуоресценции для Hha I, 16–47% для Msp I и 36–88% для рестриктазы Rsa I. Сравнение триад TR-фрагментов с таковыми базы данных (табл. S1) позволило выявить 40 бактериальных групп, среди которых 23 группы были обнаружены в современной почве, 36 групп в PS-1, 25 групп в PS-2 и 10 групп в PS-3. Обнаруженные микроорганизмы были как спорообразующими, так и не спорообразующими, многие из них были галотолерантны. Двадцать пять групп бактерий были грамтрицательными микроорганизмами, из них пять групп принадлежали к α-, восемь – к β-, три – к γ- и одна – к δ-протеобактериям, а пятнадцать групп были грамположительными.

Девять групп бактерий были общими для всех почв хроноряда. Среди них были бактерии, близкие к *Thermomicrobium reseum*, *Rhodobacter capsula-*

tus, *Erythrobacter longus*, *Eubacterium lentum*, *Clavibacter cynodontis*, *Anaerobranca* и *Streptomyces scabiei*. Две группы бактерий были обнаружены только в современной почве (подразделение *Nitrospina* и *Nostoc muscarum*). Восемь групп были обнаружены только в палеопочве PS-1 (*Fibrobacter*, *Bdelvibrio*, *Microbacterium aurum*, *Sporomusa paucivorans*, *Taylorella asinigenitalis*, *Leptotrix mobilis*, *Bacillus cereus*, *Nitrosospira multififormis*). Одна группа была обнаружена только в палеопочве PS-2 (*Halobacillus litoralis*). Общими для современной почвы и PS-1 были четыре группы (близкие к *Methylocystis parvus*, *Pseudomonas amygdalis*, *Kibdelosporangium*, *Lactobacillus*). Общей для современной почвы и PS-2 была одна группа (*Salixigens*). В самой древней палеопочве PS-3 мы не обнаружили бактериальных групп, не выявленных в других почвах. Эта палеопочва не содержала бактериальных групп, обнаруженных как в современной почве, так и в палеопочвах PS-1, так и PS-2, возможно, из-за ее гораздо более длительного периода погребения. Две палеопочвы (PS-1 и PS-2) содержали шесть групп бактерий (*Thermus thermophilus*, *Aurantiaca*, *Rhodothermus*, *Paenibacillus*, *Rubrivorax*, *Xanthomonas*), не обнаруженных в современной почве и наиболее древней PS-3. Таким образом, палеопочву PS-1 можно охарактеризовать как

наиболее богатый резервуар бактериального разнообразия: помимо общих для всех почв хроноряда, в ней были бактериальные группы, общие с PS-2, и специфические лишь для нее одной.

Анализ распределения групп бактерий между горизонтами AJ и ВМК (табл. S2) показал, что в палеопочвах 68–88% бактериальных групп были обнаружены в обоих горизонтах. Поскольку только в современной почве поступали надземные питательные вещества, 50% обнаруженных групп были зафиксированы в горизонте AJ и 83% – в горизонте ВМК. Общими для обоих горизонтов современной почвы были восемь групп бактерий; в самой древней палеопочве PS-3 таких групп было семь, и, напротив, две палеопочвы PS-2 и особенно PS-1 содержали гораздо больше таких бактериальных групп – 14 и 19 соответственно.

Большинство групп бактерий отражают функционирование почвенной биоты в почвах. Среди них были группы, близкородственные бактериям, участвующим в N-цикле (*Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, *Azoarcus*), ризобактериям, стимулирующим рост растений (*Rhizobium*, *Paenibacillus*, *Burkholderia*), связанным с ризопланой (*Pseudomonas*, *Bacillus*) [2, 12, 14]. Обнаружено близкое родство с бактериями-эндофитами, среди которых патогены растений (*Leucobacter* и *Xanthomonas*, *Echinospira*) [1] и микроорганизмов (*Bdellovibrio* и *Acholeplasma*) [5], бактерии, связанные с желудочно-кишечным трактом беспозвоночных и млекопитающих (*Bacillus*, *Rhodothermus*) [13, 25], и патогены беспозвоночных (*Sporomusa*) и млекопитающих (*Bordetella*, *Taylorella*) [25, 18].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Бактериальное разнообразие в почвах педохроноряда было высоким и варьировалось в зависимости от времени возведения кургана. Наибольший интерес представляли две палеопочвы PS-1 (2400–2300 лет до н. э.) и PS-2 (3100–2600 лет до н. э.), поскольку они были погребены в период “аридизации” (вторая половина III тысячелетия до н. э.), а PS-1 – в наиболее засушливом интервале этого периода. Бактериальное разнообразие в верхнем и нижележащем горизонтах палеопочв различалось не так четко, как в современной почве, поскольку они были отрезаны от поступления растительных остатков и органического вещества, и горизонты находились в сходных условиях. После погребения микробные палеосообщества претерпели определенную сукцессию, которая привела к сближению их разнообразия. Это особенно проявилось в палеопочве PS-3 (3900–3700 лет до н. э.), в которой сохранились наиболее устойчивые и распространенные бактериальные группы. Палеопочвы PS-1 и PS-2 содержали как специфические для них бактериальные группы, так и группы общие с современной почвой. Наиболее

разнообразным было микробное сообщество в палеопочве PS-1: наряду с общими для хроноряда бактериальными группами в ней были и более специфические. Выявленные группы бактерий указывают на активное функционирование почвенной флоры и фауны, в том числе млекопитающих, о чем свидетельствует наличие присущей им патогенной микрофлоры. Таким образом, мы полагаем, высокое микробное разнообразие в палеопочвах, погребенных во второй половине III тысячелетия до н. э., связано с изменением внутригодового хода атмосферных осадков, а именно с увеличением количества летних осадков, которые поддерживали растительный покров, обеспечивая поступление питательных веществ в почву и тем самым обеспечивали бактериальное разнообразие.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА И БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант 19-18-00406-П), химическая часть – по Государственной программе России № 121041500047-3, генетическая часть – по программе Фонда Фулбрайта. Мы глубоко благодарны проф. Дж.Л. Тиджи и Др. Т.Л. Маршу за поддержку во время пребывания в Центре микробной экологии (МГУ) и проф. Н.И. Шишлиной (Государственный исторический музей, Россия) за возможность отбора почвенных образцов во время археологических раскопок.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Таблица S1. Микроорганизмы, выявленные в почвах педохроноряда (ES – современная почва, PS – палеопочвы, н.о. – не обнаружены), наиболее близкие к содержащимся в базе данных Мичиганского Университета (RDP).

Таблица S2. Распределение выявленных групп микроорганизмов в горизонтах AJ и ВМК (ES – современная почва, PS-палеопочвы).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Baccon C.W., Hinton D.M.* Bacillus mojaviensis: its endophytic nature, the surfactions, and their role in the plant response to infection by Fusarium verticillioides // *Bacteria in Agrobiolology: Plant Growth Responses*. Springer Heidelberg–Dordrecht–London, N.Y., 2011. P. 21–40.
2. *Beneduzi A., Passaglia L.M.P.* Genetic and phenotypic diversity of plant growth promoting bacilli // *Bacteria in Agrobiolology: Plant Growth Responses*. Springer Heidelberg–Dordrecht–London, N.Y., 2011. P. 1–20.
3. *Blackwood C.B., Marsh T.L., Kim S.-H., Paul E.A.* Terminal restriction length polymorphism data analysis for quantitative comparison of microbial communities //

- Appl. Environ. Microbiol. 2003. V. 69. P. 926–932.
<https://doi.org/10.1128/AEM.69.2.926-932>
4. *Blagodatskaya E.V., Khokhlova O.S., Anderson H., Blagodatskii S.A.* Extractable Microbial DNA Pool and Microbial Activity in Paleosols of Southern Urals // *Microbiology*. 2003. V. 72(6). P. 750–755.
 5. *Chernov V.M., Mukhametshina N.E., Gogolev Yu.V., Abdrakhmanov F.A., Chernova O.A.* Adaptive reactions of micoplasma in vitro: “viable but unculturable forms” and nanocells of *Acholeplasma laidlawii* // *Microbiology*. 2005. V. 74(4). P. 428–433.
 6. *Chernov T., Zhelezova A., Kutovaya O., Makeev A., Tkhakakhova A., Bgazhba N., Kurbanov F., Rusakov A., Puzanova T., Khokhlov O.* Comparative analysis of the structure of buried and surface soils by analysis of microbial DNA // *Microbiology*. 2018. V. 87. P. 833–841.
<https://doi.org/10.1134/S0026261718060073>
 7. *Delgado-Baquerizo M., Maestre F., Reich P., Trivedi P., Osana Yu., Liu Yu.R., Hamonts K., Jeffries T.K., Singh B.* Carbon content and climate variability drive global soil bacterial diversity patterns // *Ecological Monographs*. 2016. V. 86(3). P. 373–390.
<https://doi.org/10.1002/ecm.1216>
 8. *Demkin V.A., Borisov A.V., Udaltsov S.N.* Paleosols and climate in the southeast of the Central Russian Upland during the middle and late bronze ages (the 25th–15th centuries BC) // *Eurasian Soil Science*. 2010. V. 43. P. 5–14.
<https://doi.org/10.1134/S1064229310010023>
 9. *Demkina T.S., Borisov A.V., Demkin V.A., Khomutova T.E., Kuznetsova T.V., El'tsov M.V., Udaltsov S.N.* Paleoeological crisis in the steppes of the Lower Volga region in the middle of the Bronze Age (III-II centuries BC) // *Eurasian Soil Science*. 2017. V. 50(7). P. 791–804.
<https://doi.org/10.1134/S1064229317070018>
 10. *Demkina T.S., Borisov A.V., El'tsov M.V., Demkin V.A.* Comparative characterization of microbial communities in kurgans, paleosols buried under them and background surface soils in the steppe zone of the Lower Volga region // *Eurasian Soil Science*. 2007. V. 40(6). P. 665–674.
 11. *Demkina T.S., Borisov A.V., Khomutova T.E.* Comparative characteristics of recent and buried soils association in the desert steppe zone on the Volga-Don interfluvium // *Eurasian Soil Science*. 2019. V. 52(11). P. 1321–1332.
<https://doi.org/10.1134/S1064229319110024>
 12. *Golovchenko A.V., Semenova T.A., Anisimova O.V., Dobrovolskaya T.G., Glukhova T.V., Stepanov A.L.* The Structure of Microbial Communities in Soils of Non-cryogenic Regressive Bog // *Eurasian Soil Science*. 2020. V. 53. P. 668–674.
<https://doi.org/10.1134/s1064229320050063>
 13. *Indiraghandi P., Anandham R., Sa T.M.* Functional significance of insect gut bacteria and their role in host insect processes, development, and crop production // *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses*. Springer Heidelberg–Dordrecht–London, N.Y., 2011. P. 309–334.
 14. *Jha C.K., Aeron A., Patel B.V., Maheshwari D.K., Saraf M.* Enterobacter: role in plant growth promotion // *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses*. Springer Heidelberg–Dordrecht–London, N.Y., 2011. P. 159–182.
 15. *Khomutova T.E., Borisov A.V.* Estimation of microbial diversity in the desert steppe surface soil and buried paleosol (IV mil. BC) using the TRFLP method // *J. Arid Environments*. 2019. V. 171. P. 104004.
<https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2019.104004>
 16. *Khomutova T.E., Demkina T.S., Borisov A.V., Shishlina N.I.* State of microbial communities in paleosols buried under kurgans of the desert steppe zone in the middle Bronze Age (27th–26th centuries BC) in relation to the dynamics of climate humidity // *Eurasian Soil Science*. 2017. V. 50. P. 229–238.
<https://doi.org/10.1134/S1064229317020065>
 17. *Khomutova T.E., Kashirskaya N.N., Demkina T.S., Kuznetsova T.V., Borisov A.V., Fornasier F., Shishlina N.I.* Precipitation pattern during warm and cold periods in the Bronze Age (around 4.5–3.8 ka BP) in the desert steppes of Russia: soil-microbiological approach for palaeoenvironmental reconstruction // *Quaternary International*. 2019. V. 507. P. 84–94.
<https://doi.org/10.1016/j.quaint.2019.02.013>
 18. *Lang S.S., Donahue J.M., Arata A.B., Goris J., Hansen L.M., Earley D.L., Van Damme P.A.R., Timoney P.J., Hirsh D.* *Taylorella asinigenitalis* sp., a bacterium isolated from the genital tract of male donkeys (*Equus asinus*) // *International J. Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2001. V. 51. P. 971–976.
 19. *Liu W.-T., Marsh T.L., Cheng H., Forney L.J.* Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA // *Appl. Environ. Microbiol.* 1997. V. 63. P. 4516–4522.
 20. *Methods of Soil Analysis (Soil Science Society of America) 1994. Part 1. 667. S. Segou Rd., Madison, WI 53711, USA.*
 21. *Nikitin D.A., Semenov M.V., Chernov T.I., Ksenofontova N.A., Zhelezova A.D., Ivanova E.A., Khitrov N.B., Stepanov A.L.* Microbiological Indicators of soil ecological functions: a review // *Eurasian Soil Science*. 2022. V. 55(2). P. 221–234.
<https://doi.org/10.1134/s1064229322020090>
 22. *Semenov M.V., Chernov T.I., Zhelezova A.D., Nikitin D.A., Tkhakakhova A.K., Ivanova E.A., Xenofontova N.A., Sycheva S.A., Kolganova T.V., Kutovaya O.V.* Microbial communities of Interglacial and Interstadial paleosols of the Late Pleistocene // *Eurasian Soil Science*. 2020. V. 53(6). P. 772–779.
<https://doi.org/10.1134/S1064229320060101>
 23. *Shishlina N., Azarov E., Dyatlova T., Roslyakova N., Bachura O., Van der Plicht J., Kalinin P., Idrisov I., Borisov A.* Innovative seasonal migrations and subsistence system of the mobile pastoralists of the desert-steppe zone of Eurasia: role of social groups // *Stratum plus: Archaeology and Cultural Anthropology*. 2018. V. 2. P. 69–90.
 24. *Shishlina N.I., Van der Plicht J., Hedges R.E.M., Zazovskaya E.P., Sevastyanov V.S., Chichagova O.A.* The Catacomb cultures of the North-West Caspian steppe: 14C chronology, reservoir effect, and paleodiet // *Radiocarbon*. 2007. V. 49(2). P. 713–726.
<https://doi.org/10.1017/S0033822200042600>
 25. *Soumana I.H., Linz B., Harvill E.T.* Environmental origin of the genus *Bordetella* // *Front. Microbiol.* 2017. V. 8. P. 28.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00028>
 26. *Vos M., Wolf A., Jennings S., Kowalchuk G.* Micro-scale determinants of bacterial diversity in soil // *FEMS Microbiology Reviews*. 2013. V. 37(6). P. 936–954.
<https://doi.org/10.1111/1574-6976.12023>

Microbial Diversity in Buried Steppe Palaeosols in Relation to Former Pattern of Annual Precipitation

T. E. Khomutova^{1, *} and A. V. Borisov¹

¹*Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, Pushchino Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences, ul. Institutskaya, 2/2, Pushchino, Moscow region, 142290 Russia*

**e-mail: khomutova-t@rambler.ru*

Comparison of microbial diversity in the exposed surface Cambisol and palaeosols buried beneath kurgans from 3900–3700 to 2400–2300 cal BC in the desert-steppe zone of the Ergeny Upland was carried out. Chemical and morphological properties of palaeosols differed indicating different natural conditions of the time of kurgan erection. Microbial diversity in Ae and Bt horizons was studied by the TRFLP method. Using the RDP database, the taxonomic identification of bacterial phylotypes was carried out. Bacterial communities were diverse and reflected the functioning of soil biota, including plant and fauna pathogens. In the exposed surface soil bacterial diversity in Ae and Bt horizons differed, while in palaeosols they were more similar. In the most ancient palaeosol buried at 3900–3700 cal BC, bacterial groups were common to other palaeosols and/or to the exposed surface soil. In contrast, two palaeosols buried at the arid periods of the Bronze Age (second half of 3rd Millennium BC) had more specific bacterial groups, especially the palaeosol buried on the peak of climate aridization (2400–2300 cal BC). High microbial biodiversity of buried soils of arid periods is related to the changes in the intra-annual course of precipitation.

Keywords: annual precipitation, buried palaeosols, microbial diversity