PAPER DETAILS

TITLE: Microbiological Biodiversity Of Kyrgyzstan, The Modern Approaches Its Study And Preservation

AUTHORS: Td DOOLOTKELDIEVA

PAGES: 41-44

ORIGINAL PDF URL: https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/819747

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ БИОРАЗНООБРАЗИЕ КЫРГЫЗСТАНА, СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ ЕГО ИЗУЧЕНИЯ И СОХРАНЕНИЯ

ДООЛОТКЕЛЬДИЕВА Т.Д.
Кыргызско-Турецкий университет «Манас»
E-mail: tdoolotkeldieva@gmail.com

Аннотация. Данное сообщение содержит анализ и обзор о современном состоянии изученнности микробиологического биоразнообразия в Кыргызстане. Микробное разнообразие Кыргызской Республики факти–чески неизведано, и оно представляет таким образом огромную возможность для выявления еще неоткрытых метаболических путей и новых вторичных метаболитов. При исследовании почвенных образцов для выявления микробных метаболитов были использованы традиционные, классические методы микробиологии и современные методы молекулярной биологии.

Ключевые слова: микробиологическое биоразнообразие почвенных биотопов, классические методы микробиологии и методы молекулярной биологии, новые уникальные виды и новые вторичные метаболиты микроорганизмов.

MICROBIOLOGICAL BIODIVERSITY OF KYRGYZSTAN, THE MODERN APPROACHES ITS STUDY AND PRESERVATION

Abstract. This paper contains the analysis and review of the current state of microbial diversity study of Kyrgyzstan mountain ecosystems. Microbial diversity of soil ecosystems in Kyrgyzstan is virtually unknown, and it is a great opportunity to identify new species of microorganisms and their new secondary metabolites. Using two approaches - classical microbiological techniques and modern methods of molecular biology, it was to able to identify the ecosystems, habitats, soil types containing a rich diversity and concentration of bacteria, micromycetes species, new genes and their metabolites.

Key Words: microbial diversity of soil ecosystems, molecular biology and classical microbiological techniques, new unique species, new secondary metabolites.

Природные микроорганизмы включая прокариотов, архей, микроскопических грибов представляют собой большое богатство еще неизученного генетического и биохимического разнообразия на Земле. Таксономическое разнообразие только одной

прокариотической группы обширнее (есть много градаций и разновидностей в пределах подвида) чем это в растительных и животных группах.

Существует одна большая аномалия в изучении микробного изобилия и распределения, которая заключается в том, что из всех существующих в природе микробов только 1,0% может быть культивирован в лабораторных условиях. До настоящего времени только культивируемые микроорганизмы были экстенсивно проанализированы как потенциальные источники получения различных соединений для повышения качество жизни человека.

Известно, что один типичный почвенный образец (10 г) содержит свыше 10,000 различных видов бактерий и других микроорганизмов. Из них 99% не могут быть культивированы обычным традиционным способом. Если только 1% культивируемых бактерий дают 17,000 активных молекул (в настоящее время получено), то еще ожидается в науке открытие огромного количества вторичных метаболитов.

Следовательно, возможности для открытия новых биохимических путей, генетических способностей, ферментативных ферментативных трансформаций и новых вторичных метаболитов от этого огромного разнообразия пока еще не культивируемых микроорганизмов велики, особенно с использованием молекулярных инструментов и подходов для их обнаружения в естественных средах обитания.

Почему мы изучаем микробиологическое биоразнообразие?

Во–первых, изучив активность микроорганизмов и интенсивность микробиологических процессов мы можем оценить состояния и функционирования трофических цепей в естественных и подверженных к интенсивным антропогенным воздействиям экосистемах.

Микроорганизмы являются самой обильной жизненной формой на Земле, они так универсальны и самые приспосабливаемые к разным экстремальным условиям. Из-за относительно короткого времени обновления поколения (за 20-30 мин.) и непринужденности обмена генетической информации, микробы способны к быстрому развитию, переставляя и изменяя гены, чтобы приспособиться к новым окружающим факторам и новым нишам.

Без участия микроорганизмов немыслимы такие важные явления природы как круговорот биогенных веществ, функционирования пищевых цепей, преобразования косного вещества биосферы и т.д. Микроорганизмы являются обязательным компонентом всех без исключения экосистем. На них распространяются все законы и принципы общей экологии, объясняющие функционирования экологических систем, взаимоотношения между живыми компонентами экосистем и их абиотическим окружением, пути переноса энергии и вещества**.** Микробы могут быть найдены, процветая в крайностях температуры, осмотичности, pH, и солености. Некоторые могут быстро восстановить свой полный геном после подвергания к атомной радиации, которая была бы смертельной ко всем эукариотам. Другие процветают на поверхности капелек чистой неводной стадии

органических растворителей. Эта замечательная многосторонность и способность занимать среды обитания, расцененные как "чрезвычайный" налагают уникаль–ные напряжения на клеточные системы и в синтезе широкого разнообразия новых макромолекул, хемосинтетических механизмов.

Во-вторых, микроорганизмы имеют огромный биохимический потенциал, который позволяет им использовать как природные, так и антропогенные органические продукты в качестве субстратов и источников энергии. Они дают богатейшее разнообразие молекулярных и химических форм в природе, так как только одна бактериальная клетка содержит 3-4 тыс. генов и около 1200 метаболитов**.**

Таким образом при изучении микробиологического биоразнообразия мы пресле–дуем в основном две цели, это использования микроорганизмов как биондикато–ров оценки состояния окружающей среды и поиск и получения метаболитов микроорганизмов для использования их в разных отраслях биотехнологичекого производства. Роль микроорганизмов и их первичных, вторичных метаболитов огромна в таких отраслях как медицина, сельское хозяйство, пищевая промыш–ленность и экология т.е. в защите окружающей среды, в том числе природного биоразнообразия.

Кыргызская Республика представляет регион земного шара где можно найти самые разнообразные экологические нишы и экосистемы, среди них: постоянно покрытые снегом альпийские горы, высокогорные пустыни и степи, термальные источники, солончаки и щелочные почвы, загрязненные нефтью и тяжелыми металлами ландшафты, сельскохозяйственные поля, горные леса, древние отложения, среднесоленые и пресные озера. Эти окружающие среды еще не были системати–чески исследованы на разнообразие микроорганизмов, которыми они обладают. Микробное разнообразие Кыргызской Республики фактически неизведано, и оно представляет таким образом огромную возможность для выявления еще неоткрытых метаболических путей и новых вторичных метаболитов.

При поддержке Международного проекта по Биоразнообразию США нами были начаты систематические исследования микробного разнообразия в уникальных средах обитания Кыргызстана.

Были исследованы отдельные естественные и антропогенные экосистемы нашей Республики для выявления групп прокариотов, метаболиты которых важны для получения новых антибиотических соединений для медицины, антифунгальных препаратов и рост стимуляторов растений для сельского хозяйства, получение новых микробных метаболитов для биоремедизации загрязненных экосистем.

Были исследованы различные типы почв естественных экосистем Иссык–Кульской, Чуйской, Суусамырской, Ат-Башинской долины и Нарынской области. В качестве антропогенных экосистем мы исследовали почвы вокруг Каджисай–ский урандобывающий рудника, Ак-Тюзской металл переработывающей фабрики, а также заргязненные нефтью продуктами почвы в районе железнодорожного вокзала города Бишкек.

При исследовании почвенных образцов для выявления микробных метаболитов были использованы традиционные, классические методы микробиологии и современные методы молекулярной биологии. Традиционные методы требует обязательного выделения и культивирования чистой культуры

микроорганизмов, у которых изучаются морфофизиологические, биохимические свойства и составляется фенотипическая характеристика полученных штаммов.

Для скрининга за новые биологически активные соединения (антибиотиков) были использованы современные быстрые методы скрининга. Например, для отбора штаммов актиномицетов продуцирующих новые антибиотические соединения были испытаны штаммы прокариотов через *E. coli* штаммы, содержащие резистентные плазмиды к антибиотикам.

При молекулярном подходе был использован независимый от культивирования подход, где непосредственно из почвы экстрагировали ДНК. Дальше выделенные образцы подвергались ПЦР анализу для выявления генома прокариотов. Амплификацию ДНК мишеней проводили с бактериальным прямым праймером 16 S PNA 27 F (5'AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) и обратным праймером 16 S PNA 907 R (5'CCGTCAATTCCTTTGAGTTT). Реакцианная смесь содержала ПЦР–буфер, Таг- полимеразу – фермент, осуществляющий удлиняющий ДНК в направ–лении 5 → 3 путем присоединения комплементарного нуклеотида. ПЦР проводили используя прибор TECHNE модель. Молекулярный вес продуктов ПЦР определяли с помощью электрофореза в 1%-ном агарозном геле (ТАЕ- буфер), содержащим бромистый этидий, в присутствии маркера. Форез проводили при 40 v. Гель фотографировали в УФ-свете с длиной волны около 300 нм. Для увеличения количества фрагмента ДНК(амплификации) проводили клонирование в векторе, посредством репликации. В качестве вектора был использован бактериальные (BAC) хромосомы. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили в помощью программы Multi Alin (htpp:// prodes. toulouse. inra. fr/multalin/). Дальнейшие операции по построению филогенетического дерева проводили с помощью пакета программ TREECONW 1.3b, используя для оценки эволюционных расстояний поправку Jukes& Cantor, для построения дерева – метод neighbor-joining, а для определения статистической достоверности ветвления - bootstrap-анализ 100 альтернативных деревьев.

Таким образом, в результате исследований, проводимых с помощью классических методов микробиологии и молекулярной биологии нам удалось создать коллек–ции штаммов почвенных бактерий родов Streptomyces, Bacillus, Pseudomonas, Rhodococcus и геномную библиотеку представителей этих бактерий. Геномная библиотека прокариота Streptomyces представляет собой совокупность генов, ответственных за синтез новых антибиотических соединений группы полукетид–синтетазы. Геномная библиотека прокариотов Pseudomonas и Rhodococcus представляет собой совокупность генов, ответственных за синтез новых ферментов, способных окислять алканы и другие ароматические углеводороды.