

УДК 631.461

Пыркин В. О.¹, Хапчаева С. А.¹, Дидович С. В.², Зотов В. С.¹

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНЫХ БИОПРЕПАРАТОВ НА ПОЧВЕННЫЙ МИКРОБИОМ

¹ ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН»;

² ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»

Реферат. Цель исследования – изучение применения предпосевной обработки семян микробными биопрепаратами «Ризобофит» (на основе клубеньковых бактерий), «Цианобактериальный консорциум» (далее «ЦБК», состоящий из культур цианобактерий *Nostoc* и клубеньковых бактерий) и «Микробный полифункциональный консорциум» (далее «МПК», на основе ризобияльных штаммов, культур *Bacillus* sp. и *Lelliotia* sp.), и их влияние на почвенный микробиом и на трансформацию азота, углерода в почве. Опытный участок – поле ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт зернобобовых и крупяных культур» (п. Стрелецкий, Орловская область). Активность азотфиксации, денитрификации, метаногенеза, эмиссии углекислого газа определяли методами газовой хроматографии. Филогенетическое разнообразие изучали с помощью метода секвенирования нового поколения. Интенсивность процессов азотфиксации выше в случае обработки поликомпонентными биопрепаратами в 8 раз при «ЦБК» и в 14 раз при «МПК». Эмиссия CO₂ снижается в случае применения биопрепаратов «Ризобофит» в 0,8 раза и в 5 раз при «ЦБК», обработка «МПК» стимулирует эмиссию углекислого газа в 1,3 раза. Актуальная денитрификация возрастает при обработке «Ризобофитом» в 1,5 раза, когда потенциальная активность денитрификации не имеет достоверных различий с контролем. Эмиссия метана снижается при обработке всеми биопрепаратами, представленными в исследовании: в 1,3 раза при использовании «Ризобофита» и «Цианобактериального консорциума», в 1,6 раз при «Микробном полифункциональном консорциуме». Бактериальные сообщества всех изучаемых почвенных образцов состоят преимущественно из филумов *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*. Доминируют *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*.

Ключевые слова: полифункциональные биопрепараты, клубеньковые бактерии, цианобактерии, биологическая активность почвы, NGS, микробиом ризосферы.

Введение

Одной из основных задач интенсивного земледелия является его экологизация, которая может включать в себя использование почвенных и земельных ресурсов для сохранения и увеличения плодородия [1]. Из всех факторов, определяющих продуктивность системы «почва-растение-микроорганизмы», именно последние играют главную роль, но остаются наименее изученными. Полезное действие микроорганизмов на растения заключается в увеличении азотфиксации, улучшении фосфорного питания, стимуляции роста, повышении устойчивости, подавлении фитопатогенов и т.д. Снижение применения в сельском хозяйстве минеральных удобрений ставит необходимость поиска дополнительных источников питания для растений. Поэтому в настоящее время большой интерес вызывает перспективность использования биопрепаратов на основе полезных почвенных микроорганизмов с большим биотехнологическим потенциалом [2]. В этом плане перспективны микробные биопрепараты, но при их использовании необходимо изучить не только действие на растение и урожайность, но и на свойства почвы [3].

В связи с этим **цель исследования** – изучение влияния предпосевной обработки семян тремя биопрепаратами на основе микроорганизмов коллекции отдела сельскохозяйственной микробиологии ФГБУН «НИИСХ Крыма»: «Ризобифит» (на основе клубеньковых бактерий), «Цианобактериальный консорциум» (далее «ЦБК», состоящий из культур цианобактерий *Nostoc* и клубеньковых бактерий) и «Микробный полифункциональный консорциум» (далее «МПК», на основе ризобияльных штаммов, культур *Bacillus* sp. и *Lelliotia* sp.) на биологическую активность почв и почвенный микробиом.

Материалы и методы исследований

Полевые испытания опытных партий биопрепаратов для предпосевной обработки семян сои проведены в 2017 г. на базе ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт зернобобовых и крупяных культур» (п. Стрелецкий, Орловская область). На эффективность влияния внесенных препаратов, а также на рост и развитие возделываемой культуры, как правило, сильное воздействие оказывают агроклиматические условия, которые существенно отличаются по всей территории Российской Федерации – тип почв и климата, количество осадков и т.д. Орловская область представлена по большей части зонами переходных почв от дерново-подзолистых к преимущественно выщелоченным и оподзоленным черноземам. Климат умеренно-континентальный, температура июля находится в пределах 17,9–19,6 °С, а января – 9,0–10,5 °С ниже нуля; среднегодовое количество осадков – 500–550 мм. Исследуемые образцы – агро-темно-серая почва ризосферы сои в фазу полной зрелости, перед уборкой урожая. Контроль – вариант без микробной обработки.

В почвенных образцах изучали показатели, характеризующие состояние почвенной микрофлоры и интенсивность процессов микробной трансформации ряда биофильных элементов. Филогенетическое разнообразие изучали с помощью метода секвенирования нового поколения (Next Generation Sequence). Активность азотфиксации, денитрификации, метаногенеза, эмиссии углекислого газа определяли методами газовой хроматографии в пятикратной повторности [4]. Краткое описание используемых методик приведено ниже.

Определение потенциальной активности азотфиксации (ацетиленовый метод). Навески почвы (5 г), просеянной через сито (1 мм) помещали в пенициллиновые флаконы, добавляли раствор глюкозы (в расчете 1 % глюкозы от массы воздушно-сухой почвы), при необходимости увлажняли стерильной водой до влажности 60 % от полной влагоемкости. Почву перемешивали стеклянной палочкой для полного распределения глюкозы, флаконы закрывали ватной пробкой и помещали в термостат при температуре 25 °С на сутки. Через сутки инкубации флаконы укупоривали резиновой пробкой, вводили ацетилен (1 мл) и инкубировали в термостате в течение одного часа. Затем из флаконов шприцем отбирали пробу (1 мл) и на хроматографе “Кристалл-2000” с пламенно-ионизационным детектором (ПИД) определяли количество образовавшегося этилена.

Определение актуальной активности азотфиксации (ацетиленовый метод). Для определения актуальной нитрогеназной активности навески почвы (5 г) помещали в пенициллиновые флаконы, герметично закрывали резиновыми пробками и при помощи шприца вводили 1 мл ацетилена. Флаконы инкубировали в термостате при температуре 25 °С в течение часа, после чего шприцем из каждого флакона отбирали пробу газовой фазы объемом 1 мл и анализировали на газовом хроматографе “Кристалл – 2000”. Характеристики “Кристалл – 2000”: длина колонки – 1м, диаметр – 3мм, наполнитель – Porapak N 80/100, температура колонки – 60 °С, температура детектора – 160 °С, температура испарителя – 100 °С, расход газа-носителя (N₂) –50

мл/мин, воздуха – 280 мл/мин, водорода – 28 мл/мин. Определение проводили в пятикратной повторности. Активность азотфиксации выражали в $\text{нг C}_2\text{H}_4/\text{г}\cdot\text{час}$.

Определение потенциальной активности денитрификации. Навески почвы (5 г) помещали в пенициллиновые флаконы, увлажняли до 60 % от ПВ (полной влагоемкости). Затем вносили глюкозу (из расчета 2,5 мг на г воздушно-сухой почвы), нитрат калия (0,3 мг на г почвы) и добавляли 3 мл стерильной воды, флаконы укупоривали резиновой пробкой. Для создания микроаэрофильных условий, воздух из флаконов вытесняли аргоном в течение 30 сек., затем шприцем вводили 1 мл ацетилена для ингибирования редуктазы закиси азота. Флаконы тщательно встряхивали и помещали в термостат при 25 °С на сутки, после чего проводили измерение концентрации закиси азота.

Определение актуальной денитрификации. Навеску свежей почвы (5 г) помещали в пенициллиновые флаконы. Герметично закрывали резиновыми пробками и в течение 1 мин продували аргоном, вводили 1 мл ацетилена и инкубировали при температуре 25 °С. Измерение концентрации закиси азота проводили на третьи-пятые сутки. Анализ газа (закиси азота) проводили на газовом хроматографе “Кристалл-2000” с детектором электронного захвата (ДЭЗ). Характеристика прибора: длина колонки – 1 м, диаметр – 3 мм, наполнитель – Porapak N 80/100, температура колонки – 50 °С, температура детектора – 240 °С, испарителя – 100 °С, расход газа-носителя (N_2) – 90 мл/мин. Определение активности денитрификации проводили в пятикратной повторности. Активность денитрификации выражали в $\text{мкг N}_2\text{O}/\text{г}\cdot\text{час}$.

Определение потенциальной эмиссии CO_2 . Навеску свежей почвы (5 г) помещали в пенициллиновые флаконы, увлажняли до 60 % от ПВ (полной влагоемкости). Затем вносили глюкозу (из расчета 2,5 мг на г воздушно-сухой почвы), герметично закрывали резиновыми пробками и инкубировали в течение суток при температуре 25 °С. Анализ газа (CO_2) проводили на газовом хроматографе “М-3700” с детектором по теплопроводности. Эмиссию углекислого газа выражали в $\text{мкмоль CO}_2/\text{г}\cdot\text{час}$.

Определение актуальной эмиссии углекислого газа. Навеску свежей почвы (5 г) помещали в пенициллиновые флаконы, герметично закрывали резиновыми пробками и инкубировали в течение суток при температуре 25 °С. Анализ газа (CO_2) проводили на газовом хроматографе “М-3700” с детектором по теплопроводности. Длина колонки – 3 м, диаметр – 3 мм, наполнитель – Полисорб-1, температура испарителя – 30 °С, температура катарометра – 100 °С, измерительных элементов – 150 °С, сила тока 148 мА, расход газа-носителя (гелия) – 30 мл/мин. Эмиссию углекислого газа выражали в $\text{мкмоль CO}_2/\text{г}\cdot\text{час}$. Определение активности дыхания проводили в пятикратной повторности.

Определение эмиссии метана. Навески почвы (5 г), просеянной через сито (1 мм) помещали в пенициллиновые флаконы, увлажняли стерильной водой до влажности 60 % от полной влагоемкости. Флаконы укупоривали резиновой пробкой и помещали в термостат при температуре 25 °С на семь суток. Затем из флаконов отбирали пробу (1 мл), и на хроматографе “Кристалл-2000” с пламенно-ионизационным детектором (ПВД) определяли количество образовавшегося метана. Определение проводили в пятикратной повторности. Эмиссию метана выражали в $\text{мкг CH}_4/\text{г}\cdot\text{почвы}$.

Метагеномный анализ микробиома ризосферы с использованием секвенирования нового поколения (NGS). Выделение тотальной ДНК из почвенных образцов производили с помощью набора PowerSoil DNA Isolation Kit, MO BIO Laboratories, Inc. На анализ брали 1,0 мл суспензии, осаждали с помощью центрифугирования и далее работали с осадком по протоколу производителя.

Препараты ДНК (10–15 нг) использовали в качестве матрицы в полимеразной цепной реакции (ПЦР) для создания и последующего секвенирования ампликонных библиотек. В ПЦР-реакции использованы универсальные праймеры к варибельному участку V4 гена 16S рРНК (F515 (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA) и R806 (GGACTACVSGGGTATСТААТ)) и полимеразы Encyclo («Евроген», Россия). Температурный профиль реакции: 95 °С – 30 сек., 50 °С – 30 сек., 72 °С – 30 сек.; всего 30 циклов [5]. В праймеры вводили олигонуклеотидные идентификаторы для каждого образца (6 идентификаторов) и служебные последовательности, необходимые для пиросеквенирования по протоколу фирмы «Roche» (Швейцария). Подготовку проб и секвенирование проводили на приборе GS Junior («Roche», Швейцария) согласно рекомендациям производителя.

Обработку, анализ данных и построение графиков производили в программах Microsoft Excel 2013, STATISTICA 10.

Результаты и их обсуждение

Влияние применения биопрепаратов на процесс азотфиксации в почве.

Актуальная азотфиксация (рисунок 1) выше в случае обработки поликомпонентными биопрепаратами, в 1,5 раза – при «ЦБК» и в 4,5 раза – при «МПК».

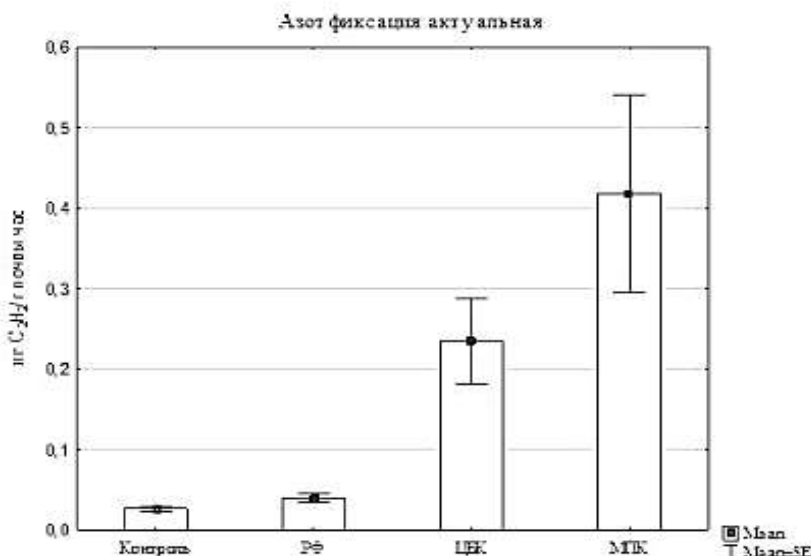


Рисунок 1 – Влияние биопрепаратов на актуальную азотфиксацию в почве

Потенциальная азотфиксация (рисунок 2) имеет такую же тенденцию, но максимальное значение наблюдается в случае обработки «ЦБК». Увеличение активности азотфиксации при использовании многокомпонентных биопрепаратов объясняется тем, что в их состав входят свободные diaзотрофы, а монокомпонентный «Ризобифит» в своем составе имеет только ризобияльные культуры, неспособные к свободной азотфиксации.

Влияние применения биопрепаратов на процесс денитрификации в почве.

Актуальная денитрификация (рисунок 3) в случае применения многокомпонентных биопрепаратов ниже по сравнению с контролем, тогда как при обработке монокомпонентным «Ризобифитом» наблюдается ее увеличение в 1,5 раза по отношению к контролю. Потенциальная денитрификация (рисунок 4) не имеет достоверных различий между вариантами опыта и контроля. Азотфиксация и денитрификация – противоположные процессы, снижение эмиссии N₂O может косвенно подтвердить увеличение нитрогеназной активности.

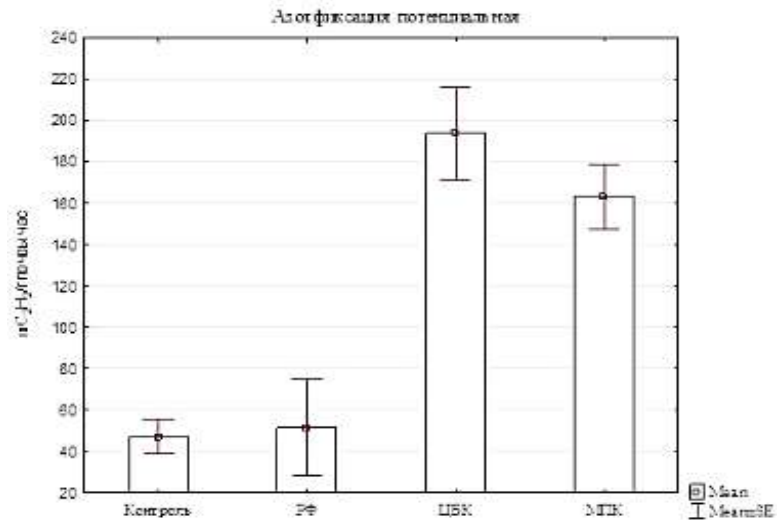


Рисунок 2 – Влияние биопрепаратов на потенциальную азотфиксацию в почве

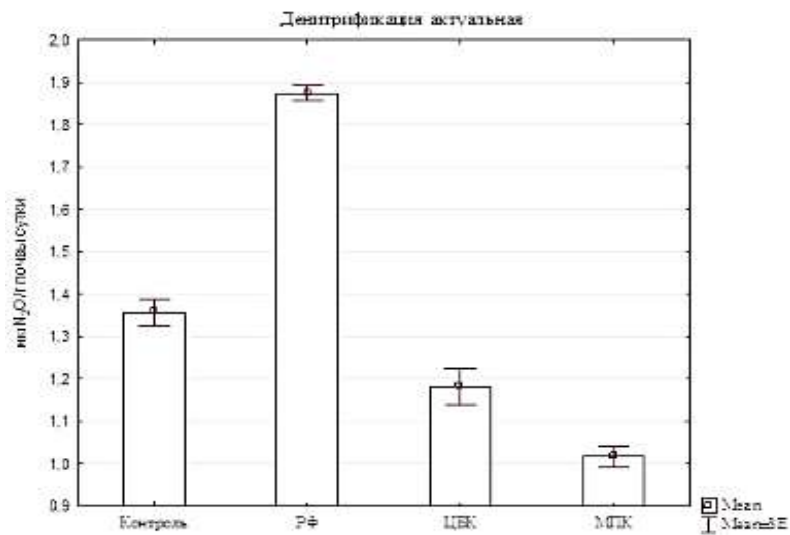


Рисунок 3 – Влияние биопрепаратов на актуальную денитрификацию в почве

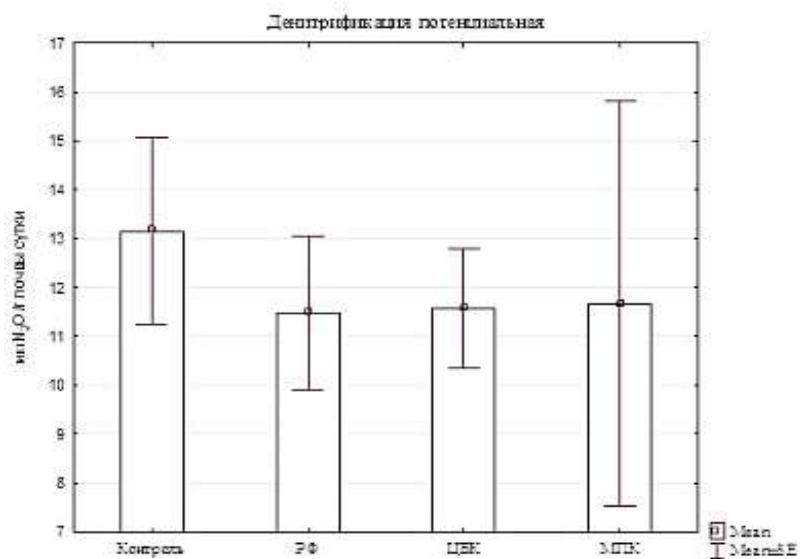


Рисунок 4 – Влияние биопрепаратов на потенциальную денитрификацию в почве

Влияние применения биопрепаратов на процесс эмиссии CO₂ из почвы.

Актуальная эмиссия CO₂ (рисунок 5) снижается в случае применения биопрепаратов «Ризобифит» и «ЦБК», причем в опыте с «ЦБК» ее значение в 2 раза ниже по сравнению с контролем. Обработка «МПК» стимулирует эмиссию углекислого газа – ее значения в 1,5 раза выше, чем в контрольных образцах. Потенциальная эмиссия CO₂ (рисунок 6) имеет следующие тенденции: увеличение по сравнению с контролем в случае обработки всеми вариантами биопрепаратов; максимальное увеличение наблюдается при обработке «ЦБК». Снижение актуальной и увеличение потенциальной эмиссии CO₂ в пределах одного образца может свидетельствовать о низкой активности почвенного микробиоценоза в конце вегетационного периода, в фазу которого отобраны образцы.

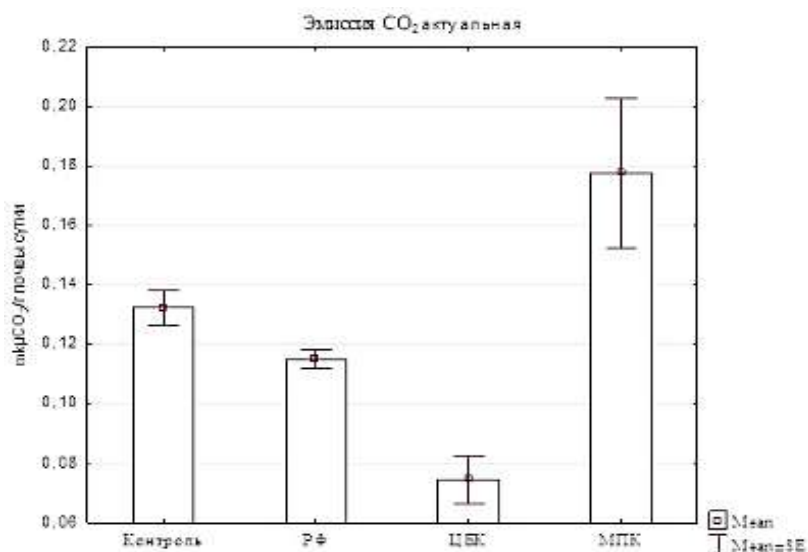


Рисунок 5 – Влияние биопрепаратов на актуальную эмиссию CO₂ из почвы

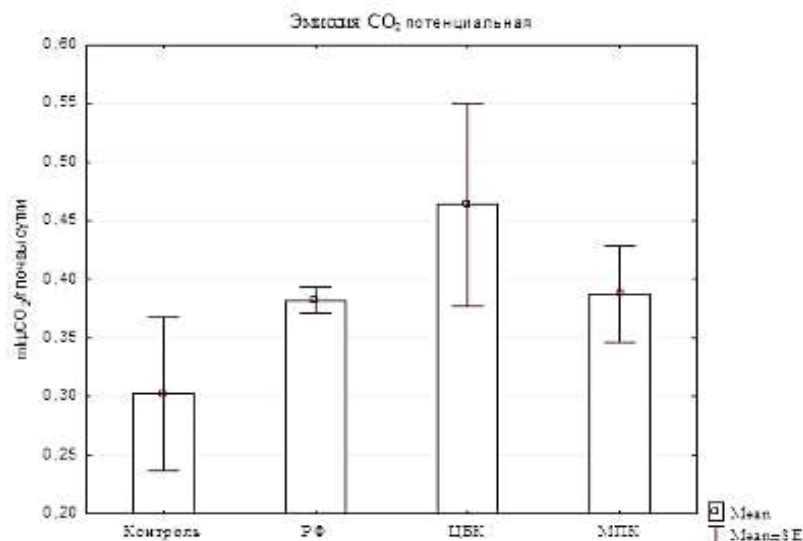


Рисунок 6 – Влияние биопрепаратов на потенциальную эмиссию CO₂ из почвы

Влияние применения биопрепаратов на процесс эмиссии CH₄ из почвы.

Эмиссия метана (рисунок 7) снижается при обработке микробными удобрениями по отношению к контролю, максимальное снижение наблюдается в случае с «МПК». Снижение эмиссии метана может быть обусловлено увеличением доли метиловых бактерий семейства Methylophilaceae, использующих в качестве источников углерода и энергии окисленные или замещенные производные метана [6].

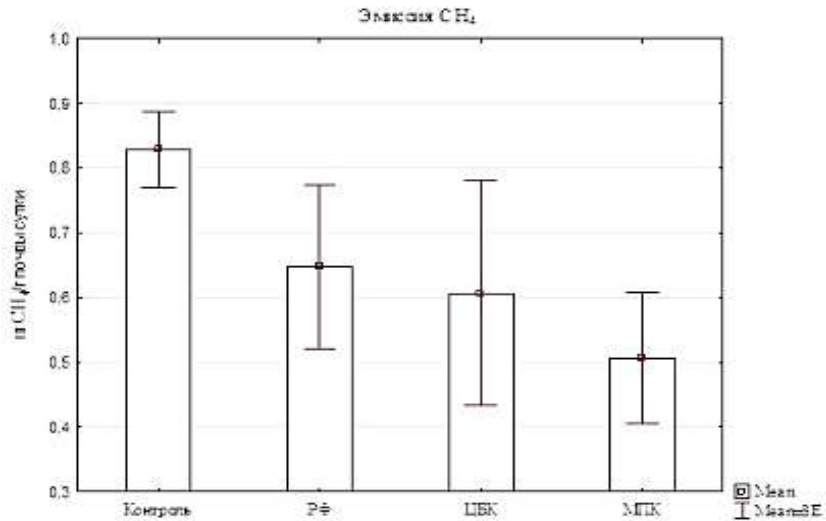


Рисунок 7 – Влияние биопрепаратов на эмиссию CH₄ из почвы

Анализ филогенетического состава. Бактериальные сообщества всех изучаемых почвенных образцов (рисунок 8) состоят преимущественно из филумов *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*. Доминируют *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*. Значительное увеличение по сравнению с контролем наблюдается в доле *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*, *Verrucomicrobia*.

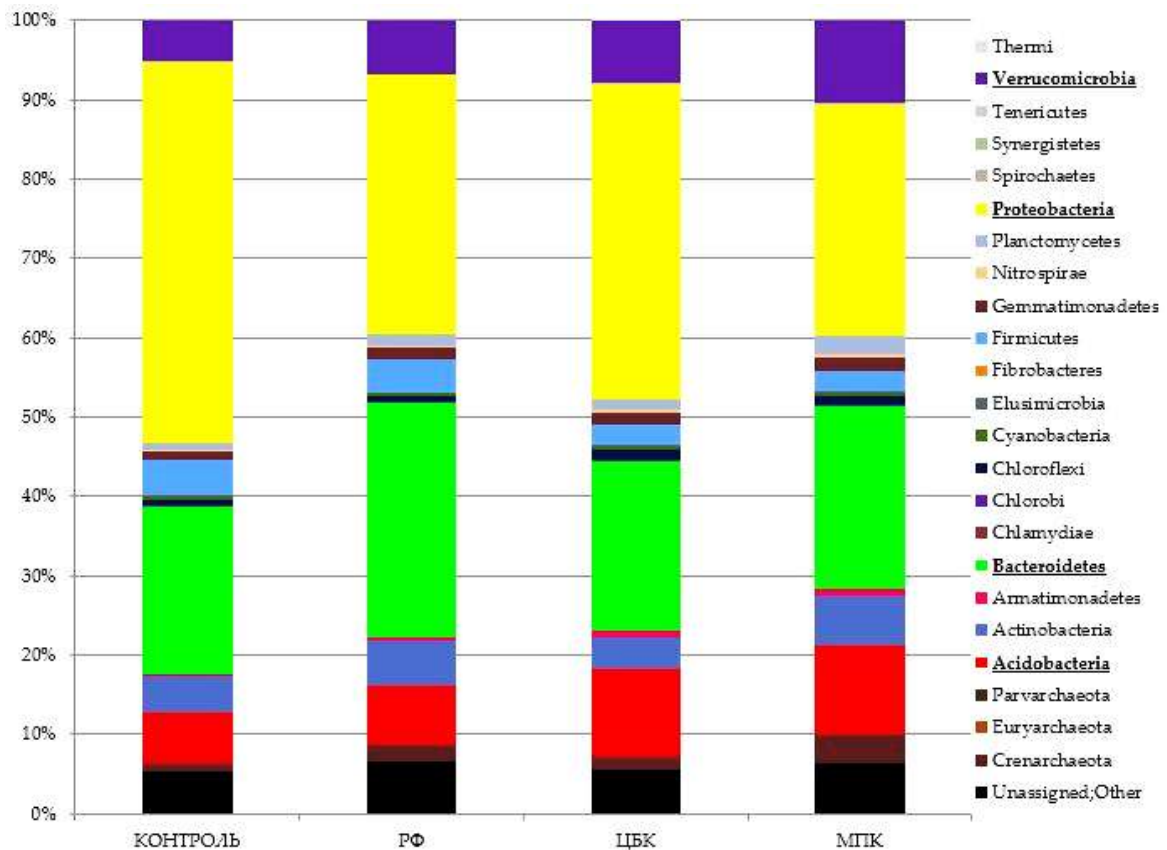


Рисунок 8 – Филогенетическое сообщество по данным NGS 16S рPHK

Филум *Proteobacteria* (таблица 1) имеет тенденцию к снижению в случае обработки биопрепаратами, тем не менее, доля семейств *Methylophilaceae*, *Pseudomonadaceae* и *Xanthomonadaceae*, которые относятся к филуму *Proteobacteria*, увеличивается при обработке микробными препаратами.

Таблица 1 – Достоверные изменения в родах и семействах филума *Proteobacteria*, по данным NGS 16S рРНК

<i>Proteobacteria</i>	Контроль, %	Почва с использованием биопрепаратов, %			Изменение, %		
		«Ризобифит»	«ЦБК»	«МПК»	«Ризобифит»	«ЦБК»	«МПК»
<i>Agrobacterium</i>	1,03	0,13	0,43	0,14	-0,90	-0,60	-0,89
<i>Rhizobium</i>	2,30	0,68	0,31	0,33	-1,62	-1,99	-1,97
<i>Acinetobacter</i>	1,65	0,30	0,60	0,48	-1,35	-1,06	-3,14
<i>Methylophilaceae</i>	0,79	2,13	4,23	2,69	1,34	3,44	1,90
<i>Pseudomonadaceae</i>	1,13	3,98	4,48	2,32	2,84	3,35	1,19
<i>Xanthomonadaceae</i>	0,58	3,18	2,00	1,28	2,59	1,42	0,70

На рисунке 9 представлена дендрограмма, основанная на сходстве состава микробиомов ризосферы. По данным кластеризации контроль и варианты обработки биопрепаратами по составу микробных сообществ отличаются друг от друга. Микробиомы при обработке «МПК» и «ЦБК» попарно кластеризуются, что говорит о сходстве их состава и качественном отличии от контроля и варианта обработки монокультурным «Ризобифит».

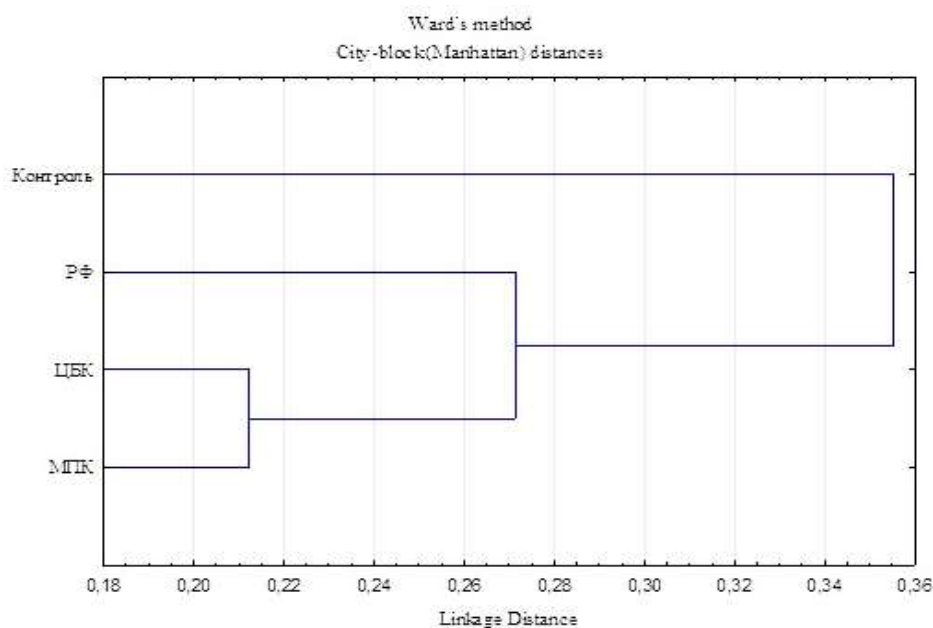


Рисунок 9 – Дендрограмма кластеризации почвенных микробиомов, по данным NGS 16SpРНК

Анализ бета разнообразия. Индекс биологического бактериального разнообразия (Индекс Шеннона) выше в случаях обработки биопрепаратами: 5,96 в контроле, 6,03 в варианте с «Ризобифит», 6,24 – с «ЦБК», 6,4 – с «МПК». По сравнению с контролем, самый высокий показатель наблюдался при использовании многокомпонентного препарата «МПК» на основе ризобияльных культур *Bacillus u Lelliotia*.

Анализ грибного сообщества по генетическому маркеру ITS 18S-28S рРНК показывает достоверное снижение доли фитопатогенного рода *Fusarium* (таблица 2) при применении предпосевной обработки микробными биопрепаратами.

Таблица 2 – Изменение рода *Fusarium*, по данным NGS ITS 18S-28S рРНК

Контроль, %	Почва с использованием биопрепаратов, %			Изменение, %		
	«Ризобифит»	«ЦБК»	«МПК»	«Ризобифит»	«ЦБК»	«МПК»
22,19	8,61	8,41	11,22	-13,57	-13,78	-10,97

Выводы

В ходе работы отмечено увеличение активности процессов азотфиксации при обработке препаратами «Цианобактериальный консорциум» в 8 раз и «Микробный полифункциональный консорциум» в 14 раз, также данные варианты предпосевной обработки снижают потери азота в 1,5 раза при процессе денитрификации.

Актуальная эмиссия углекислого газа снижается при использовании биопрепаратов «Ризобифит» в 0,8 раз и «Цианобактериальный консорциум» в 5 раз, а использование «Микробного полифункционального консорциума» наоборот, стимулирует почвенное дыхание в 1,3 раза. Дополнительное внесение глюкозы (потенциальная эмиссия CO₂) стимулирует микробный комплекс, тем самым увеличивая эмиссию CO₂, во всех случаях использования микробных препаратов: в 1,2 раза при использовании «Ризобифита», в 1,5 раза при применении «Цианобактериального консорциума» и 1,2 раза в опыте с «Микробным полифункциональным консорциумом». Эмиссия метана снижается при обработке всеми биопрепаратами, представленными в исследовании: в 1,3 раза при использовании «Ризобифита» и «Цианобактериального консорциума», в 1,6 раз – при «Микробном полифункциональном консорциуме».

Применение биопрепаратов не вызывает резкого смещения природного баланса на уровне филогенетического состава почвенного микробиома. Доминирующие филумы – *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*. Значительное увеличение доли в сообществе отмечено для *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*, *Verrucomicrobia*, а снижение – в доле некоторых родов филумов *Firmicutes* и *Proteobacteria*, которое не влияет на преобладание их в микробном сообществе.

Литература

1. Панкратова Е. М., Трефилова Л. В., Зяблых Р. Ю., Устюжанин И. А. Цианобактерия *Nostoc paludosum* Kutz как основа для создания агрономически полезных микробных ассоциаций на примере бактерий рода *Rhizobium* // Микробиология. 2008. Т. 77. № 2. С. 266–272.
2. Дидович С. В., Москаленко С. В., Темралеева А. Д., Хапчаева С. А. Биотехнологический потенциал почвенных цианобактерий (обзор) // Вопросы современной альгологии. 2017. № 2 (14). [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://algology.ru/1170> (дата обращения 12.05.2018).
3. Завалин А. А. Биопрепараты, удобрения и урожай. М.: ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии имени Д. Н. Прянишникова», 2005. 302 с.
4. Степанов А. Л., Лысак Л. В. Методы газовой хроматографии в почвенной микробиологии. М.: МАКС Пресс, 2002. 88 с.
5. Чирак Е. Л., Першина Е. В., Дольник А. С., Кутовая О. В., Василенко Е. С., Когут Б. М., Мерзлякова Я. В., Андронов Е. Е. Таксономическая структура микробных сообществ в почвах различных типов по данным высокопроизводительного секвенирования библиотек гена 16S рРНК // Сельскохозяйственная биология. 2013. № 3. С. 100–110.
6. Тишков В. И., Троценко Ю. А., Доронина Н. В., Торгонская М. Л. Аэробные метилобактерии // Прикладная биохимия и микробиология. 2011. Т. 47. № 3. С. 362–362.

References

1. Pankratova E. M., Trefilova L. V., Zyablykh R. Yu, Ustyuzhanin I. A. Cyanobacterium *Nostoc paludosum* Kütz as a basis of creation of agriculturally useful microbial associations on the example of bacteria of the genus *Rhizobium* // *Microbiology*. 2008. Issue 77. No. 2. P. 266–272.
2. Didovich S. V., Moskalenko S. V., Temraleeva A. D., Khapchaeva S. A. Biotechnological potential of soil cyanobacteria (review) // *Issues of modern algology*. No. 22 (14). [Electronic resource]. Access point: <http://algology.ru/1170> (reference's date 12.05.2018).
3. Zavalin A. A. Biopreparations, fertilizers and crops. Moscow: Federal State Budget Scientific Institution "All-Russian Scientific Research Institute of Agrochemistry named after D.N. Pryanishnikov", 2005. 302 p.
4. Stepanov A. L., Lysak L. V. Methods of gas chromatography in soil microbiology. Moscow: MAKS Press, 2002. 88 p.
5. Chirak E. L., Pershina E. V., Dol'nik A. S., Kutovaya O. V., Vasilenko E. S., Kogut B. M., Merzlyakova Ya. V., Andronov E. E. Taxonomic structure of microbial association in different soils investigated by high-throughput sequencing of 16S-rRNA gene library // *Agricultural Biology*. 2013. No. 3. P. 100–110.
6. Tishkov V. I., Trotsenko Yu. A., Doronina N. V., Torganskaya M. L. Aerobic methylobacteria // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2011. Issue 47. No. 3. P. 362–362.

UDC 631.461

Pyrkin V. O., Khapchaeva S. A., Didovich S. V., Zotov V. S.

INFLUENCE OF COMPLEX BIOPREPARATES ON THE SOIL MICROBIOME

Summary. *The purpose of the research is to study the application of seed pre-sowing treatment with microbial biopreparations "Rhizobophyt" (based on nodule bacteria), "Cyanobacterial consortium" (acronym is "CBC"), consisting of cultures of cyanobacteria *Nostoc* and nodule bacteria) and "Microbial polyfunctional consortium" (acronym is "MPC"), on the basis of rhizobial strains, cultures of *Bacillus* sp. and *Lelliotia* sp., as well as their effect on soil microbiome and on the transformation of nitrogen and carbon in the soil. The field of FSBSI "The All-Russia Research Institute of Legumes and Groat Crops (VNIIZBK) (village Streletskiy, Orel region) served as the experimental site. The activity of nitrogen fixation, denitrification, methanogenesis, and carbon dioxide emission was determined by gas chromatography. Phylogenetic diversity was studied using Next-Generation Sequencing (NGS) Method. The intensity of nitrogen fixation processes is 8 times higher in the case of treatment with polycomponent biopreparation "CBC" and 14 times higher – with "MPC". CO₂ emission decreases in case of application biological preparation "Rhizobophyt" by 0.8 times and by 5 times in case of "CBC" application. Treatment with "MPC" stimulates the emission of carbon dioxide by 1.3 times. When treated with "Rhizobophyt", actual denitrification increases one and half times; when the potential activity of denitrification does not have significant differences with the control. Emission of methane is reduced by treatment with all biological products presented in the study: 1.3 times with the use of "Rhizobophyt" and "Cyanobacterial consortium", 1.6 times – with the "Microbial polyfunctional consortium". Bacterial communities of all studied soil samples consist mainly of phylums *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*. *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Acidobacteria* are dominant.*

Keywords: *polyfunctional biopreparations, nodule bacteria, cyanobacteria, biological activity of soil, NGS, rhizosphere microbiome.*

Пыркин Владислав Олегович, старший лаборант, Институт биохимии имени А. Н. Баха, ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН»; 119071, Россия, г. Москва, Ленинский проспект, 33, стр. 2; e-mail: vladislw@yandex.ru.

Хапчаева Софья Арсеновна, младший научный сотрудник, группа альгобиотехнологии, Институт биохимии имени А. Н. Баха, ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН»; 119071, Россия, г. Москва, Ленинский проспект, 33, стр. 2; e-mail: sakhapchaeva.1990@gmail.com.

Дидович Светлана Витальевна, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник отдела сельскохозяйственной микробиологии, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295453, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: sv-alex.68@mail.ru.

Зотов Василий Сергеевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Институт биохимии имени А. Н. Баха, ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН»; 119071, Россия, г. Москва, Ленинский проспект, 33, стр. 2; e-mail: algo.consortium@gmail.com.

Pyrkin Vladislav Olegovich, senior laboratory assistant, Bach Institute of Biochemistry, “Federal Research Centre “Fundamentals of Biotechnology” of the Russian Academy of Sciences”; 33 Leninsky prospect, build. 2, Moscow, 119071, Russia; e-mail: vladisluw@yandex.ru.

Khapchaeva Sofya Arsenovna, junior research scientist, algobiotechnology group, Bach Institute of Biochemistry, “Federal Research Centre “Fundamentals of Biotechnology” of the Russian Academy of Sciences”; 33 Leninsky prospect, build. 2, Moscow, 119071, Russia; e-mail: sakhapchaeva.1990@gmail.com.

Didovich Svetlana Vitaliivna, Cand. Sc. (Agr.), senior researcher of Microbiology Department, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150 Kievskaya str., Simferopol, 295493, Russia; e-mail: sv-alex.68@mail.ru.

Zotov Vasily Sergeevich, Cand. Sc. (Biol.), senior researcher, Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Centre «Fundamentals of Biotechnology» of the Russian Academy of Sciences; 33 Leninsky prospect, build. 2, Moscow, 119071, Russia; e-mail: algo.consortium@gmail.com.

Дата поступления в редакцию – 30.04.2018.

Дата принятия к печати – 15.05.2018.