

СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОБНОЙ БИОМАССЫ В ОРГАНО-АККУМУЛЯТИВНЫХ ГОРНЫХ ПОЧВАХ КАВКАЗА

© 2024 г. А. А. Петросян^{а, *} (<https://orcid.org/0000-0003-4355-0961>),
Е. В. Чернышева^а, В. Н. Пинской^а, А. В. Борисов^а

^аИнститут физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
ул. Институтская, 2, Пущино, Московская область, 142290 Россия

*e-mail: Alisa_Mayakovskaya@bk.ru

Поступила в редакцию 04.04.2024 г.

После доработки 28.06.2024 г.

Принята к публикации 01.07.2024 г.

Микробное сообщество играет важную роль в биогеохимических процессах в почвах. Существует множество методов исследований микробной биомассы, однако встает вопрос о наиболее информативном и подходящем методе для высокогорных почв. Объекты исследования — органо-аккумулятивные почвы (Umbrisols) субальпийской и альпийской зоны на высотах 1960, 2600 и 2940 м над ур. м., склонов северной и южной экспозиции. Использовали четыре метода оценки углерода микробной биомассы: метод извлечения фосфолипидов из почвы (С-ФЛ), метод субстрат-индуцированного дыхания (С-СИД), метод выделения двухцепочечной ДНК (дцДНК) из почвы (С-ДНК) и биокинетический метод (С-БК). При сравнении метод С-ДНК давал заниженные результаты в верхних горизонтах, не сопоставимые с тремя другими методиками. Это связано с известными ограничениями выделения дцДНК из органогенных почв. Метод изучения микробной биомассы С-СИД показал схожие значения с С-ФЛ. Микробная биомасса, определенная биокинетическим методом в почвах альпийской зоны, была максимальной на всех объектах, в связи с преобладанием грибных сообществ в субальпийской и альпийской зоне. Более точные величины микробной биомассы в верхней части профиля получены биокинетическим методом, в то время как в нижней части профиля — методом С-ФЛ.

Ключевые слова: дцДНК, фосфолипиды жирных кислот, субстрат-индуцированное дыхание, биокинетический метод

DOI: 10.31857/S0032180X24120115, **EDN:** JCRNIO

ВВЕДЕНИЕ

Микробное сообщество почв играет важную роль в биогеохимических процессах, участвуя в преобразовании соединений углерода, азота, фосфора, серы и других биофильных элементов [8, 10, 31]. Изменение состояния микробного сообщества в ответ на различные естественные и антропогенные нарушения можно оценить по величине микробной биомассы. Являясь живым и лабильным компонентом почв, микробная биомасса участвует в разложении растительных и животных остатков и, в значительной мере, отражает состояние органического вещества почв [30, 50]. В связи с этим количественная оценка почвенной микробной биомассы и определение ее взаимосвязи с почвенными функциями являются важнейшей задачей современной почвенной микробиологии.

До сих пор не существует универсального (пригодного для всех почвенных типов и экофизиологических условий) метода определения содержания углерода микробной биомассы, а большинство методов основано на использовании пересчетных коэффициентов, полученных при сопоставлении с результатами оценки микробной биомассы методом фумигации—экстракции [37, 39, 49]. В свою очередь, фумигационный метод обладает рядом существенных недостатков и ограничений. Например, на точность метода оказывают влияние наличие растительных остатков, высокое содержание почвенного органического вещества и низкие значения pH [3, 31].

Другим широко распространенным методом определения углерода микробной биомассы является метод измерения субстрат-индуцированного

дыхания после внесения в почву глюкозы [25]. К его преимуществам относятся высокая воспроизводимость, чувствительность, относительно небольшие затраты труда и времени. Однако для оценки всей микробной биомассы этот метод не вполне подходит, так как глюкоза не является универсальным субстратом для всех микроорганизмов, поэтому более корректно использовать его для оценки биомассы микроорганизмов определенной физиологической группы [15, 31].

Метод оценки микробной биомассы по содержанию жирных кислот фосфолипидов в почве также получил широкое распространение [24, 38, 54]. Фосфолипиды — один из универсальных биомаркеров, позволяющих оценить общее количество биомассы микроорганизмов в почве на основе количественного определения концентрации этих веществ. Фосфолипиды являются основными компонентами мембран бактерий, актиномицетов, грибов, низших растений и не входят в состав запасных веществ. При гибели клеток и разрушении мембран фосфолипиды подвергаются биохимический деградации, теряют свои фосфатные группы и разлагаются до диглицеридов в течение нескольких часов, за редким исключением — нескольких суток. Поэтому фосфолипиды могут давать информацию о живой почвенной микробной биомассе в целом. Несмотря на существование различных пересчетных коэффициентов, концентрацию фосфолипидов в почвенном образце редко пересчитывают в углерод микробной биомассы, так как в зависимости от физиологического состояния микроорганизмов (активные или покоящиеся формы) содержание фосфолипидов в клеточной стенке будет различаться [52].

Определение концентрации двухцепочечной ДНК (дцДНК) является еще одним методом анализа микробной биомассы, позволяющим оценить количество универсального, базового компонента для всех живых клеток [49]. Показана тесная взаимосвязь концентрации дцДНК и содержания углерода микробной биомассы, определенного методами субстрат-индуцированного дыхания и фумигации—экстракции [26, 28, 42, 43, 49]. Однако в почвах с высоким содержанием органического вещества, наличием свежих растительных остатков, тяжелым или, напротив, очень легким гранулометрическим составом будет наблюдаться нарушение этой взаимосвязи [35, 40]. Занижение значений микробной биомассы может быть связано с неполнотой выделения дцДНК из-за неполного лизиса микробных клеток и сорбции коллоидными частицами [47], а также высокой степенью ее фрагментации и меньшей сохранностью, например, в почвах легкого гранулометрического состава [44]. В свою очередь, завышение концентрации дцДНК может происходить в почвах тяжелого гранулометрического состава, в которых создаются

благоприятные условия для сохранения внеклеточной ДНК, источником которой могут служить растительные и животные остатки, а также мертвые микробные клетки [41].

Углерод микробной биомассы ($C_{\text{мик}}$) можно рассчитать также на основе оценки кумулятивного накопления $C\text{--}CO_2$ методом биокинетического фракционирования пулов активного органического вещества за первые 14–15 сут непрерывной инкубации почв, после предварительного высушивания образцов при умеренно высоких температурах ($65^\circ C$) [20]. Инкубирование почвенных образцов после повторного увлажнения приводит к резкому увеличению интенсивности дыхания микроорганизмов, которые используют внутриклеточные компоненты обезвоженных мертвых микробных клеток в качестве субстрата. Ввиду своей трудо- и времязатратности, данный метод не получил широкого распространения. Однако при сравнении рассчитанных величин микробной биомассы в почвах различных типов биокинетическим методом и методами фумигации—инкубации и регидратационным методом были получены идентичные результаты [20].

Необходимость модификации существующих методов оценки микробной биомассы в почвах различных типов и экосистем отмечалась ранее [31, 40]. Если при изучении минеральных почв удастся получить надежные и воспроизводимые результаты определения углерода микробной биомассы, то его определение в органо-аккумулятивных почвах сопряжено с рядом сложностей, связанных с высоким содержанием органического вещества, большим количеством свежих неразложившихся растительных остатков, низким содержанием илстой фракции и низкими значениями pH.

Цель работы — оценить величину углерода микробной биомассы в органо-аккумулятивных почвах Центрального Кавказа с использованием четырех различных методов, а именно, методом субстрат-индуцированного дыхания, методом оценки концентрации фосфолипидов мембранных клеток, методом определения концентрации двухцепочечной ДНК и методом биокинетического фракционирования, и выбрать наиболее оптимальный для этих почв.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования были почвы горной зоны Центрального Кавказа, расположенные в Карачаево-Черкесской и Кабардино-Балкарской Республиках, в бассейнах рек Малка и Кубань (рис. 1). Почвы исследуемого района сформированы, преимущественно, на глинистых сланцах и известковистых песчаниках средней и верхней юры, с незначительным участием известняков нижнего мела. Территория данного региона характеризуется



Рис. 1. Расположение объектов исследования.

умеренно континентальным, холодным и влажным высокогорным климатом. Вдоль высотного градиента происходит увеличение годового количества осадков, и, следовательно, повышение относительной влажности воздуха, изменение инсоляции, нарастание суточных колебаний температур. Среднегодовая температура изменяется от 2–3°C на высотах 1800–2600 м до –3°C на высотах 2600–3000 м. Годовая сумма осадков достигает 1700–2000 мм на высотах 1800–2600 и 2000–2200 мм на высотах 2600–3000 м соответственно [11, 16]. Древесные растения встречаются лишь по врезам рек в нижней части склонов северной экспозиции. Распределение травянистой растительности связано с высотной поясностью и экспозицией склона. На склонах северной экспозиции формируются разнотравные луга, а склоны южной экспозиции находятся под петрофитными степями, где растительность представлена разнотравно-злаковыми и разнотравно-полевидцевыми [6, 7]. Изучаемые территории характеризовались пастбищным режимом землепользования. Исследования проводили на трех ключевых участках, на каждом из которых

были выбраны две точки обследования – на склонах южной и северной экспозиции. При этом уклон и характер почвообразующих пород были однотипными.

Ключевой участок Гумбаши расположен на перевале Гумбаши Скалистого хребта в субальпийской зоне, на высоте 1960 м, где выбраны две точки на склонах северной и южной экспозиций с крутизной 30°.

Ключевой участок Сирх расположен на хребте Сирх, отроге Скалистого хребта, в альпийской зоне. Здесь были выбраны два участка на разных высотах: ключевой участок Сирх-1, расположенный на высоте 2600 м с крутизной склонов 20°–25°, и ключевой участок Сирх-2, расположенный на высоте 2940 м с крутизной склонов 30°–35°.

На каждом ключевом участке оценивали состояние почвенного покрова серией прикопок. В наиболее репрезентативных участках закладывали почвенные разрезы и проводили описание профилей. Образцы почв для определения физико-химических и биологических показателей обирали через каждые 10 см с соблюдением условий стерильности. Образцы транспортировали и хранили

в зип-пакетах при температуре 5–7°C. Микробиологические анализы выполняли в образцах при естественной влажности через 5–7 сут после отбора. Образцы почв для определения дцДНК хранили при температуре –18°C.

Почвы всех ключевых участков относились к отделу органо-аккумулятивных и соответствовали Umbrisols по мировой классификационной системе WRB [9].

На ключевом участке Гумбаши (1960 м) почвы северного и южного склона темногумусовые остаточно-карбонатные супесчаные на элюво-делювии известковистых песчаниках. Мощность горизонта AU до 25–30 см. Характерна мощная дернина, особенно на северном склоне — до 15 см. До глубины 20 см встречаются лишь единичные крупные камни, с 20 см скелетность возрастает до 30–40%. Почвы склона южной экспозиции отличаются более выраженными бурыми тонами в окраске почвенной массы и менее прочной дерниной.

Почвы ключевого участка Сирх-1 (2600 м) на склонах северной и южной экспозиции перегнойно-темногумусовые супесчаные на элюво-делювии известковистых песчаников. Отличаются более мощным почвенным профилем глубиной 60–70 см. Мощность дернины достигала 5–7 см. Почвы южного склона характеризуются заметно более выраженными желтовато-бурыми тонами в окраске. Хорошо заметен переходный горизонт AC. До глубины 45–50 см скелетность менее 10%, в горизонте AC — до 70–80%.

Почвы ключевого участка Сирх-2 (2940 м) также представлены перегнойно-темногумусовыми супесчаными на элюво-делювии известковистых песчаников. Характерна разная мощность и сложение на склонах разной экспозиции. На южном склоне мощность не превышала 40–45 см, цвет желтовато-бурый, лишь в верхних 10–15 см заметны сероватые тона, скелетность на уровне 10–20%. Дернина — до 10 см. На склоне северной экспозиции мощность профиля достигала 90 см. До 50% объема занимали крупные камни, мелкоземистое заполнение представлено буровато-серым супесчаным материалом с высокой скелетностью (до 40–60%) по всему профилю.

Гранулометрический состав почв определяли пипеточным методом по Качинскому [17]; содержание общего азота — с помощью CHN анализатора (Elementar Vario El cube, Германия) в ЦКП ИФХиБПП РАН [34]; pH водной вытяжки — потенциометрическим способом при соотношении почва : вода 1 : 2.5 [5]; потери при прокаливании и содержание карбонатов в почве были определены стандартными методами [2].

Для определения содержания $C_{\text{мик}}$ были выбраны четыре метода: субстрат-индуцированное дыхание (C-СИД, substrate-induced respiration (SIR)),

определение фосфолипидов в почве (C-ФЛ, phospholipid fatty acids, (PLFA)), выделение двухцепочечной ДНК из почвы (C-ДНК) и биокинетический метод (C-БК).

Метод C-СИД основан на определении скорости выделения углекислого газа почвенной микробной биомассой, в ответ на внесение глюкозы, где полученные исходные значения, выраженные в мкг C–CO₂/(г почвы ч), переводятся в единицу микробного углерода, используя коэффициент 40.04 [1, 10, 25].

Метод C-ФЛ основан на десорбции микроорганизмов из почвы, экстракции органического вещества с последующим отделением липидной фракции от органического вещества и количественным анализом. Для пересчета величины содержания фосфолипидов из нмоль/г почвы в единицы углерода был использован литературный коэффициент пересчета 5.2 [24, 33].

Концентрацию дцДНК в почвенных образцах определяли с использованием коммерческого набора FastDNA Spin Kit for soil (MP Biomedicals). Выделенную ДНК окрашивали с использованием флуорогенного красителя квантифлуор, количество флуоресценции которого пропорционально количеству ДНК в образце. Для пересчета полученных значений из мкг дцДНК/г почвы на единицу микробного углерода был использован коэффициент 5.1 из литературных источников [44, 49].

На основе данных по кумулятивному продуцированию диоксида углерода в течение 15 сут инкубации почвы была рассчитана микробная биомасса биокинетическим методом (C-БК) путем аппроксимирования уравнением экспоненциальной регрессии:

$$C_t = 0.45C_{\text{мб}}[1 - \exp(-kt)] + Bt,$$

где C_t — кумулятивное количество C–CO₂ за все время инкубации, k — константа скорости минерализации микробной биомассы, t — время (сут), $C_{\text{мб}}$ — содержание углерода (мг/100 г) микробной биомассы, 0.45 — доля углерода субстрата, использованного на образование углерода микробной биомассы, B — константа, характеризующая равновесие между приростом и отмиранием микробной биомассы при полной утилизации начального запаса субстрата [20]. Перед определением C-БК почвенные образцы предварительно высушили при 65°C в течение 24 ч, а затем увлажнили до 60% ПВ.

Значения микробной биомассы, полученные четырьмя методами, выражали в мг C/100 г почвы. Все полученные данные пересчитывали на абсолютно-сухую навеску почвы. Для оценки взаимосвязи физико-химических свойств почв и содержания углерода микробной биомассы, определенного четырьмя методами, проводили регрессионный

анализ методом наименьших квадратов. Кроме того, был проведен однофакторный дисперсионный анализ основных физико-химических свойств с четырьмя методами оценки микробной биомассы. Статистическую обработку данных проводили в программе Past 4.03.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Химические и физические свойства почв. Исследованные почвы существенно различались по своим химическим и физическим свойствам (табл. 1). В изученных почвах отмечено накопление полуразложившегося органического вещества, состоящего из не полностью гумифицированных растительных остатков, а также его замедленная минерализация. Содержание органического углерода варьировало от 6–11% в верхних слоях до 3–5% в нижних слоях темногоумусовых почв и до 1–2% в переходном горизонте. На всех объектах почвы на склонах северной экспозиции отличались большим содержанием органического углерода по сравнению с почвами южных склонов, кроме ключевого участка Сирх-2 (2600 м), где значения достоверно не различались. Содержание азота в почвах достигало 1.1% и уменьшалось с глубиной. Все рассматриваемые почвы характеризовались слабокислой реакцией среды, близкой к нейтральной (рН 4.7–6.3). Гранулометрический состав почв всех ключевых участков относится к связно-песчаному в верхних горизонтах и супесчаному в нижних. Наибольшее содержание илистой фракции было обнаружено в нижних горизонтах почв склона северной экспозиции на перевале Гумбаши (1960 м), где этот показатель достигал 6%. Во всех других случаях содержание ила было на уровне 1–3%. Содержание карбонатов было на уровне 1%. Потери при прокаливании варьировали от 11 до 34% в верхних слоях, и от 4 до 11% – в нижних.

Отношение C/N изменялось в пределах от 8.5 до 13.1, где в среднем во всем профиле значения изменяются в пределах 10–11, и в редких случаях в нижнем горизонте южных склонов Сирх-1, 2 было обнаружено соотношение C:N на уровне 8–9.

Полученные нами результаты исследования физико-химических свойств органо-аккумулятивных почв высокогорных районов сопоставимы с данными других исследователей [4, 12–14, 18, 21–23, 36].

Углерод микробной биомассы. Значения углерода микробной биомассы почв, определяемые методом С-ФЛ, закономерно уменьшались вниз по профилю (рис. 2). На объекте Гумбаши на склоне северной экспозиции содержание $C_{\text{мик}}$ составляло ~220 мг С/100 г и закономерно снижалось с глубиной. В то время, как в почвах на склонах южной экспозиции значения $C_{\text{мик}}$ были в 1.4 раза ниже. В почвах ключевых участков Сирх-1 и Сирх-2, на склонах северной и южной экспозиции

закономерности профильного распределения $C_{\text{мик}}$ были схожими. Минимальные значения были выявлены в почве южного склона объекта Сирх-2, где они не превышали 119 мг С/г почвы в верхнем горизонте.

Углерод микробной биомассы, оцененный методом С-СИД, достигал 460 мг С/100 г в почве северного склона объекта Гумбаши. В почвах ключевых участков Сирх-1 и Сирх-2, микробная биомасса, в целом, была ниже и отмечено ее уменьшение в 2 раза с увеличением абсолютной высоты. Во всех случаях значения $C_{\text{мик}}$ в почвах склонов северной экспозиции были выше таковых почв южных склонов.

Содержание углерода микробной биомассы, оцененное методом С-ДНК, было существенно ниже по сравнению с другими методами. Так, значения $C_{\text{мик}}$ не превышали 50 мг С/100 г почвы, и не выявлено закономерностей варьирования микробной биомассы в зависимости от экспозиции склона и высоты.

Значения углерода микробной биомассы, определенные методом С-БК, в почвах всех изученных объектов, как правило, были выше в 2–3 раза по сравнению с другими методами определения $C_{\text{мик}}$, достигая 671 мг С/100 г в почве склона южной экспозиции ключевого участка Сирх-1.

Таким образом, выявленные закономерности варьирования почвенной микробной биомассы, определенной четырьмя методами, различались в зависимости от высоты и экспозиции склона. На всех ключевых участках методом С-СИД были выявлены максимальные значения микробной биомассы на склонах северной экспозиции. Метод С-ФЛ показал хоть и незначительное, но достоверное превышение микробной биомассы в почвах на склоне южной экспозиции на объекте Сирх-2 по сравнению с почвами южного склона. Так, содержание углерода микробной биомассы, рассчитанное по содержанию ДНК, было выше в почвах склонов южной экспозиции на двух ключевых участках Гумбаши и Сирх-1, однако в почвах объекта Сирх-2 эти результаты были аналогичными на обоих склонах.

Доля микробного углерода (табл. 2), оцененная методами С-СИД, С-ФЛ, С-ДНК, варьировала от 0.3 до 3.9% в верхних почвенных горизонтах, что является достаточно низкими значениями для органо-аккумулятивных почв, богатых легкодоступными фракциями органического углерода [45]. Однако доля микробного углерода, рассчитанная на основе метода С-БК, в верхних горизонтах почв ключевого участка Сирх достигала 6.9%. Заниженная доля микробного углерода в почвах субальпийской и альпийской зоны (ключевые участки Сирх-1 и Сирх-2), полученная методами С-ДНК, С-ФЛ и С-СИД, вероятно, связана с ограничениями этих

Таблица 1. Физико-химические свойства горно-луговых почв Центрального Кавказа

Глубина, см	C _{орг}	Ил	Физическая глина	CO ₂ карб	ППП	N _{общ}	pH	C/N
	%							
Гумбаши, склон северной экспозиции (1960 м)								
0–10	11.8	1	9	0.8	27.7	1.1	5.2	11.2
10–20	8.5	2	7	0.6	20.3	0.8	4.9	10.8
20–30	6.3	4	12	0.6	16.8	0.5	4.7	12.2
30–40	4.8	5	14	0.8	13.8	0.4	4.7	12.1
40–50	3.2	6	19	0.6	9.6	0.2	4.8	13.0
Гумбаши, склон южной экспозиции (1960 м)								
0–10	8.6	3	9	0.3	20.5	0.8	5.1	11.1
10–25	5.9	3	10	0.7	12.2	0.5	4.8	11.3
25–40	3.4	4	13	0.8	10.5	0.3	4.9	10.8
Сирх-1, склон северной экспозиции (2600 м)								
0–10	9.1	1	8	0.4	22.8	0.8	5.7	11.9
10–20	5.9	1	16	0.4	14.7	0.5	5.6	11.4
20–30	5.2	2	15	0.2	13.2	0.4	5.9	11.5
30–40	3.9	3	17	0.4	10.4	0.3	5.7	11.4
40–50	2.5	3	14	0.1	7.6	0.2	5.7	11.5
50–60	1.7	3	19	0.3	7.2	0.2	5.6	10.0
Сирх-1, склон южной экспозиции (2600 м)								
0–10	9.7	1	8	0.7	21.4	0.8	5.7	11.6
10–20	6.1	1	10	0.4	16.9	0.6	5.7	11.0
20–30	5.3	1	10	0.7	14.2	0.5	5.7	10.8
30–40	3.5	2	14	0.6	9.9	0.3	5.8	10.9
40–50	1.9	4	19	0.6	13.6	0.2	5.8	11.4
50–60	1.6	4	18	0.5	5.9	0.1	5.8	10.5
60–70	1.7	1	20	0.5	6.8	0.2	6.0	8.5
Сирх-2, склон северной экспозиции (2900 м)								
0–10	9.0	1	10	0.8	21.2	0.7	5.7	13.1
10–20	7.2	1	14	0.4	34.2	0.6	5.3	12.1
20–30	5.6	1	13	0.3	15.2	0.5	5.3	11.8
30–40	5.1	1	17	0.4	13.8	0.4	5.5	12.2
40–50	3.5	1	15	0.1	9.4	0.3	5.4	11.4
50–60	3.0	2	16	0.3	9.0	0.3	5.4	11.2
60–70	2.9	2	16	0.1	9.1	0.3	5.7	11.3
70–80	2.8	3	17	0.1	8.5	0.2	5.5	11.3
80–90	3.3	3	23	0.2	10.0	0.3	5.3	11.3
Сирх-2, склон южной экспозиции (2900 м)								
0–10	7.9	1	6	0.7	17.7	0.7	5.9	11.4
10–20	5.6	1	7	0.5	11.0	0.5	5.9	10.6
20–30	4.1	0	8	0.7	9.4	0.4	6.0	10.5
30–40	2.8	0	8	0.5	6.8	0.3	6.1	10.0
40–50	1.7	1	14	0.4	5.3	0.2	6.2	9.3
50–60	1.7	1	13	0.8	5.4	0.2	6.3	9.0
60–70	1.0	3	15	0.7	4.4	0.1	6.1	8.6

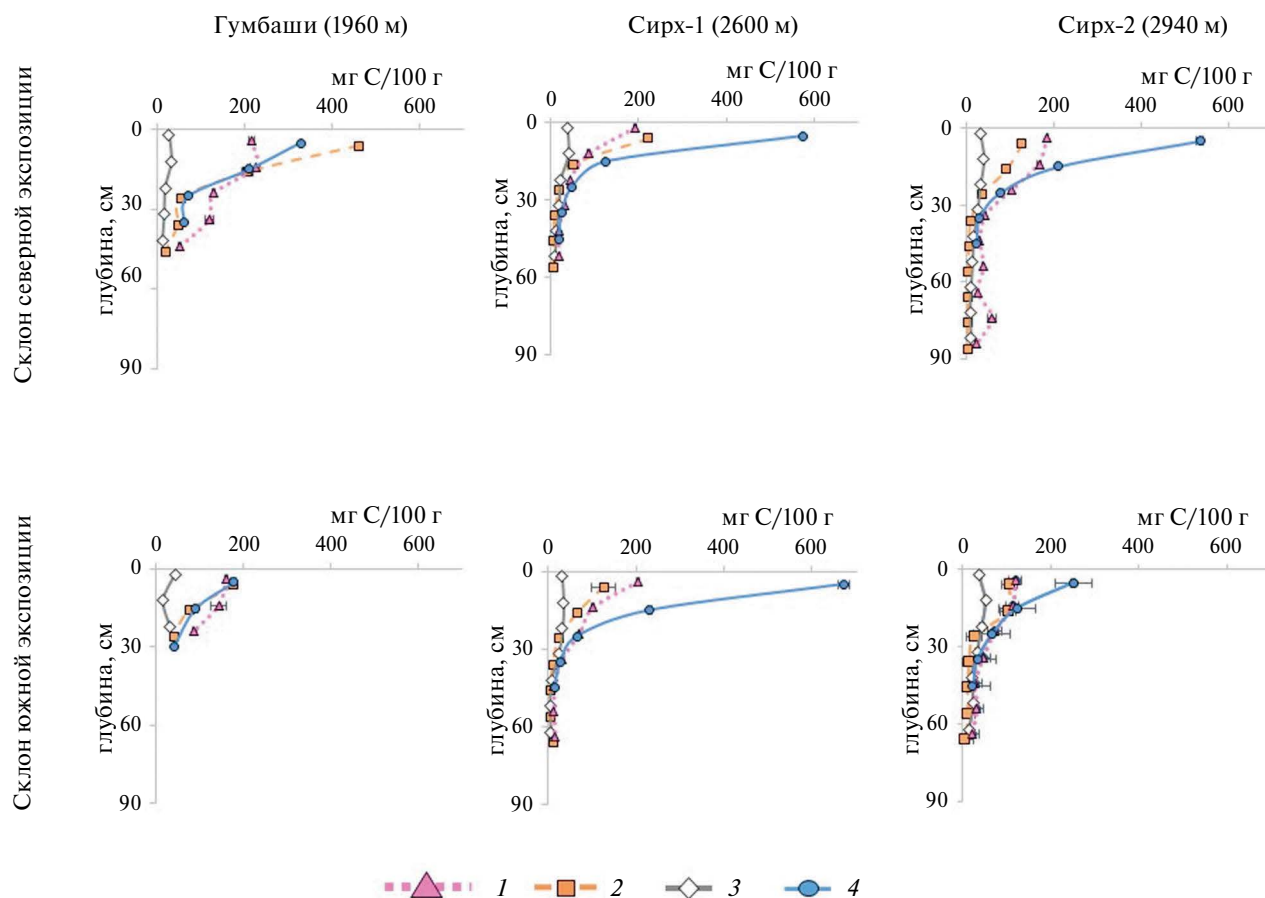


Рис. 2. Графики изменения углерода микробной биомассы в высотном градиенте на трех объектах: Гумбаши (1960 м), Сирх-1 (2600 м), Сирх-2 (2940 м) на склонах северной и южной экспозиции. 1 – метод оценки углерода микробной биомассы на основе определения фосфолипидов в почве (С-ФЛ); 2 – метод оценки углерода микробной биомассы с помощью субстрат-индуцированного дыхания (С-СИД); 3 – метод оценки углерода микробной биомассы по количеству экстрагированной двухцепочечной ДНК из почвы (С-ДНК); 4 – биокинетический метод оценки микробной биомассы (С-БК).

методов при определении грибной биомассы в высокогорных почвах. Грибное сообщество хорошо адаптируется к условиям холодного климата в связи с пониженной оптимальной температурой для своего роста и активности – по сравнению с бактериальным сообществом почвенных микроорганизмов [36]. Ранее было показано достоверное увеличение доли грибной биомассы в почвах альпийской зоны по сравнению с почвами субальпийской [32, 42, 45]. Субальпийская зона характеризуется более мощным растительным покровом, с хорошо развитой корневой системой по сравнению с альпийской зоной. Особенности растительности горной зоны обуславливают высокую доступность лабильных субстратов и преобладание бактериальных сообществ, обладающих большей скоростью роста, чем грибные сообщества в почвах данной зоны. Исходя из вышесказанного, можно сделать предположение, что в почвах альпийской зоны – с вероятным преобладанием грибов в структуре

микробного сообщества – именно биокинетический метод с длительным периодом непрерывной инкубации дает возможность оценить биомассу медленно растущих грибных сообществ. В почвах субальпийской зоны, с преобладанием бактериальных сообществ, напротив, все методы оценки микробной биомассы, кроме С-ДНК, показывали близкое отношение углерода микробной биомассы к органическому углероду.

Статистическая обработка данных. При проведении регрессионного анализа (рис. 3) углерода микробной биомассы с химическими свойствами почв была выявлена средняя корреляционная зависимость между значениями С-ФЛ, С-БК и С-СИД и общим углеродом и азотом ($r^2 = 0.64–0.86$, $P = 0.001$), а также слабая корреляция с С-ДНК ($r^2 = 0.40$, $P = 0.001$).

Регрессионный анализ между углеродом микробной биомассы и физическими свойствами

Таблица 2. Доля углерода микробной биомассы от органического в изученных почвах, %

Глубина, см	С–СИД : С _{орг}	С–ФЛ : С _{орг}	С–ДНК : С _{орг}	С–БК : С _{орг}
Склон северной экспозиции ключевого участка Гумбаши				
0–10	3.9	1.8	0.2	2.8
10–20	2.4	2.7	0.4	2.5
20–30	0.9	2.0	0.3	1.1
30–40	1.0	2.5	0.4	1.3
40–50	0.6	1.6	0.4	н.д
Склон южной экспозиции ключевого участка Гумбаши				
0–10	2.1	1.9	0.5	2.1
10–25	1.3	2.4	0.3	1.5
25–40	1.2	2.6	0.9	1.2
Склон северной экспозиции ключевого участка Сирх-1				
0–10	2.4	2.1	0.4	6.3
10–20	0.9	1.5	0.7	2.1
20–30	0.4	0.9	0.4	0.9
30–40	0.2	0.8	0.5	0.6
40–50	0.2	0.7	0.4	0.7
50–60	0.4	1.2	0.6	Нет данных
Склон южной экспозиции ключевого участка Сирх-1				
0–10	1.3	2.1	0.3	6.9
10–20	1.1	1.7	0.6	3.7
20–30	0.5	1.4	0.6	1.2
30–40	0.3	0.9	0.7	0.8
40–50	0.3	0.7	0.5	0.8
50–60	0.5	0.9	0.3	Нет данных
60–70	0.7	0.9	0.4	»
Склон северной экспозиции ключевого участка Сирх-2				
0–10	1.4	2.1	0.3	5.9
10–20	1.3	2.3	0.5	2.9
20–30	0.6	1.9	0.6	1.4
30–40	0.2	0.8	0.5	0.6
40–50	0.2	0.9	0.5	0.7
50–60	0.1	1.2	0.5	Нет данных
60–70	0.1	0.8	0.4	»
70–80	0.1	2.1	0.3	»
80–90	0.1	0.6	0.3	»
Склон южной экспозиции ключевого участка Сирх-2				
0–10	1.3	1.5	0.5	3.2
10–20	1.8	2.0	0.9	2.2
20–30	0.6	1.8	1.1	1.6
30–40	0.5	1.7	1.2	1.2
40–50	0.6	1.6	1.1	1.3
50–60	0.7	1.8	1.4	Нет данных
60–70	0.6	2.0	1.3	»

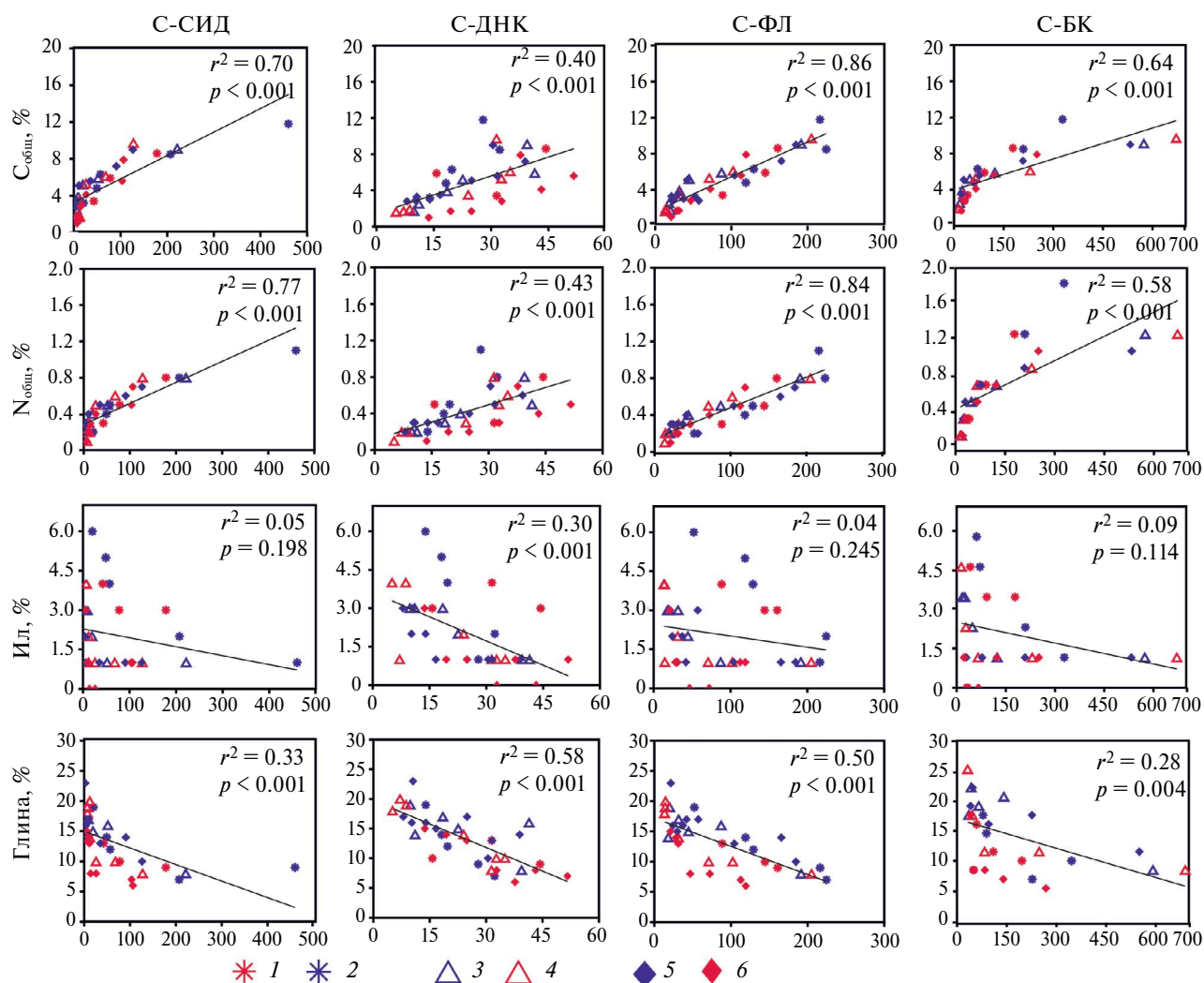


Рис. 3. Регрессионный анализ основных физико-химических и биологических показателей. 1 – Гумбаши (1960 м), склон северной экспозиции; 2 – Гумбаши, склон южной экспозиции; 3 – Сирх-1 (2600м), склон северной экспозиции, 4 – Сирх-1, склон южной экспозиции; 5 – Сирх-2 (2940м), склон северной экспозиции; 6 – Сирх-2, склон южной экспозиции.

обнаружил слабую корреляцию содержания ила и глины с C-ДНК ($r^2 = 0.30$ – 0.58 , $P = 0.0001$) и отсутствие корреляции физико-химических свойств с другими методами оценки микробной биомассы; исключение составляет корреляция C-ФЛ с содержанием глины, где $r^2 = 0.50$, $P = 0.0001$.

Для почв альпийской зоны характерно большое содержание органического углерода и высокие потери при прокаливании. Соединения гумусовой природы и детрит разной степени минерализации, представляющие собой окрашенные органические вещества природного происхождения, существенно влияют на количественный анализ содержания почвенной ДНК. Гумусовые вещества часто экстрагируются совместно с нуклеиновой кислотой из проб почвы, а высокие концентрации этих веществ

снижают эффективность связывания ДНК [27]. Известно, что в почвах с высоким содержанием органического вещества происходит ослабление взаимосвязи между двухцепочечной ДНК и микробным углеродом, при этом молекулы ДНК имеют схожие физико-химические свойства с гуминовыми веществами и могут быть ингибитором ферментативных реакций [19, 53]. Вероятно, по этой причине значения C-ДНК в верхних горизонтах оказались заниженными, и не сопоставимыми с тремя другими методами.

В отношении высотного градиента углерод микробной биомассы, оцененный методом дцДНК, достоверно уменьшался с высотой в почвах на склонах южной экспозиции ($F = 8.89$, $p = 0.002$). Были обнаружены значимые различия на склонах

южной и северной экспозиции ключевого участка Сирх-2 ($F = 14.12$, $p = 0.001$).

Методы оценки микробной биомассы по субстрат-индуцированному дыханию и по содержанию фосфолипидов продемонстрировали схожие результаты для верхней части почвенного профиля, однако данные С–СИД для нижних горизонтов были существенно ниже по сравнению с данными С–ФЛ. Вероятно, это было связано с тем, что метод СИД учитывает респираторный отклик микроорганизмов, способных быстро ассимилировать легкодоступные источники углеводов, в данном случае – глюкозы. Однако в почве могут быть другие группы микроорганизмов, которые не потребляют глюкозу и для которых более предпочтительны другие субстраты [3]. Известно, что в почве присутствуют пулы активных, потенциально активных и покоящихся микроорганизмов. В нижней части почвенного профиля, где доступность источников углеводов ограничена, значительная часть клеток находится в покоящемся состоянии и не дает респираторного отклика на внесение легкодоступных субстратов, что занижает действительные значения микробной биомассы [29].

Уменьшение микробной биомассы С–СИД вдоль высотного градиента, было недостоверным, кроме склонов северной экспозиции ($F = 4.47$, $p = 0.01$). Не было обнаружено и достоверных различий между почвами северной и южной экспозицией склонов ни на одном из изучаемых объектов. Однако величина микробной биомассы С–ФЛ достоверно уменьшалась с высотой на склонах северной ($F = 6.12$, $p = 0.005$) и южной экспозиции ($F = 4.36$, $p = 0.02$). Кроме того, были обнаружены и достоверные различия в величине микробной биомассы на склонах северной и южной экспозиции ключевого участка Гумбаши ($F = 4.88$, $p = 0.03$). Не выявлено достоверного влияния высотного градиента и склоновой позиции на микробную биомассу, определенную биокинетическим методом.

Существуют разные представления об изменении величины микробной биомассы в горных почвах с увеличением абсолютной высоты. Так, оценка микробной биомассы в высотном градиенте методами прямого счета и по выделению CO_2 из почвы показала уменьшение микробной биомассы с увеличением высоты, связанное с уменьшением температуры [48]. Изучение содержания углерода микробной биомассы в высотном градиенте чашечным методом, методом прямого счета и фосфолипидного анализа жирных кислот показало аналогичные закономерности [45]. Данные, полученные методом С–СИД, также подтверждают эти закономерности. Однако в некоторых публикациях была показана обратная тенденция – к увеличению микробной биомассы в альпийской зоне относительно субальпийской, оцененная методами фумигации–экстракции и анализа состава

фосфолипидов и жирных кислот [32, 51]. В настоящем исследовании такую закономерность показывают результаты анализа микробной биомассы фосфолипидным методом в почвах на склонах южной экспозиции. Однако, тот же метод в почвах склонов северной экспозиции не выявил подобной закономерности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование микробной биомассы в органо-аккумулятивных почвах Центрального Кавказа методами субстрат-индуцированного дыхания, определения концентрации фосфолипидов и дцДНК, а также биокинетическим методом показало, что выбор наиболее подходящего метода будет определяется исходными физико-химическими свойствами почв и климатическими условиями региона исследования. Выявленные закономерности варьирования почвенной микробной биомассы, определенной четырьмя методами, различались в высотном градиенте и в зависимости от экспозиции склона.

Преимуществом оценки микробной биомассы биокинетическим методом, благодаря длительной и непрерывной инкубации почвенных образцов, является его способность учитывать биомассу медленно растущих грибных сообществ, доля которых увеличивается с увеличением абсолютной высоты. В исследование методами С–СИД, С–ФЛ и С–ДНК были получены заниженные значения $S_{\text{мик}}$ в верхних горизонтах почв альпийской зоны, на что указывает и невысокая доля микробного углерода от органического, полученная этими тремя методами.

Методом СИД были получены достоверные значения в верхних горизонтах субальпийской зоны, развитых под мощным растительным покровом, с хорошо развитой дерниной, что в свою очередь обуславливает высокую доступность лабильных субстратов и адаптацию микробного сообщества к быстрому респираторному ответу на внесение глюкозы в момент определения микробной биомассы.

В целом аналогичные величины были найдены методом выделения фосфолипидов из почвы. Однако в нижних горизонтах почв значение $S_{\text{мик}}$, полученные этим методом, как правило, были выше. Это связано с тем, что фосфолипидный метод способен определять не только пулы активных микроорганизмов, но также потенциально активные и покоящиеся микроорганизмы, доля которых в нижних горизонтах, где доступность источников углерода ограничена, ожидаемо выше.

Полученные результаты определения $S_{\text{мик}}$ методом выделения дцДНК подтвердили известные ограничения применения этого метода в почвах с высоким содержанием органического вещества. Для верхних горизонтов органо-аккумулятивных

почв Центрального Кавказа этот метод не информативен и занижает значения микробной биомассы, так как происходит ослабление взаимосвязи концентрации дцДНК и микробного углерода, за счет уменьшения эффективности связывания ДНК из-за присутствия гумусовых веществ.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы выражают признательность сотруднице лаборатории почвенных циклов углерода и азота ИФХиБПП РАН доценту, к.б.н. Т.В. Кузнецовой за помощь и консультирование в проведении биокинетического метода определения микробной биомассы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование осуществлено в рамках выполнения государственного задания № 122040500036-9.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ананьева Н.Д., Благодатская Е.В., Орлинский Д.Б., Мякшина Т.Н. Методические аспекты определения скорости субстрат-индуцированного дыхания почвенных микроорганизмов // Почвоведение. 1993. № 11. С. 72–77.
2. Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. М.: Изд. МГУ, 1970. 490 с.
3. Благодатский С.А., Благодатская Е.В., Горбенко А.Ю., Паников Н.С. Регидратационный метод определения биомассы микроорганизмов в почве // Почвоведение. 1987. № 4. С. 64–71.
4. Владыченский А.С., Розанов Б.Г. Особенности гумусообразования и гумусного состояния горных почв // Почвоведение. 1986. № 3. С. 73–80.
5. Воробьева Л.А. Химический анализ почв. М.: Изд-во МГУ, 1998. 272 с.
6. Галушко А. И. Флора Северного Кавказа. Ростов-на-Дону: Изд-во Рост. ун-та, 1980. Т. 2. 352 с.
7. Дзыбов Д.С. Флора и растительность Карачаево-Черкесии. Ставрополь: Астра-М, 2013. 424 с.
8. Добровольская Т.Г., Звягинцев Д.Г., Чернов И.Ю., Головченко А.В., Зенова Г.М., Лысак Л.В., Манучарова Н.А., Марфенина О.Е., Полянская Л.М., Степанов А.Л., Умаров М.М. Роль микроорганизмов в экологических функциях почв // Почвоведение. 2015. № 9. С. 1087–1096. <https://doi.org/10.7868/S0032180X15090038>
9. Единый государственный реестр почвенных ресурсов России. Версия 1.0. М.: Почв. ин-т им. В. В. Докучаева, 2014. 768 с.
10. Евдокимов И.В. Методы определения биомассы почвенных микроорганизмов // Russ. J. Ecosystem Ecology. 2018. № 3. <https://doi.org/10.21685/2500-0578-2018-3-5>
11. Лурье П.М., Крохмаль А.Г., Панов В.Д., Панова С.В., Тамов М.Ч. Карачаево-Черкессия: климатические условия. Ростов-на-Дону: Изд-во Рост. ун-та, 2000. 196 с.
12. Молчанов Э.Н. Формирование горно-луговых черноземовидных почв высокогорий Северного Кавказа // Почвоведение. 2008. № 12. С. 1438–1452.
13. Молчанов Э.Н. Горно-луговые почвы высокогорий Западного Кавказа // Почвоведение. 2010. № 12. С. 1433–1448.
14. Михайловская О.Н. К вопросу о генезисе высокогорных почв // Тр. Почв. Ин-та им. В.В. Докучаева. 1936. Т. 13. С. 315–366.
15. Паников Н.С. Кинетика роста микроорганизмов. М.: Наука, 1992. 311 с.
16. Почвы Кабардино-Балкарской АССР и рекомендации по их использованию. Нальчик, 1984. 201 с.
17. Практикум по почвоведению / Под ред. Кауричева И.С. М.: Колос, 1973. 279 с.
18. Ромашкевич А.И. Горное почвообразование и геоморфологические процессы. М.: Наука, 1988. 150 с.
19. Семенов М.В. Метабаркодинг и метагеномика в почвенно-экологических исследованиях: успехи, проблемы и возможности // Журнал общей биологии. 2019. № 80. Т. 6. С. 403–417. <https://doi.org/10.1134/S2079086421010084>
20. Семенов В.М., Кравченко И.К., Иванникова Л.А., Кузнецова Т.В., Семенова Н.А., Гисперт М., Пардини Д. Экспериментальное определение активного органического вещества в некоторых почвах природных и сельскохозяйственных экосистем // Почвоведение. 2006. № 3. С. 282–292.
21. Фиатиев Б.Х. Высокогорные почвы центральной части Северного Кавказа. Нальчик: Изд-во КБС-ХА, 1996. 137 с.
22. Фиатиев Б.Х., Федорова С.И. О составе органического вещества высокогорных почв Северного Кавказа // Научные основы рационального использования почв Северного Кавказа и пути повышения их плодородия. Нальчик, 1971. С. 114–121.
23. Фридланд В.М. Основные принципы и элементы базовой классификации почв мира и программа работ по ее созданию // Проблемы географии

- генезиса и классификации почв. М.: Наука, 1986. 244 с.
24. Хомутова Т.Э., Демкин В.А. Оценка биомассы микробных сообществ почв сухих степей по содержанию в них фосфолипидов // Почвоведение. 2011. № 6. С. 748–754.
 25. Anderson J.P.E., Domsch K.H. Physiological method for quantitative measurement of microbial biomass in soils // Soil Biol. Biochem. 1978. V. 10. P. 215–221. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(78\)90099-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(78)90099-8)
 26. Anderson T.-H., Martens R. DNA determinations during growth of soil microbial biomasses // Soil Biol. Biochem. 2013. V. 57. P. 487–495. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.09.031>
 27. Bachoon D.S., Otero E., Hodson R.E. Effects of humic substances on fluorometric DNA quantification and DNA hybridization // J. Microbiol. Methods. 2001. V. 47. P. 73–82. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(01\)00296-2](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(01)00296-2)
 28. Blagodatskaya E.V., Blagodatskii S.A., Anderson T.-H. Quantitative isolation of microbial DNA from different types of soils of natural and agricultural ecosystems // Microbiology. 2003. V. 72. P. 744–749. <https://doi.org/10.1023/B:MICL.0000008379.63620.7b>
 29. Blagodatskaya E., Kuzyakov Y. Active microorganisms in soil: critical review of estimation criteria and approaches // Soil Biol. Biochem. 2013. V. 67. P. 192–211. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.08.024>
 30. Brookes P. The soil microbial biomass: concept, measurement and applications in soil ecosystem research // Microbes and Environments. 2001. V. 16. P. 131–140. <https://doi.org/10.1264/jsme2.2001.131>
 31. Dalal R.C. Soil microbial biomass – what do the numbers really mean? // Aust. J. Exp. Agric. 1998. V. 38. № 7. P. 649–665. <https://doi.org/10.1071/EA97142>
 32. Djukic I., Zehetner F., Mentler A., Gerzabek M.H. Microbial community composition and activity in different Alpine vegetation zones // Soil Biol. Biochem. 2010. V. 42. P. 155–161. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.006>
 33. Findlay R. The use of phospholipid fatty acids to determine microbial community structure // Molecular Microbial Ecology Manual. 1996. V. 4. P. 1–17. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-0215-2>
 34. Frederic L.H. Elementary analysis and the origins of physiological chemistry // Isis. 1963. V. 54. P. 50–81. <https://doi.org/10.1086/349664>
 35. Gong H., Du Q., Xie S., Hu W., Akram M.A., Hou Q., Dong L., Sun Y., Manan A., Deng Y., Ran J., Deng J. Soil microbial DNA concentration is a powerful indicator for estimating soil microbial biomass C and N across arid and semi-arid regions in northern China // Appl. Soil Ecol. 2021. V. 160. P. 103863. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103869>
 36. Hart S.C. Potential impacts of climate change on nitrogen transformations and greenhouse gas fluxes in forests: a soil transfer study // Global Change Biol. 2006. V. 12. P. 1032–1046. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01159.x>
 37. Joergensen R.G., Emmerling C. Methods for evaluating human impact on soil microorganisms based on their activity, biomass, and diversity in agricultural soils // J. Plant Nutr. Soil Sci. 2006. V. 169. P. 295–309. <https://doi.org/10.1002/jpln.200521941>
 38. Joergensen R.G. Phospholipid fatty acids in soil – drawbacks and future prospects // Biol. Fertil. Soils. 2022. V. 58. P. 1–6. <https://doi.org/10.1007/s00374-021-01613-w>
 39. Kaiser E.A., Mueller T., Joergensen R.G., Insam H., Heinemeyer O. Evaluation of methods to estimate the soil microbial biomass and the relationship with soil texture and organic matter // Soil Biol. Biochem. 1992. V. 24. P. 675–683. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(92\)90046-Z](https://doi.org/10.1016/0038-0717(92)90046-Z)
 40. Leckie S.E., Prescott C.E., Grayston S.J., Neufeld J.D., Mohn W.W. Comparison of chloroform fumigation-extraction, phospholipid fatty acid, and DNA methods to determine microbial biomass in forest humus // Soil Biol. Biochem. 2004. V. 36. P. 529–532. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2003.10.014>
 41. Levy-Booth D.J., Campbell R.G., Gulden R.H., Hart M.M., Powell J.R., Klironomos J. N., Pauls K.P., Swanton C.J., Trevors J.T., Dunfield K.E. Cycling of extracellular DNA in the soil environment // Soil Biol. Biochem. 2007. V. 39. P. 2977–2991. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.06.020>
 42. Li W., Yang G., Chen H., Tian J., Zhang Y., Zhu Q., Peng C., Yang J. Soil available nitrogen, dissolved organic carbon and microbial biomass content along altitudinal gradient of the eastern slope of Gongga Mountain // Acta Ecologica Sinica. 2013. V. 33. P. 266–271. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2013.07.006>
 43. Lloyd-Jones G., Hunter D.W.F. Comparison of rapid DNA extraction methods applied to contrasting New Zealand soils // Soil Biol. Biochem. 2001. V. 33. P. 2053–2059. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(01\)00133-X](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(01)00133-X)
 44. Lorenz M.G., Wackernagel W. Adsorption of DNA to sand and variable degradation rates of adsorbed DNA // Appl. Environ. Microbiol. 1987. V. 53. P. 2948–2952. <https://doi.org/10.1128/2Faem.53.12.2948-2952.1987>
 45. Margesin R., Jud M., Tschierko D., Schinner F. Microbial communities and activities in alpine and subalpine soils // FEMS Microbiol. Ecol. 2009. V. 67(2). P. 208–218. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00620.x>
 46. Marinari S., Mancinelli R., Campiglia E., Grego S. Chemical and biological indicators of soil quality in organic and conventional farming systems in

- Central Italy // *Ecol. Indic.* 2006. V. 6. P. 701–711.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2005.08.029>
47. *Marstorp H., Witter E.* Extractable dsDNA and product formation as measures of microbial growth in soil upon substrate addition // *Soil Biol. Biochem.* 1999. V. 31. P. 1443–1453.
[https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00065-6](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00065-6)
 48. *Schinner F.* Soil microbial activities and litter decomposition related to altitude // *Plant Soil.* 1982. V. 65. P. 87–94.
 49. *Semenov M., Blagodatskaya E., Stepanov A., Kuzyakov Ya.* DNA-based determination of soil microbial biomass in alkaline and carbonaceous soils of semi-arid climate // *J. Arid. Environ.* 2018. V. 150. P. 54–61.
<https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2017.11.013>
 50. *Wardle D.A.* Controls of temporal variability of the soil microbial biomass: a global-scale synthesis // *Soil Biol. Biochem.* 1998. V. 30. P. 1627–1637.
[https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(97\)00201-0](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(97)00201-0)
 51. *Wang M., Qu L., Ma K., Yuan X.* Soil microbial properties under different vegetation types on Mountain Han // *Sci. China Life Sci.* 2013. V. 56. P. 561–570.
<https://doi.org/10.1007/s11427-013-4486-0>
 52. *Willers C., Jansen van Rensburg P.J., Claassens S.* Phospholipid fatty acid profiling of microbial communities – a review of interpretations and recent applications // *J. Appl. Microbiol.* 2015. V. 119. P. 1207–1218.
<https://doi.org/10.1111/jam.12902>
 53. *Wilson I.G.* Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification // *Appl. Environ. Microbiol.* 1997. V. 63. № 10. P. 3741–3751.
<https://doi.org/10.1128/aem.63.10.3741-3751.1997>
 54. *Zhang Y., Zheng N., Wang J., Yao H., Qiu Q., Chapman S.J.* High turnover rate of free phospholipids in soil confirms the classic hypothesis of PLFA methodology // *Soil Biol. Biochem.* 2019. V. 135. P. 323–330.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.05.023>

Comparison of Methods for Determination of Microbial Biomass in Organic-Accumulative Soils of the Mountain Zone in the Central Caucasus

A. A. Petrosyan^{1,*}, E. V. Chernysheva¹, V. N. Pinsky¹, and A. V. Borisov¹

¹*Institute of Physicochemical and Biological Problems of Soil Science of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow region, 142290 Russia*

*e-mail: Alisa_Mayakovskaya@bk.ru

The microbial community plays an important role in biogeochemical processes in soil. There are many methods for studying microbial biomass, however, the question arises about the most informative and suitable method for high-mountain soils. The objects of study were organic-accumulative soils (Umbrisols) of north and south facing slopes in the subalpine and alpine zones at altitudes of 1960, 2600 and 2940 m above sea level. Soil samples were taken on slopes of northern and southern exposure. Four methods for estimating the carbon of microbial biomass were used in this work: the method of determining phospholipid fatty acids in soil (PLFA), the method of substrate-induced respiration (C-SIR), the method of extracting double-stranded DNA (dsDNA) from soil (C-DNA) and the biokinetic method (S-BK). When comparing four methods for assessing the carbon of microbial biomass, it was shown that the C-DNA method in organic-accumulative soils in the mountain zone underestimated results in the upper horizons, which were not comparable with the other three methods. This is due to known limitations in extraction of dsDNA from organic soils, which weakens the relationship between dsDNA and microbial carbon. The C-SIR method for studying microbial biomass showed similar values to the PLFA method, but the values in the lower horizons were underestimated. The microbial biomass determined by the biokinetic method in the soils of the alpine zone was several times higher than that determined by other methods, due to the predominance of fungal communities in the subalpine and alpine zones. A more accurate values of microbial biomass in the upper part of the soil profile is provided by the biokinetic method, while in the lower part of the profile more adequate estimates are obtained by the PLFA method.

Keywords: dsDNA, phospholipid fatty acids, substrate-induced respiration, biokinetic method