DOI 10.33952/2542-0720-2019-3-19-94-105
УДК 631.461:579.64

Мельничук Т. Н.[1], Еговцева А. Ю.[1], Абдурашитов С. Ф. [1], Андронов Е. Е. [2], Абдурашитова Э. Р.[1], Радченко А. Ф. [1], Ганоцкая Т. Л. [1], Радченко Л. А. [1]

МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА РИЗОСФЕРЫ *TRITICUM AESTIVUM* L. ЧЕРНОЗЕМОВ ЮЖНОГО И ВЫЩЕЛОЧЕННОГО

[1]ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»,
[2]ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии»

Реферат. *Рациональное использование природного потенциала экосистем обеспечивает их сохранность и позволяет получать качественную продукцию с минимальными затратами. Направленность происходящих в ризосфере процессов играет важную роль в реализации продуктивного потенциала растений и зависит от состава и активности микробиоты. Цель исследований – изучить эколого-трофические группы и таксономическую структуру микроорганизмов ризосферы пшеницы мягкой различных сортов, выращенных на черноземах южном и выщелоченном. Исследования ризосферы пшеницы озимой Triticum aestivum L. проводили в 2018–2019 гг. на трех сортах – Алексеич, Безостая 100, Гром. Климат районов исследований в Крыму характеризуется как засушливый (степь) и полузасушливый (предгорье), Краснодарского края – умеренно-континентальный, умеренно-засушливый. В работе использовали полевые, микробиологические, генетические, таксономические, статистические методы исследования. Установлено, что в изменяющихся условиях выращивания растений T. aestivum происходят изменения численности микроорганизмов различных эколого-трофических групп ризосферы. Озимую пшеницу выращивали на черноземе южном предгорной зоны (с. Крымская роза) и степи Крыма (с. Клепинино), а также на черноземе выщелоченном Краснодарского края. Предшественник – черный пар. Отборы проб осуществляли в фазе трубкования. В условиях чернозема выщелоченного Краснодарского края максимальные показатели численности амилолитических и азотфиксирующих микроорганизмов, актиномицетов и азотобактера в ризосфере среди исследуемых сортов отмечены у сорта Алексеич. У этого же сорта отмечена наибольшая масса сухого побега, показатель которой выше на 0,6 г (50 %), чем у других изучаемых сортов. Изменение условий выращивания пшеницы озимой на черноземе южном предгорной зоны Крыма способствовало превышению показателей численности амилолитиков, азотобактера и целлюлозолитиков у сорта Безостая 100. Биомасса сухого побега была на уровне сорта Алексеич и выше на 0,1 г (33 %), чем у сорта Гром. Метагеномный анализ ризосферы T. aestivum показал наличие представителей семи доминирующих (доля выше 1 %) фил: археи Thaumarchaeota и бактерии Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria и Verrucomicrobia. Влияние почвенно-климатических условий выращивания пшеницы было более существенным, чем влияние сорта, на представленность доминирующих фил. Филы, обладающие меньшей долей (до 1 %), больше реагировали на сортовое разнообразие. В условиях чернозема выщелоченного доля Chloroflexi у сорта Гром в пять–шесть раз была больше, чем у других сортов, доля Gemmatimonadetes у сорта Безостая 100 – в 3,3 раза больше, чем у сорта Гром и в 28,0 раз больше, чем у сорта Алексеич.*

Ключевые слова: *эколого-трофические группы микроорганизмов, таксономическая структура микробиома, ризосфера, Triticum aestivum L., чернозем южный, чернозем выщелоченный.*

Введение

Перед сельским хозяйством поставлена задача обеспечить население качественными продуктами питания, способствующими нормальному интеллектуальному и физическому развитию человека. Применение экологически целесообразных агротехнологий увеличивает количество и улучшает качество продукции благодаря рациональному использованию природного потенциала экосистем, что обеспечивает их сохранность и позволяет получать дополнительные выгоды с минимальными затратами [1]. Это является важной задачей и для пшеницы озимой, занимающей лидирующие позиции в южных регионах выращивания среди зерновых культур.

Направленность происходящих в ризосфере процессов играет важную роль в реализации продуктивного потенциала растений и зависит от состава и активности микробиоты. Микроорганизмы участвуют в трансформации различных веществ, обеспечивая их круговорот в природе и таким образом повышая доступность питательных элементов для растений [2, 3]. Они – важные звенья в функционировании системы «почва-растение-микроорганизмы» и способствуют поддержанию её устойчивости. Состояние микробоценоза, численность микроорганизмов и их ферментативная активность дают возможность оценить изменения условий окружающей среды и происходящих в экосистемах процессов [4, 5]. Многие таксономические группы также являются индикаторами состояния почв [6, 7].

Цель исследований – изучение эколого-трофических групп и таксономической структуры микроорганизмов ризосферы пшеницы мягкой различных сортов, выращенных на черноземах южном и выщелоченном.

Материалы и методы исследований

Исследования ризосферы пшеницы озимой *Triticum aestivum* L. проводили в 2018–2019 гг. на трех сортах. Сорт Алексеич – полукарликовый, высокоустойчив к полеганию, обладает устойчивостью к болезням и климатическим условиям, к воздушной и почвенной засухе, морозостойкостью – выше средней. Сорт Безостая 100 – среднерослый, устойчив к полеганию, среднеранний, устойчив ко многим болезням, характеризуется повышенной морозостойкостью, засухоустойчив и жаростоек. Сорт Гром – полукарликовый, устойчив к полеганию и осыпанию, среднеспелый, менее устойчив среди исследуемых сортов к болезням, морозостойкость повышенная, засухоустойчивость – выше среднего уровня.

Отборы растений проводили в фазе трубкования пшеницы озимой, выращенной после черного пара в черноземе (Chernozems) южном предгорной зоны (с. Крымская роза) и степи Крыма (с. Клепинино), а также в черноземе выщелоченном Краснодарского края.

Чернозем южный степной зоны Крыма слабо гумусированный, развит на четвертичных желто-бурых лессовидных легких глинах. Мощность гумусового горизонта составляет 24–36 см, всего – 57–70 см. Содержание гумуса в пахотном горизонте составляет 2,4–2,7 %. В 100 г абсолютно сухой почвы пахотного слоя содержится 5,2 мг легкогидролизуемого азота, 1,0–2,5 мг фосфора, 42 мг калия. Реакция почвенного раствора в верхнем горизонте слабощелочная (pH = 7,7–7,9).

Климат степи – засушливый, гидротермический коэффициент (ГТК) составляет 0,7, умеренно жаркий, с умеренно мягкой зимой. Среднегодовая температура воздуха – +9,7–10,5 °С. Вегетационная оттепель возможна в 35 % зим. Период без заморозков – 171 день. Сумма температур выше +10 °С достигает 3280 °С. Годовая сумма осадков – 435 мм, из них в период активной вегетации выпадает 285 мм. Годовая испаряемость – 843 мм. Количество дней с суховеями – 10–19. Вероятность засух для большей части территории составляет 40–50 % лет [8].

Почва предгорной зоны Крыма – южный тяжелосуглинистый карбонатный чернозем, типичный для зоны (pH – 7,0–7,2, содержание гумуса в пахотном слое –

2,7–3,0 %, общего азота – 0,12 %, общего фосфора – 0,10 %, калия – 1,0 %; суммы поглощенных оснований – 27–32 мг/100 г абсолютно сухой почвы). Мощность гумусового горизонта достигает 35–60 см. Полузасушливый климат предгорной зоны – теплый, с умеренно теплой и мягкой зимой, ГТК составляет 0,89. Средняя годовая температура воздуха +9,8–8,5 °С. Годовая сумма осадков – 505 мм, испаряемость – 830 мм. Холодный период длится около 66 дней – с 25 декабря по первое марта. Вегетационная оттепель характерна для 35–45 % зим. На территории региона засухи бывают редко [8].

Почва произрастания отобранных растительных проб Краснодарского края – чернозём выщелоченный слабогумусный сверхмощный тяжелосуглинистый. Пахотный слой (0–20 см) характеризуется близкой к нейтральной реакцией почвенного раствора (pH = 5,75–5,90), низким содержанием гумуса (3,39–3,46 %), средним – подвижного фосфора (26,8–27,3 мг/кг), высоким – обменного калия (438–453 мг/кг), низким – подвижной серы (1,9–2,1 мг/кг). Климат зоны – умеренно-континентальный, умеренно-засушливый. По многолетним данным среднегодовое количество осадков составляет 600–700 мм со значительным варьированием от 351 до 882 мм. Распределение их по месяцам неравномерное. Гидротермический коэффициент составляет 0,8–1,1. Начало осени характеризуется тёплой, сухой погодой. Во второй половине октября преобладают обильные осадки. В середине ноября обычно происходит устойчивый переход температуры воздуха через 5 °С, прекращается вегетация озимых культур. Зима (переход среднесуточной температуры через 0 °С) – умеренно мягкая, среднемесячная температура января находится в пределах 1,5–2,0 °С, но нередки морозы до –20–25 °С, минимальная температура опускается до –34 °С. Характерной особенностью зимы является неустойчивость температурного режима и снежного покрова. Весной наблюдается варьирование температур от минусовых к плюсовым, что отрицательно влияет на состояние озимых. Безморозный период начинается со второй декады апреля [9].

Численность почвенных микроорганизмов основных эколого-трофических групп (аммонифицирующих и амилолитических бактерий, азотфиксаторов, микромицетов, целлюлозолитиков, актиномицетов, олиготрофов и педотрофов) ризосферы пшеницы озимой, выраженное в колониеобразующих единицах (КОЕ) на г абсолютно сухой почвы, определяли по общепринятым методикам [10, 11], а также индекс олиготрофности, коэффициенты минерализации, олигонитрофильности и педотрофности согласно [12, 13]. Обработку полученных результатов проводили статистическими методами [14]. Используя полученные данные, проводили кластерный и факторный анализы влияния почвенно-климатических условий и сортов растений на микробоценоз ризосферы [15].

В процессе исследований применяли современные подходы изучения структуры ризосферного микробиома с использованием высокопроизводительного секвенирования библиотек гена 16S рРНК (таксономический анализ). Для этого выделяли тотальную ДНК из почвенных образцов с помощью набора PowerSoil DNA Isolation Kit (Qiagen, Германия), на приборе Vortex Genee–2 (Mo-bio, США) по протоколу производителя. Очистку ДНК проводили методом электофореза с последующей экстракцией из агарозного геля [16]. Очищенные препараты ДНК использовали для создания библиотек маркерного гена 16S рРНК методом ПЦР с применением универсальных праймеров на вариабельный участок V4: F515/R806 (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA/GGACTACVSGGGTATCTAAT) [17], а также присоединением адаптеров и уникальных баркодов компании «Illumina». Последующую подготовку библиотек и секвенирование осуществляли в соответствии с рекомендациями производителя на платформе «Illumina MiSeq» («Illumina», США) с использованием набора реагентов MiSeq® ReagentKit v3 (600 cycle) с двусторонним чтением (2×300 н).

Первоначальную обработку полученных данных, а именно демультиплексирование образцов и удаление адаптеров, проводили по «Illumina» («Illumina», США). Для последующего деноизинга, объединения последовательностей, удаления химерных прочтений, восстановления исходных филотипов (ASV – Amplicon sequence variant) и дальнейшей таксономической классификации полученных ASV использовали программные пакеты dada2 [18], phyloseq [19] и DECIPHER [20], работу в которых осуществляли в программной среде R. Для представления данных таксономического анализа использовали средства программного пакета QIIME [21]. Использовали таксономический и статистический анализы в программных пакетах PAST 3 [22].

Результаты и их обсуждение

Чувствительным биоиндикатором экологического состояния почв могут быть изменения филогенетической структуры микробоценозов [23, 24]. Изучение микроорганизмов различных эколого-трофических групп показало, что их численность в ризосфере пшеницы *T. aestivum* изменяется в зависимости от сорта и почвенно-климатических условий выращивания (таблицы 1, 2).

Таблица 1 – Влияние сорта пшеницы озимой на численность микроорганизмов ризосферы, млн КОЕ/г почвы

Сорт	Микроорганизмы, трансформирующие преимущественно соединения азота		Олиготрофы	Педотрофы
	органические	минеральные		
Чернозем выщелоченный, Краснодарский край				
Безостая 100	8,9 ± 0,4	7,3 ± 0,2	2,3 ± 0,2	8,4 ± 0,2
Алексеич	6,6 ± 0,6	11,4 ± 0,2	2,1 ± 0,1	9,1 ± 0,3
Гром	5,8 ± 0,6	5,8 ± 0,2	2,2 ± 0,1	9,4 ± 0,2
Чернозем южный, степная зона Крыма				
Безостая 100	4,6 ± 0,5	3,9 ± 0,3	2,3 ± 0,2	4,7 ± 0,4
Алексеич	5,0 ± 0,2	3,4 ± 0,1	1,2 ± 0,0	2,3 ± 0,5
Гром	6,5 ± 0,3	3,9 ± 0,1	2,5 ± 0,2	7,6 ± 0,1
Чернозем южный, предгорная зона Крыма				
Безостая 100	5,0 ± 0,3	5,6 ± 0,4	1,9 ± 0,2	6,8 ± 0,5
Алексеич	2,4 ± 0,1	3,6 ± 0,1	1,3 ± 0,3	6,5 ± 0,4
Гром	4,9 ± 0,1	5,0 ± 0,3	2,2 ± 0,2	6,8 ± 0,4

Таблица 2 – Влияние сорта пшеницы озимой на численность микроорганизмов ризосферы

Сорт	Азотфиксаторы		Количество микроорганизмов, тыс. КОЕ /г почвы		
	всего, млн КОЕ/г почвы	азотобактер, %	актиномицеты	микромицеты	целлюлозолитики
Чернозем выщелоченный, Краснодарский край					
Безостая 100	7,7 ± 0,5	49,33 ± 5,81	0,6 ± 0,1	57,2 ± 1,9	13,4 ± 0,8
Алексеич	12,0 ± 0,3	92,00 ± 2,31	1,2 ± 0,1	46,5 ± 1,2	12,4 ± 0,8
Гром	6,8 ± 0,5	86,67 ± 3,53	0,6 ± 0,1	23,7 ± 1,1	14,2 ± 0,7
Чернозем южный, степная зона Крыма					
Безостая 100	5,3 ± 0,2	100,0 ± 0,0	0,4 ± 0,1	23,0 ± 2,3	13,1 ± 1,1
Алексеич	4,1 ± 0,1	97,33 ± 1,33	0,2 ± 0,0	17,1 ± 1,4	10,6 ± 1,1
Гром	5,1 ± 0,5	98,67 ± 1,33	0,1 ± 0,0	35,0 ± 1,8	22,0 ± 1,9
Чернозем южный, предгорная зона Крыма					
Безостая 100	4,4 ± 0,1	100,0 ± 0,0	0,4 ± 0,0	16,1 ± 2,9	25,0 ± 0,8
Алексеич	5,7 ± 0,5	97,33 ± 1,33	0,3 ± 0,1	31,6 ± 2,8	14,8 ± 1,7
Гром	7,1 ± 0,5	98,67 ± 1,33	0,5 ± 0,1	26,2 ± 1,1	10,5 ± 1,1

В условиях чернозема выщелоченного Краснодарского края максимальные показатели численности амилолитических и азотфиксирующих микроорганизмов, актиномицетов и азотобактера в ризосфере среди исследуемых сортов отмечены у сорта Алексеич. У этого же сорта оказалась наибольшей масса сухого побега, что

выше на 0,6 г (50 %), чем у других изучаемых сортов. Корреляционный анализ показал тесные связи между этими признаками в таких условиях, коэффициенты близки к 0,99. В этой системе, по результатам факторного анализа, большинство групп микроорганизмов выступали в качестве продуцентов веществ, способствующих формированию биомассы растений, роль деструкторов выполняли аммонификаторы, олиготрофы и целлюлозолитики.

Выращенный на черноземе южном степи сорт Алексеич сохранил лидерство по биомассе, но уступал по другим, ранее перечисленным показателям, как и по численности микромицетов и целлюлозолитических микроорганизмов. В этих условиях, согласно факторному анализу, в качестве признака-деструктора показаны олиготрофы, тогда как остальные – синтез-признаки, у которых коэффициенты биотрансформации варьировали от 0,05 (актиномицеты) до 14,82 (азотобактер).

Изменение условий выращивания пшеницы озимой на черноземе южном предгорной зоны Крыма способствовало превышению показателей численности амилолитиков, азотобактера и целлюлозолитиков у сорта Безостая 100. Биомасса сухого побега была на уровне сорта Алексеич и выше на 0,1 г (33 %), чем у сорта Гром. Следует отметить, что в изменяющихся условиях выращивания растений происходят изменения функциональной роли той или другой группы микроорганизмов ризосферы. Так, в черноземе южном предгорной зоны Крыма в ризосфере пшеницы в качестве деструкторов выступили аммонификаторы и микромицеты, функции других групп были направлены на синтез веществ, необходимых растению для наращивания биомассы.

Кластерный анализ показал, что по численности микроорганизмов основных эколого-трофических групп и развитию растений все три сорта, выращенные в условиях чернозема южного, независимо от зоны, составили одну группу (рисунок 1). Разрозненность сортов отмечена в черноземе выщелоченном.

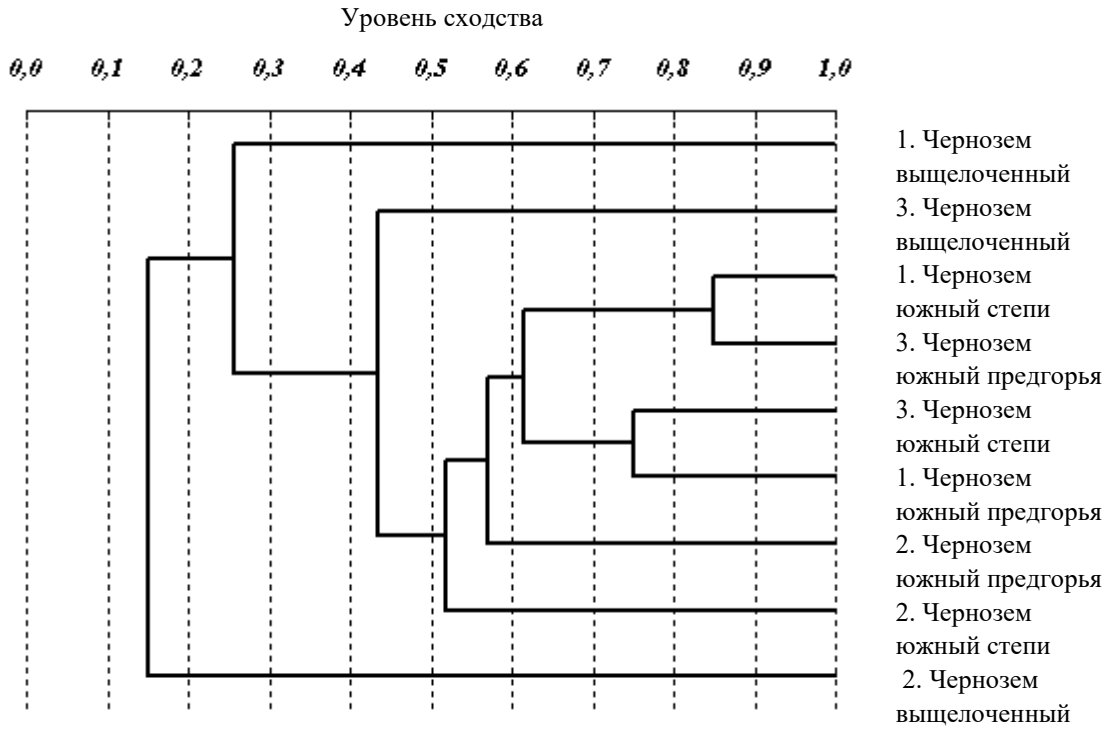

Рисунок 1 – Дендрограммы группировки вариантов опыта

Примечание. *1. Сорт Безостая 100; 2. Сорт Алексеич; 3. Сорт Гром (алгоритм построения – «Ближний сосед»).*

Метагеномный анализ ризосферы пшеницы показал наличие представителей 19 фил, относящихся к доменам «археи» и «бактерии». Значительную долю составляли неопределенные филотипы, показатели которой варьировали от 34,8 до 44,6 %, в зависимости от сорта и условий его произрастания (рисунок 2).

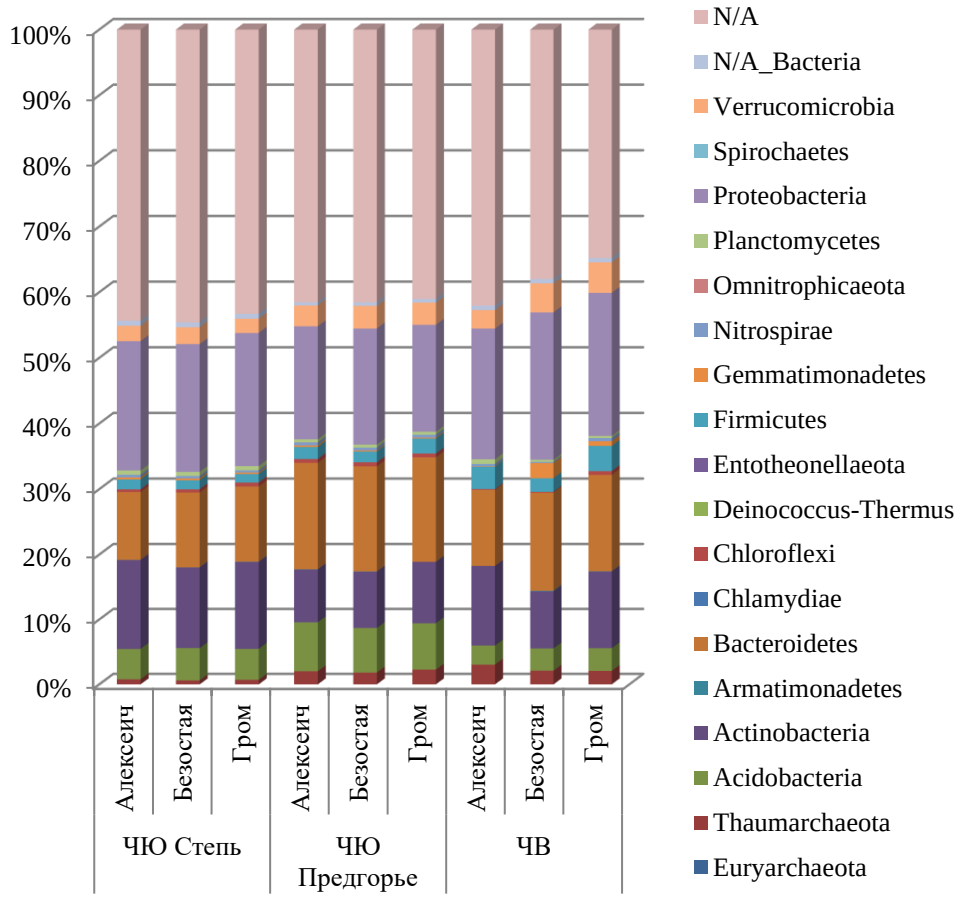

Рисунок 2 – Таксономическая структура (на уровне фил) микробиома ризосферы пшеницы, выращенной на черноземе южном (ЧЮ) и черноземе выщелоченном (ЧВ) (2018-2019 гг.)

Представленность архей филы *Thaumarchaeota* была более значительной, чем *Euryarchaeota* и позволила ей войти в состав доминирующих (доля выше 1 %) среди прокариот. Важно отметить, что в условиях чернозема южного в степной зоне Крыма их доля была ниже единицы по всем сортам (0,62–0,78), тогда как в предгорной зоне составила 1,83–2,27, а на черноземе выщелоченном в Краснодарском крае еще выше – 2,07–3,05. Минимальные значения отмечены у сорта Безостая 100. Общее количество доминирующих фил составило семь, куда вошли бактерии *Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria* и *Verrucomicrobia*. Влияние почвенно-климатических условий выращивания отразилось и на доле наиболее представительной среди всех фил *Proteobacteria.* В черноземе южном предгорной зоны она находилась в пределах 16,28–17,67; степи – 19,46–20,28; в черноземе выщелоченном – 19,90–22,43. У сорта Безостая 100 отмечены как минимальное (в условиях степи), так и максимальное (чернозема выщелоченного) значения доли протеобактерий. Условия чернозема южного предгорной зоны были наиболее благоприятны для представителей *Bacteroidetes*, их доля составила 15,97–16,28. Максимальный показатель отмечен у сорта Алексеич, как и минимальный (10,38) в зоне степи.

Сухой и теплый климат способствует увеличению доли филы *Actinobacteria* [6]. В степи, где гидротермический коэффициент наименьший среди исследуемых условий, фила обладала наибольшей представленностью (12,41–13,70). Фила *Acidobacteria*, напротив, имеет большую долю в почвах влажного климата. В черноземе южном предгорной зоны она была выше по всем сортам (6,86–7,55 %).

Индикатором почвенного плодородия могут выступать представители филы *Verrucomicrobia* [7]. В исследуемых нами образцах наиболее высокий процент этой филы отмечена в ризосфере сортов Безостая 100 и Гром, выращенных на черноземе выщелоченном (соответственно 4,43 и 4,64 %), который характеризуется повышенным содержанием гумуса.

Среди фил, играющих важную роль в поддержании стабильности ризосферных микробных сообществ, находится и *Firmicutes* [25], представители которой участвуют в разложении сложных органических веществ [26]. Представленность её в ризосфере пшеницы зависела от почвенно-климатических условий выращивания. Так, наибольшую долю *Firmicutes* составила в черноземе выщелоченном Краснодарского края (2,07–3,85 %), наименьшую – в черноземе южном степи (1,29–1,50 %).

Таким образом, проведенные исследования микробиома ризосферы *T. aestivum* подтвердили опубликованные данные о влиянии почвенных условий и сорта растений на изменения в составе микробных сообществ [27, 28]. Следует отметить, что влияние почвенно-климатических условий было более существенным, чем влияние сорта пшеницы, на представленность доминирующих фил и неопределенного домена. Филы, обладающие меньшей долей (до 1 %), больше реагировали на сортовое разнообразие. Доля *Chloroflexi* в пять–шесть раз у сорта Гром была больше, чем у других сортов в условиях чернозема выщелоченного. Представителей *Gemmatimonadetes* у сорта Безостая 100 в этих же условиях было больше в 3,3 раза, чем у сорта Гром и в 28,0 раз, чем у сорта Алексеич.

Выводы

Установлено, что в изменяющихся условиях выращивания растений *T. aestivum* происходят изменения численности микроорганизмов различных эколого-трофических групп ризосферы. В условиях чернозема выщелоченного Краснодарского края максимальные показатели численности амилолитических и азотфиксирующих микроорганизмов, актиномицетов и азотобактера в ризосфере среди исследуемых сортов отмечены у сорта Алексеич, как и масса сухого побега, что выше на 0,6 г (50 %), чем у сортов Гром и Безостая 100. Изменение условий выращивания пшеницы озимой на чернозем южный предгорной зоны способствовало превышению показателей численности амилолитиков, азотобактера и целлюлозолитиков у сорта Безостая 100. Биомасса сухого побега была на уровне сорта Алексеич и выше на 0,1 г (33 %), чем у сорта Гром.

Метагеномный анализ ризосферы пшеницы показал наличие представителей 19 фил, относящихся к доменам археи и бактерии. Значительную долю составлял неопределенный домен, показатели которого варьировали от 34,8 до 44,6 %, в зависимости от сорта и условий его произрастания. Отмечено семь доминирующих (доля выше 1 %) фил, куда вошли археи *Thaumarchaeota* и бактерии *Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria* и *Verrucomicrobia*. Проведенные исследования микробиома ризосферы *T. aestivum* показали, что влияние почвенно-климатических условий было более существенным, чем влияние сорта пшеницы, на представленность доминирующих фил. Филы, обладающие меньшей долей (до 1 %), больше реагировали на сортовое разнообразие. В условиях чернозема обыкновенного доля *Chloroflexi* у сорта Гром в пять–шесть раз была

больше, чем у других сортов, доля *Gemmatimonadetes* у сорта Безостая 100 – в 3,3 раза больше, чем у сорта Гром и в 28,0 раз больше, чем у сорта Алексеич.

Работа выполнена в рамках государственного задания фундаментальных исследований № 0834-2019-0005 и при поддержке гранта РФФИ А18-016-00197.

Литература

1. Науметов Р. В. Сабитов М. М. Способы формирования агроценозов яровой пшеницы в различных типах агроландшафта // Современный ученый. 2017. № 5. С. 26–33.
2. Турусов В. И. Чевердин Ю. И., Титова Т. В., Беспалов В. А., Сапрыкин С. В., Гармашова Л. В., Чевердин А. Ю. Взаимосвязь микробиологических параметров и физических свойств черноземных почв //Агрохимия. 2017. № 11. С. 3–12.
3. Семенов М. В., Манучарова Н. А., Краснов Г. С., Никитин Д. А., Степанов А. Л. Биомасса и таксономическая структура микробных сообществ в почвах правобережья р. Оки // Почвоведение. 2019. № 8. С. 974–985.
4. Орлова О. В., Чирак Е. Л., Воробьев Н. И., Свиридова О. В., Лисина Т. О., Андронов Е. Е. Таксономический состав и организация микробного сообщества дерново-подзолистых почв при внесении соломы зерновых культур и использовании препарата Баркон // Сельскохозяйственная биология. 2019. Т. 54. № 1. С. 47–64.
5. 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.
6. Основные достижения и перспективы почвенной метагеномики // под ред. Першина Е. В., Кутовой О. В., Когут Б. М., Андронова Е. Е. Санкт-Петербург: Информ-Навигатор, 2017. 288 с.
7. Navarrete A. A., Soares T., Rossetto R., Antonie van Veen J., Tsai S. M., Kuramae E. E. Verrucomicrobial community structure and abundance as indicators for changes in chemical factors linked to soil fertility // Antonie van Leeuwenhoek. 2015. No. 108. P. 741–752. DOI: 10.1007/s10482-015-0530-3.
8. Паштецкий В. С. Научные основы оптимизации агроландшафтов и эффективного аграрного производства Республики Крым. Симферополь: ИТ «Ариал», 2015. 276 с.
9. Белюченко И. С. Экология Краснодарского края (Региональная экология). Краснодар: ФГОУ ВПО «Кубанский ГАУ», 2010. 356 с.
10. Теппер Е. З., Шильникова В. К., Переверзева Г. И. Практикум по микробиологии. М.: Дрофа, 2005. 254 с.
11. Експериментальна ґрунтова мікробіологія: монографія // наук. ред. Волкогон В. В. Київ: Аграрна наука, 2010. 464 с.
12. Андріюк К. І., Іутинська Г. О., Антипчук А.Ф., Валагурова О. В., Козирицька В. Є. Функціонування мікробних угруповань грунту в умовах антропогенного навантаження. К.: Обереги, 2001. 239 с.
13. Титова В. И., Козлов А. В. Методы оценки функционирования микробоценоза почвы, участвующего в трансформации органического вещества. Нижний Новгород: Нижегородская сельскохозяйственная академия, 2012. 64 с.
14. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). Пятое издание, переработанное и дополненное. М.: Альянс, 2014. 351 с.
15. Воробьев Н. И., Свиридова О. В., Кутузова Р. С. Методические рекомендации по использованию граф-анализа в исследованиях систем, состоящих из биотических и абиотических компонентов. Санкт-Петербург: ГНУ ВНИИСХМ, 2006. 58 с.
16. Андронов Е. Е., Пинаев А. Г., Першина Е. В. Выделение ДНК из образцов почвы. Санкт-Петербург: ПК «Объединение Вента», 2011. 27 с.
17. Bates S. T., Berg-Lyons J. G., Caporaso W. A., Walters W. A., Knight R., Fierer N. Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soil // ISME J. 2010. No. 5. P. 908–917.
18. Callahan B. J., McMurdie P. J., Rosen M. J., Han A. W., Johnson A. J. A., Holmes S. P. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data // Nature Methods. 2016. No. 13. P. 581–583. DOI: 10.1038/nmeth.3869.
19. McMurdie P. J., Holmes S. Phyloseq: An R Package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data // PLoS ONE. 2013. No. 8 (4). e61217. DOI: 10.1371/journal.pone.0061217.
20. Wright E. S. Using DECIPHER v2.0 to analyze big biological sequence data in R // The R Journal. 2016. No. 8 (1). P. 352–359.

21. Caporaso J. G., Kuczynski J., Stombaugh J., Bittinger K., Bushman F. D., Costello E. K., Fierer N., Peña A. G., Goodrich J. K., Gordon J. I., Huttley G. A., Kelley S. T., Knights D., Koenig J. E., Ley R. E., Lozupone C. A., McDonald D., Muegge B. D., Pirrung M., Reeder J., Sevinsky J. R., Turnbaugh P. J., Walters W. A., Widmann J., Yatsunenko T., Zaneveld J., Knight R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data // Nature methods. 2010. No. 7 (5). P. 335–336. DOI: 10.1038/nmeth.f.303.

22. Hammer O., Harper D. A.T., Ryan P. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis // Palaeontologia Electronica. 2001. Vol. 4 (1). 9 p.

23. Кузикова И. Л., Зайцева Т. Б., Кичко А. А., Зиновьева С. В., Руссу А. Д., Маячкина Н. В., Медведева Н. Г. Влияние нонилфенолов на численность и таксономическую структуру почвенного микробного сообщества // Почвоведение. 2019. № 6. С. 722–733

24. Хасанова Р. Ф., Суюндуков Я. Т., Семенова И. Н. Биологическая активность гумусового горизонта чернозема обыкновенного как показатель экологического состояния агроэкосистем (Башкортостан) // Почвоведение. 2014. № 8. С. 982–987.

25. Wei Z., Hu X., Li X., Zhang Y., Jiang L., Li J., Zhengbirg G., Yujie C., Xiangru L. The rhizospheric microbial community structure and diversity of deciduous and evergreen forests in Taihu Lake area, China // PLoS ONE. 2017. No. 12 (4). e0174411. DOI: 10.1371/journal.pone.0174411.

26. Hartmann M., Frey B., Mayer J., Mäder P., Widmer F. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming // ISME J. 2015. Vol. 9 (5). P. 1177 –1194.

27. Bulgarelli D., Garrido-Oter R., Münch P. C., Weiman A., Dröge J., Pan Y., McHardy A. C., Schulze-Lefert P. Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley // Cell Host Microbe. 2015. Vol. 17 (3). P. 392–403.

28. Donn S., Kirkegaard J., Perera G., Richardson A. E., Watt M. Evolution of bacterial communities in the wheat crop rhizosphere // Environ Microbiol. 2015. Vol. 17 (3). P. 610–621.

References

1. Naumetov R. V. Sabitov M. M. Ways of formation of spring wheat agrocenosis in different types of agricultural landscape // Modern Scientist. 2017. No. 5. P. 26–33.

2. Turusov V. I. Cheverdin Yu. I., Titova T. V., Bespalov V. A., Saprikin S. V., Garmashova L. V., Cheverdin A. Yu. Relationship of microbiological parameters and physical properties of chernozem soils // Agricultural chemistry. 2017. No. 11. P. 3–12.

3. Semenov M. V., Manucharova N. A., Krasnov G. S., Nikitin D. A., Stepanov A. L. Biomass and taxonomic structure of microbial communities in soils of the right bank of the Oka river // Soil Science. 2019. No. 8. P. 974–985.

4. Orlova O. V., Chirak E. L., Vorob'ev N. I., Sviridova O. V., Lisina T. O., Andronov E. E. Taxonomic composition and organization of the microbial community of soddy-podzolic soils after application of straw of cereal crops and using the Barkon biopreparation // Sel'skokhozyaistvennaya Biologia [Agricultural Biology]. 2019. Vol. 54. No.1. P. 47–64.

5. Dobrovolskaya T. G. Zvyagintsev D. G., Chernov I. Yu., Golovchenko A. V., Zenova G. M., Lysak L. V., Manucharova N. A., Marfenina O. E., Polyanskaya L. M., Stepanov A. L., Umarov M. M. The role of microorganisms in the ecological functions of soils // Soil Science. 2015. No. 9. P. 1087–1096.

6. The main achievements and prospects of soil metagenomics // Ed. by Pershin E. V., Kutovaya O. V., Kogut B. M., Andronov E. E. Saint-Petersburg: Inform-Navigator, 2017. 288 p.

7. Navarrete A. A., Soares T., Rossetto R., Antonie van Veen J., Tsai S. M., Kuramae E. E. Verrucomicrobial community structure and abundance as indicators for changes in chemical factors linked to soil fertility // Antonie van Leeuwenhoek. 2015. No. 108. P. 741–752. DOI: 10.1007/s10482-015-0530-3.

8. Pashtetskiy V. S. Scientific basis for the optimization of agrolandscapes and effective agricultural production of the Republic of Crimea. Simferopol: IT "Arial". 2015. 276 p.

9. Belyuchenko I. S. Ecology of the Krasnodar Territory (Regional Ecology). Krasnodar: FSEI HPE "Kuban SAU", 2010. 356 p.

10. Tepper E. Z. Shilnikova V. K., Pereverzeva G. I. Workshop on Microbiology. Moscow: Drofa, 2005. 254 p.

11. Experimental soil microbiology: monograph // Sci. ed. Volkogon V. V. Kiev: Agrarna nauka, 2010. 446 p.

12. Andriyuk K. I., Iytins'ka G. O., Antypchuk A. F., Valagurova O. V., Kozyirits'ka V. E. Functioning of microbial soil groups under anthropogenic loading conditions. Kiev: Oberegy, 2001. 239 p.

13. Titova V. I., Kozlov A. V. Methods for assessing the functioning of the soil microbiocenosis involved in the transformation of organic matter: Scientific and methodological manual. Nizhniy Novgorod: Agrarian academy of Nizhniy Novgorod, 2012. 64 p.

14. Dospekhov B. A. Methods of field research (with the basics of statistical processing of research results). 5th edition, appr. and add. Moscow: Alians, 2014. 351 p.

15. Vorobiev N. I., Sviridova O. V., Kutuzova R. S. Methodological recommendations on the use of graph analysis in studies of systems consisting of biotic and abiotic components. Saint-Petersburg: All-Russian Research Institute of Agricultural Microbiology, 2006. 58 p.

16. Andronov E. E., Pinaev A. G., Pershina E. V. Isolation of DNA from soil samples. Saint-Petersburg: PC "Venta Association", 2011. 27 p.

17. Bates S. T., Berg-Lyons J. G., Caporaso W. A., Walters W. A., Knight R., Fierer N. Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soil // ISME J. 2010. No. 5. P. 908–917.

18. Callahan B. J., McMurdie P. J., Rosen M. J., Han A. W., Johnson A. J. A., Holmes S. P. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data // Nature Methods. 2016. No. 13. P. 581–583. DOI: 10.1038/nmeth.3869.

19. McMurdie P. J., Holmes S. Phyloseq: An R Package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data // PLoS ONE. 2013. No. 8 (4). e61217. DOI: 10.1371/journal.pone.0061217.

20. Wright E. S. Using DECIPHER v2.0 to analyze big biological sequence data in R // The R Journal. 2016. No. 8 (1). P. 352–359.

21. Caporaso J. G., Kuczynski J., Stombaugh J., Bittinger K., Bushman F. D., Costello E. K., Fierer N., Peña A. G., Goodrich J. K., Gordon J. I., Huttley G. A., Kelley S. T., Knights D., Koenig J. E., Ley R. E., Lozupone C. A., McDonald D., Muegge B. D., Pirrung M., Reeder J., Sevinsky J. R., Turnbaugh P. J., Walters W. A., Widmann J., Yatsunenko T., Zaneveld J., Knight R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data // Nature methods. 2010. No. 7 (5). P. 335–336. DOI: 10.1038/nmeth.f.303.

22. Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis // Palaeontologia Electronica. 2001. Vol. 4 (1). 9 p.

23. Kuzikova I. L., Zaytseva T. B., Kichko A. A., Zinovieva S. V., Russu A. D., Mayachkina N. V., Medvedeva N. G. Effect of nonylphenols on the abundance and taxonomic structure of the soil microbial community // Soil Science. 2019. No. 6. P. 722–733.

24. Khasanova R. F., Suyundukov Ya. T., Semenova I. N. Biological activity of the humus horizon of ordinary chernozems as an indicator of the ecological state of agroecosystems in Bashkortostan // Soil Science. 2014. No. 8. P. 982–982.

25. Wei Z., Hu X., Li X., Zhang Y., Jiang L., Li J., Zhengbirg G., Yujie C., Xiangru L. The rhizospheric microbial community structure and diversity of deciduous and evergreen forests in Taihu Lake area, China // PLoS ONE. 2017. No. 12 (4). e0174411. DOI: 10.1371/journal.pone.0174411.

26. Hartmann M., Frey B., Mayer J., Mäder P., Widmer F. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming // ISME J. 2015. Vol. 9 (5). P. 1177 –1194.

27. Bulgarelli D., Garrido-Oter R., Münch P. C., Weiman A., Dröge J., Pan Y., McHardy A. C., Schulze-Lefert P. Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley // Cell Host Microbe. 2015. Vol. 17 (3). P. 392–403.

28. Donn S., Kirkegaard J., Perera G., Richardson A. E., Watt M. Evolution of bacterial communities in the wheat crop rhizosphere // Environ Microbiol. 2015. Vol. 17 (3). P. 610–621.

UDC 631.461:579.64

Melnichuk T. N., Egovtseva A. Yu., Abdurashitov S. F., Andronov E. E., Abdurashitova E. R., Radchenko A. F., Ganotskaya T. L., Radchenko L. A.

ASSOCIATIVE TO *TRITICUM AESTIVUM* L. BACTERIA FROM CHERNOZEMS SOUTHERN AND LEACHED

Summary. *The better management of natural potential of ecosystems ensures their preservation and allows obtaining high-quality products with minimal costs. The direction of the processes occurring in the rhizosphere plays an important role in realizing the productive potential of plants and depends on the composition and activity of the microbiota. The aim of the research was to study the ecological-trophic groups and the taxonomic structure of microorganisms of the rhizosphere of soft wheat of three different varieties grown under conditions of southern and leached chernozems. Three varieties of wheat 'Alekseich', 'Bezostaya 100', and 'Grom' were used for studying the rhizosphere of winter wheat (Triticum aestivum L.). These studies were conducted in 2018–2019. The climate of the areas in the Crimea, where the research was conducted, is characterized as*

arid (steppe) and semi-arid (foothill), the same of the Krasnodar Krai – moderately continental and moderately arid. Field, microbiological, genetic, taxonomic, and statistical research methods were used in the work. In the course of this research, winter wheat was cultivated in different areas: 1) village of Krymskaya Roza – chernozems southern, foothill zone; 2) village of Klepinino – chernozems southern, Crimean steppe; 3) Krasnodar Krai – chernozems leached. Before the sowing, the field was treated as black fallow. Sampling was carried out during the stem extension phase. Changes in the number of microorganisms of various ecological and trophic groups in the rhizosphere of T. aestivum occur under varying conditions of this plant growing. Under the conditions of leached chernozems of the Krasnodar Krai, the maximum amount of amylolytic and nitrogen-fixing microorganisms, actinomycetes, and azotobacter in the rhizosphere was noted for variety 'Alekseich'. The mass of dry shoot of this variety was also higher by 0.6 g (50 %). In terms of changing the growing conditions of winter wheat on the southern chernozems (foothill zone of the Crimea), an increase in the number of amylolytic, azotobacter, and cellulolytic microorganisms for the variety 'Bezostaya 100' was observed. Dry shoot biomass was at the level of variety 'Alekseich' and by 0.1 g (33 %) higher than that of variety 'Grom'. Metagenomic analysis of the rhizosphere of T. aestivum revealed the presence of representatives of seven dominant phyla (fractions above 1 %): archaea Thaumarchaeota and bacteria Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria, and Verrucomicrobia. The influence of soil and climatic conditions was more significant than the influence of the variety on the representation of dominant phyla. Phyla with a smaller proportion (less than 1%) were more responsive to varietal diversity. Under the conditions of leached chernozems, the share of Chloroflexi in the rhizosphere of variety 'Grom' was five to six times higher than in other varieties. The share of Gemmatimonadetes for the variety 'Bezostaya 100' was 3.3 times higher than for the variety 'Grom', as well as 28.0 times higher than that of for the variety 'Alekseich'.

Keywords: *ecological and trophic groups of microorganisms, taxonomic structure of the microbiome, rhizosphere, Triticum aestivum L., southern chernozem, leached chernozem.*

Мельничук Татьяна Николаевна, доктор сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной биологии ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295453, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: melnichuk7@mail.ru.

Еговцева Анна Юрьевна, научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной биологии ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295453, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: eau82@mail.ru.

Абдурашитов Сулейман Февзиевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной биологии ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295453, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: asuleyman83@rambler.ru.

Андронов Евгений Евгеньевич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией микробиологического мониторинга и биоремедиации почв ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии»; 196608, Россия, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, шоссе Подбельского, 3, e-mail: eeandr@gmail.ru.

Абдурашитова Эльвина Расимовна, научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной биологии ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295453, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: elvi-jadore@mail.ru.

Радченко Александр Федорович, старший научный сотрудник лаборатории семеноводства и сортоизучения новых генотипов отдела интродукции и технологий в полеводстве и животноводстве, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», г. Симферополь, ул. Киевская,150; e-mail: o-radchenko@ukr.net.

Ганоцкая Татьяна Леонидовна, младший научный сотрудник лаборатории семеноводства и сортоизучения новых генотипов отдела интродукции и технологий в полеводстве и животноводстве, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», г. Симферополь, ул. Киевская,150; e-mail: ganotskaya.tanya@mail.ru.

Радченко Людмила Анатольевна, кандидат сельскохозяйственных наук, заместитель директора по научной работе ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», г. Симферополь, ул. Киевская,150; e-mail: l-radchenko@ukr.net.

Melnichuk Tatyana Nikolaevna, Dr. Sc. (Agr.), senior researcher, chief researcher of the Laboratory of molecular and cellular biology of FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: melnichuk7@mail.ru.

Egovtseva Anna Yurievna, researcher of the Laboratory of molecular and cellular biology of FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: eau82@mail.ru.

Abdurashitov Suleiman Fevziyevich, Cand. Sc. (Biol.), senior researcher of the Laboratory of molecular and cellular biology of FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: asuleyman83@rambler.ru.

Andronov Evgeniy Evgenievich, Dr. Sc. (Biol.), head of the Laboratory of microbiological monitoring and soil bioremediation of FSBSI “All-Russian Research Institute of Agricultural Microbiology”; 3, Podbelskogo Highway, Pushkin, Saint-Petersburg, 196608, Russia; e-mail: eeandr@gmail.ru.

Abdurashitova Elvina Rasimovna, researcher of the Laboratory of molecular and cellular biology of FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: elvi-jadore@mail.ru.

Radchenko Aleksandr Fedorovich, senior researcher of the Laboratory of seed growing and strain investigation of new genotypes of the Department of introductions and technologies in agriculture and livestock farming, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: o-radchenko@ukr.net.

Ganotskaya Tatyana Leonidovna, junior researcher of the Laboratory of seed growing and strain investigation of new genotypes of the Department of introductions and technologies in agriculture and livestock farming, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: ganotskaya.tanya@mail.ru.

Radchenko Ludmila Anatolievna, Cand. Sc. (Agr.), deputy director for scientific work, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: l-radchenko@ukr.net.

Дата поступления в редакцию – 30.10.2019.
Дата принятия к печати – 15.11.2019.