

DOI 10.25637/TVAN2018.04.08.

УДК 631.461:579.64

Мельничук Т. Н.¹, Абдурашитов С. Ф.¹, Андронов Е. Е.², Еговцева А. Ю.¹,
Абдурашитова Э. Р.¹, Гонгало А. А.¹, Турин Е. Н.¹, Зубоченко А. А.¹

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА МИКРОБИОМА ЧЕРНОЗЕМА ЮЖНОГО ПРИ ВЛИЯНИИ СИСТЕМ ЗЕМЛЕДЕЛИЯ И МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ

¹ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»;

²ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии»

Реферат. В настоящее время отмечена ориентация систем земледелия на ресурсосбережение. Развитие прямого посева (No-till) в степной зоне обеспечивает получение стабильного урожая при минимальных затратах. Микробиом почвы чувствителен к воздействию различных факторов, включая и системы земледелия, определяющие активность и направленность биологических процессов в агроценозах. Использование в исследованиях метагеномного подхода позволяет расширить знания о таксономической структуре микробиомов почв при агрогенном на них воздействии. Цель исследований – изучение таксономической структуры почвенного микробиома чернозема южного при различных системах земледелия (традиционная и прямого посева) и применении комплекса микробных препаратов по сравнению с целинной почвой. Исследования проводили в 2018 г. в стационарном опыте по изучению влияния микробных препаратов в условиях традиционной для степной части Крыма и каждой культуры пятипольного севооборота системы земледелия и прямого посева (No-till). Установлены изменения таксономической структуры микробиома чернозема южного под влиянием комплекса микробных препаратов в условиях традиционной системы земледелия и прямого посева. Отмечено увеличение представительства среди доминирующих фил *Acidobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia* в агроценозе и снижение *Actinobacteria*, *Chloroflexi*, *Gemmatimonadetes* и *Planctomycetes* по сравнению с целинной почвой. В прокариотном биоме чернозема южного определено 455 семейств. Максимальная доля семейства *Chthoniobacteraceae* отмечена при прямом посеве 2,5 % и применение микробных препаратов способствовало её увеличению до 3,0 %, что является показателем богатой среды и благоприятных почвенных условий, тогда как при традиционной системе земледелия уменьшение составило 2,2 и 3,5 раза соответственно. Наиболее высокий уровень бета-разнообразия установлен в условиях прямого посева. Индекс бета-разнообразия Уиттакера уменьшился на 28,6 при традиционной системе по сравнению с целинной почвой и в 1,7 раза – с прямым посевом. Применение комплекса микробных препаратов способствовало увеличению данного индекса на 36,0 % в условиях традиционной системы и снижению на 9,7 % при прямом посеве.

Ключевые слова: микробиом, высокопроизводительное секвенирование, 16S рРНК, чернозем южный (*Chernozems*), комплекс микробных препаратов, традиционная система земледелия, прямой посев (*No-till*), целинная почва.

Введение

Современные методологии возделывания почвы требуют пересмотра в связи с проявившимися экологическими и экономическими проблемами. Традиционные системы земледелия, основанные на способах интенсивной обработки почвы, не обеспечивают оптимальных условий повышения её плодородия и влагообеспеченности прикорневого слоя почвы. Кроме того, наносят непоправимый вред почвенной микробиоте, усиливая эрозию и деградацию почвы [1, 2].

В настоящее время отмечена ориентация систем земледелия на ресурсосбережение. Развитие прямого посева (No-till) в степной зоне обеспечивает получение стабильного урожая при минимальных затратах, сохраняя при этом плодородие почвы, и является логическим продолжением существующей системы земледелия. Многократное применение гербицидов при прямом посеве является существенным недостатком в экологической целесообразности системы. Задачу воспроизводства почвенного плодородия и повышения эффективности агроэкосистем во многом можно решить за счет приемов биологизации земледелия [3, 4], включая и применение микробных препаратов.

Мировой опыт ведения земледелия показывает, что система земледелия прямого посева без обработки почвы (No-till) может эффективно использоваться в сельскохозяйственном производстве [1, 5, 6]. Поэтому изучение целесообразности ее применения в засушливой зоне Республики Крым, где выпадает недостаточно осадков и возделывается ограниченное количество культур, весьма актуально и своевременно.

Микробиом почвы чувствителен к воздействию различных факторов, включая и системы земледелия, определяющие активность и направленность биологических процессов в агроценозах [7–9]. Состояние микробиоценоза почв дает объективную оценку их воздействия на агроэкосистемы [10]. Многие микроорганизмы являются биоиндикаторами состояния почв и направленности происходящих в них процессов [11].

В настоящее время применение способа высокопроизводительного секвенирования гена 16S рРНК позволяет расширить знания о таксономической структуре микробиомов различных экологических ниш. Исследования, связанные с изучением состава микробных сообществ почвы, перспективны в решении задач экологической методологии по мониторингу потенциальных рисков различных факторов [12, 13] и прогнозирования возможности оптимизации и биологизации систем земледелия [14, 15], в частности при No-till [5].

Цель исследований – изучение таксономической структуры почвенного микробиома чернозема южного при различных системах земледелия (традиционная и прямого посева) и применении комплекса микробных препаратов по сравнению с целинной почвой.

Материалы и методы исследований

Стационарный опыт по сравнительному изучению влияния микробных препаратов в условиях традиционной для степной части Крыма и каждой культуры пятипольного севооборота системе земледелия и прямого посева (No-till) заложен в 2015 г. на полях ФГБУН «НИИСХ Крыма» (с. Клепинино Красногвардейского района, 45°31'47.3"N 34°11'48.0"E). Севооборот при традиционной системе земледелия включал чистый пар, пшеницу озимую, лён масличный, ячмень озимый, сорго зерновое; при No-till имеется одно отличие – в первом поле горох посевной. Комплекс микробных препаратов (КМП), разработанный под каждую культуру севооборота, применяли путем инокуляции семян. Образцы отобраны в июне 2018 г. с последнего поля севооборота.

Почва – чернозем южный малогумусный на лессовидных легких глинах. Мощность гумусового горизонта до 40 см, всего гумусового слоя – до 70 см. Количество гумуса (по Тюрину) – 2,00–2,20 %, подвижного фосфора (по Мачигину) – 4,00–4,20, обменного калия – до 40 мг на 100 г почвы.

Гранулометрический состав черноземов южных крупнолегкоглинистый пылевато-иловатый. Количество водостойких агрегатов размером более 0,25 мм в гумусовом горизонте целинных почв составляет 72–77 %. Содержание агрономически ценных агрегатов размером более 1 мм составляет 33–42 %.

Плотность сложения (объемная масса) в пахотном слое 1,14–1,28, а в подпахотном – 1,33–1,48 г/см³. Изменение показателей общей пористости происходит возвратно-пропорционально изменению плотности сложения. Общая пористость верхних горизонтов составляет 50,2 %, что по агрономической оценке является удовлетворительным показателем. Водоудерживающее свойство почв достаточно высокое, они могут накапливать больше 300–350 мм влаги, но запасы продуктивной влаги, доступной для растений, всего лишь 160–180 мм.

В качестве эталона отобраны образцы участка целинной степи, доля злаковых компонентов на котором составляет около 80 %. На поверхности почвы развит мощный слой подстилки, толщина которого достигает в среднем 15 см.

Климат степной зоны засушливый, гидротермический коэффициент (ГТК) составляет 0,7, умеренно жаркий, с умеренно мягкой зимой. Среднегодовая температура воздуха 9,7–10,5 °С. В июле, в полдень, температура повышается до 28,9–30,2 °С, а в некоторые годы – до 40–42 °С. Средний минимум годовых температур находится в пределах от –19 до –23 °С. Зимой возможно понижение температуры до –31 °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. Преобладают восточные (22 %) и северо-восточные (20 %) ветры. Сильный ветер бывает 28–30 дней в году. Количество дней с суховеями – 10–19. Вероятность засух для большей части территории составляет 40–50 % лет [16].

Для изучения таксономической структуры микробиома почвы использовали высокопроизводительное секвенирование библиотек гена 16S рНК. ДНК из почвенных образцов выделена с помощью набора PowerSoil DNA Isolation Kit (Mo-Bio, США) по протоколу производителя для гомогенизации образцов использовали Vortex Genee-2 (Mo-Bio, США). Очистку ДНК проводили электрофоретически с последующей экстракцией из агарозного геля [17]. Очищенную ДНК использовали в качестве матрицы в реакции ПЦР при создании ампликонных библиотек также применяли универсальные праймеры к вариабельному участку V4 гена 16S рНК – F515 (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA) и R806 (GGACTACVSGGGTATCTAAT) [18]. Секвенировали с помощью MySeq (Illumina, США) на базе ресурсного центра «Генетические технологии» Санкт-Петербургского университета. Использован таксономический и статистический анализ полученных результатов с использованием пакетов программ Bioconda [19], QIIME [20], PAST Paleo [21] и базы данных Ribosomal Database Project (RDP).

Результаты и их обсуждение

Исследования микроорганизмов различных эколого-трофических групп чернозема южного исследуемого севооборота при использовании общепринятых методов показали, что системы земледелия влияют на численность микроорганизмов, микробные препараты способствуют её увеличению и биологической активности почвы [22]. Использование в исследованиях метагеномного подхода позволяет учитывать наряду с культивируемыми и некультивируемые микроорганизмы.

По результатам высокопроизводительного секвенирования библиотек гена 16S рНК в черноземе южном представители домена *Bacteria* доминировали над *Archaea*, что характерно для черноземов (рисунок 1). При этом доля архей значительно выше (в 1,5 раза) при традиционной системе земледелия, чем при прямом посеве, что согласуется с опубликованными данными исследований черноземов [11]. Применение комплекса микробных препаратов способствовало увеличению их доли при обеих системах земледелия. Среди мажорных компонентов

микробиома выявлены представители неатрибутируемого домена прокариот, доля которого составляла 2,8–3,5 %.

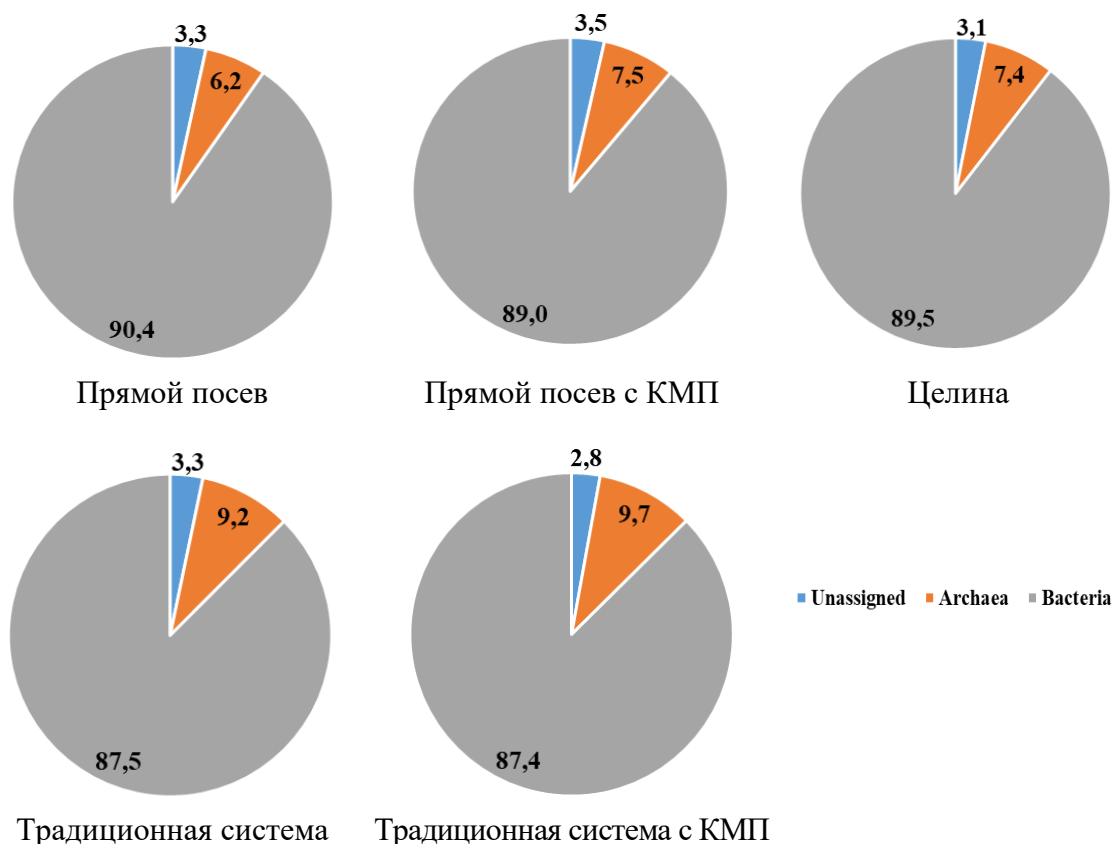


Рисунок 1 – Представленность доменов прокариот чернозема южного под влиянием комплекса микробных препаратов и систем земледелия по данным анализа метагенома 16S рРНК

Примечание. Unassigned – неатрибутированные таксоны.

Доминировали среди прокариот чернозема южного представители 10 фил, доля которых составила более 1 %. Домен археи представлен *Crenarchaeota*, бактерии – *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia*. Представленность *Actinobacteria* была максимальной среди фил, а среди исследуемых образцов – в целинной почве (35,4 %). Доля их в условиях прямого посева составила 27,9 % и увеличивалась до 30,4 % при внесении КМП, тогда как при традиционной системе земледелия отмечено уменьшение с 29,1 до 26,3 %. Такое доминирование её представителей может быть связано со сроками отбора, учитывая их приспособленность к сухим условиям [23, 24]. Доля филы *Proteobacteria* составила в целине 23,1 %, на таком же уровне при прямом посева и несколько выше – 26,4 % при традиционной системе и 25,6 % с применением КМП. Наименьшее количество в образцах целины было представителей филы *Bacteroidetes* – 6,2 %, их доля при обеих системах земледелия оставалась на одном уровне. Применение комплекса микробных препаратов способствовало при прямом посева снижению их доли с 10,2 до 8,2 %, а при традиционной системе – ее увеличению с 9,9 до 11,1 %.

Археи, прежде всего *Crenarchaeota*, распространены в почве, их представленность выше в почвах с более низкими отношениями C:N [18]. Доля архей филы *Crenarchaeota* в целинной почве составила 7,3 % и близкой к ней была почва

прямого посева с применением КМП (7,5 %), при 6,2 % без КМП. В условиях традиционной системы представленность этой филы была выше и составила 9,2 %, также отмечено увеличение с применением КМП (9,7 %).

Среди экологически значимых функций ацидобактерий известна их способность реагировать на содержание макро- и микроэлементов почвы и её кислотность [25]. Самая низкая представленность была у филы *Acidobacteria* и составляла в целинной почве 5,4 %. При традиционной системе отмечено увеличение их доли с 6,4 до 7,1 % при внесении КМП. Обратные тенденции её снижения – с 7,2 до 6,2 % установлены на прямом посеве.

Представленность филы *Chloroflexi* на максимальном уровне отмечена в целинной почве (5,1 %). Системы земледелия способствовали снижению их доли до 3,7 %, применение КМП на прямом посеве показало увеличение до 4,1 %, тогда как на традиционной системе выявлены тенденции к снижению.

Доля представителей филы *Gemmatimonadetes* находилась на одном уровне на участках целины и прямого посева (4,1–4,5 %), снижалась в почве традиционной системы (3,4 и 3,2 %). Возможно, это связано с более резкими перепадами влажности в почве, поскольку известно, что эти бактерии реагируют снижением на такие условия [6].

Бактерии филы *Planctomycetes* участвуют в разложении растительных остатков и чувствительны к рН почвы [26, 27]. В целинной почве их представленность была максимальной и составила 4,3 %, при традиционной системе земледелия – 3,8 % и 3,0 % – при прямом посеве.

Известно, что фила *Firmicutes* в пахотных почвах представлена бактериями, способными разлагать сложные органические вещества [28]. Представленность филы *Firmicutes* в наших исследованиях отмечена на одном уровне (около 2,5 %) в целинной почве и при традиционной системе земледелия, в условиях прямого посева её доля составила 3,5 %, применение комплекса микробных препаратов способствовало увеличению до 3,9 %.

Сообщества представителей филы *Verrucomicrobia* являются индикаторами изменений количественного состава макроэлементов почвы [29]. Представленность этой филы в образцах целины, прямого посева и его с КМП находилась в близких значениях – 1,4; 1,8; 1,6 % соответственно. В условиях традиционной системы земледелия их доля составила 3,6 %, а с применением КМП ещё выше – 4,4 %. Агрохимический анализ показал значительное превышение содержания NO_3 и P_2O_5 в почве традиционной системы земледелия, что и повлияло на представленность *Verrucomicrobia*.

Среди минорных компонентов прокариотного ризосферного биома следует отметить, что доля представителей *Euryarchaeota* в условиях прямого посева с КМП была выше в 1,9 раза, чем без КМП, и в 3,2 раза, чем в целине, тогда как при традиционной системе земледелия их не выявлено. Представители бактериальной филы AD3 выявлено только при применении КМП в традиционной системе земледелия, где их доля составила 0,002 %, тогда как *Fusobacteria* – только в целинной почве. Представительство *Chlamydiae* в целине составило 0,007 %, при прямом посева оно увеличилось в 2,1 раза, в условиях традиционной системы – в 10,8 раза.

В прокариотном биоме чернозема южного определено 455 семейств (рисунок 2).

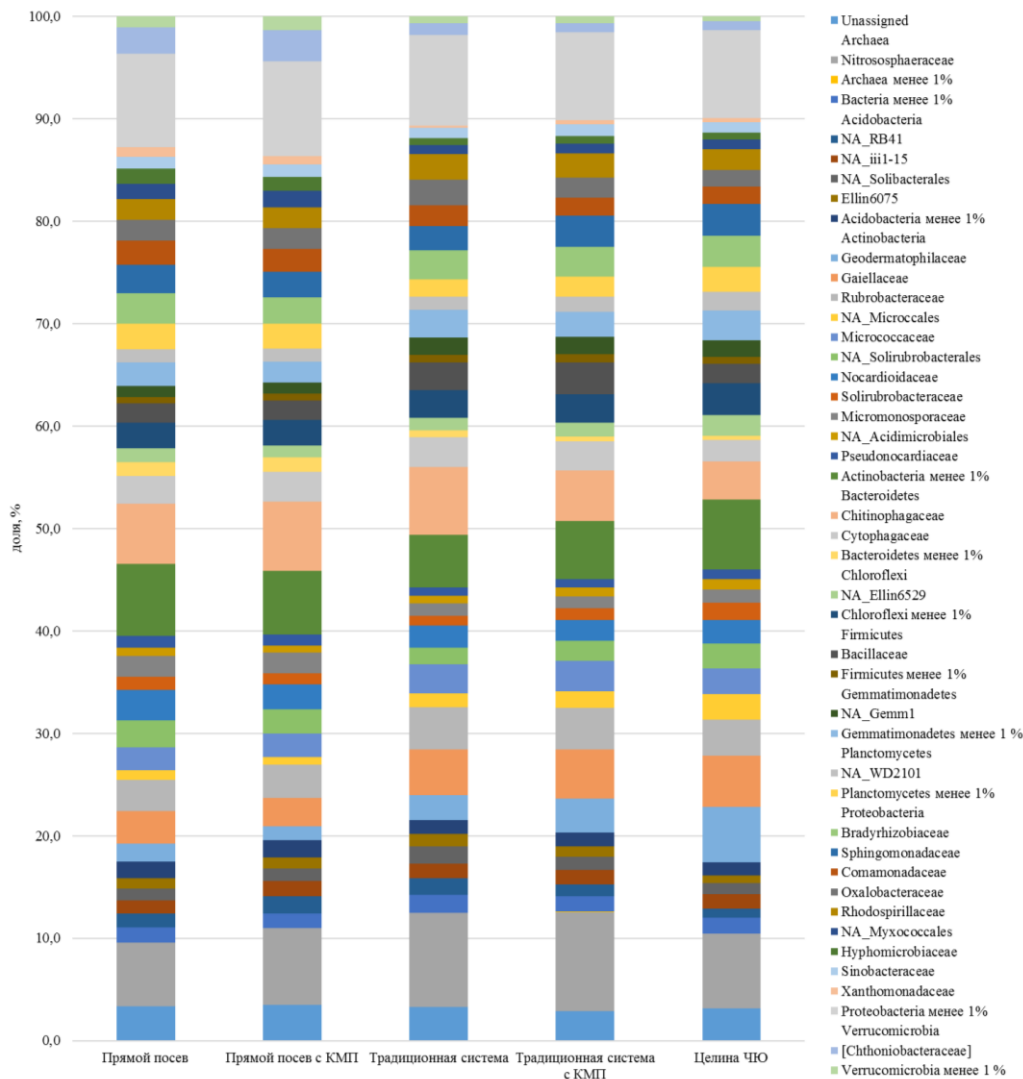


Рисунок 2 – Таксономическая структура на уровне семейств прокариотного биота чернозема южного под влиянием комплекса микробных препаратов и систем земледелия по данным анализа метагенома 16S рРНК

Примечание. NA – неатрибутированные семейства, Other – другие последовательности; числовое значение при NA и Other – номер по порядку всех определенных ОТЕ (операционных таксономических единиц) в данном опыте.

Среди микроорганизмов-индикаторов почвенных условий при агрогенном воздействии присутствуют представители семейств *Micrococcaceae*, *Geodermatophilaceae* и *Rhodospirillaceae*, доля которых увеличивается в пахотных почвах по сравнению с залежью [11]. Результаты исследований чернозема южного стационарного опыта показали также увеличение доли представителей этих таксонов при традиционной системе земледелия по сравнению с прямым посевом. Применение микробных препаратов способствовало увеличению доли *Geodermatophilaceae* и *Rhodospirillaceae*, при традиционной системе земледелия, доля *Micrococcaceae* увеличивалась при обеих системах земледелия. Максимальная доля *Sphingomonadaceae*, также относящихся к этой группе индикаторов, отмечена при традиционной системе земледелия только под влиянием микробных препаратов и составила 3,0 %, как и в целине, при 2,2 % в условиях прямого посева. Представители *Gemmatimonadetes* также преобладают в пахотных почвах по сравнению с залежью [11]. В черноземе южном доля неатрибутируемого семейства этой филы была в 1,5 раза

ниже в условиях прямого посева, что согласуется с данными М. Favaz относительно влияния этой системы земледелия на содержание *Gemmatimonadetes* в почве [6].

К группе микроорганизмов-индикаторов почвенных условий при агрогенном воздействии, доля которых уменьшается в пахотных почвах по сравнению с залежью, принадлежат представители семейства *Huphomicriaceae* [11]. В черноземе южном их представленность в условиях традиционной системы земледелия в 2,2 раза ниже, чем при прямом посеве, где она составила 1,4 %.

Группу коровых (консервативных) компонентов черноземных почв составляют многочисленные семейства, среди них *Sinobacteraceae* и *Bradyrhizobiaceae*, доля которых не изменялась под влиянием систем земледелия в черноземе южном, тогда как доля *Comamonadaceae* и *Nocardioidaceae* увеличивалась при прямом посеве.

Увеличением на внесение минеральных удобрений реагируют семейства *Nitrososphaeraceae*, *Chitinophagaceae* и *Bacillaceae* [11]. Наиболее высокое содержание азота и фосфора в почве при традиционной системе земледелия, как и представительство этих семейств, отмечено в черноземе южном.

Семейство *Rubrobacteraceae* является индикатором экстремальных условий в почве. В стационарном опыте доля представителей этого семейства в черноземе южном была максимальной при традиционной системе земледелия и составила 4,1 %, тогда как в условиях прямого посева представленность этого семейства была меньшей и составила 3,1 %, в целине – 3,5 %.

Показателем богатой среды и благоприятных почвенных условий служат бактерии семейства *Chthoniobacteraceae*. Максимальная доля их представителей в черноземе южном отмечена при прямом посеве 2,5 % и применение микробных препаратов способствовало её увеличению до 3,0 %, тогда как при традиционной системе земледелия уменьшение составило в 2,2 и 3,5 раза соответственно.

Количество выявленных семейств по обеим системам земледелия и применению КМП отличалось незначительно от показателей в целине и варьировало в пределах 307,0–321,0 ОТЕ (таблица 1). В условиях этого года система прямого посева имела более стабильную популяционную структуру, чем традиционная. Об этом свидетельствует рассчитанное альфа-разнообразие на уровне семейств, представленное показателями индекса Шеннона, где отмечено значительное превышение в условиях прямого посева, по сравнению с традиционной системой, при этом незначительно отличаясь от целины. Ежегодное применение активных штаммов полезных бактерий способствовало изменению бета-разнообразия чернозема южного: снижению при прямом посеве на 9,7 % и увеличению при традиционной системе земледелия на 36,0 %.

Таблица 1 – Индексы микробного разнообразия семейств прокариот в черноземе южном под влиянием комплекса микробных препаратов и систем земледелия

Индекс	ПП	ПП с КМП	ТС	ТС с КМП	Целина
Количество ОТЕ	321,0 ± 24,0	312,0 ± 17,9	307,0 ± 12,1	309,3 ± 20,1	317,7 ± 21,3
ИШеннона	4,33 ± 0,06	4,29 ± 0,09	4,19 ± 0,03	4,19 ± 0,01	4,25 ± 0,03
Выравненность	0,24 ± 0,01	0,24 ± 0,02	0,22 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,22 ± 0,01
И _{Уиттакера}	0,124	0,112	0,075	0,102	0,105

Примечание. ПП – прямой посев, ТС – традиционная система земледелия, КМП – комплекс микробных препаратов.

Индекс бета-разнообразия Уиттакера уменьшился на 28,6 % при традиционной системе по сравнению с целинной почвой и в 1,7 раза – с прямым посевом.

Применение комплекса микробных препаратов способствовало его увеличению на 36 % в условиях традиционной системы и снижению на 9,7 % при прямом посеве.

Выводы

Установлены изменения таксономической структуры микробиома чернозема южного под влиянием комплекса микробных препаратов в условиях традиционной системы земледелия и прямого посева. Отмечено увеличение представительства среди доминирующих фил *Acidobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia* в агроценозе и снижение *Actinobacteria*, *Chloroflexi*, *Gemmatimonadetes* и *Planctomycetes* по сравнению с целинной почвой.

В прокариотном биоме чернозема южного определено 455 семейств. Максимальная доля семейства *Chthoniobacteraceae* отмечена при прямом посеве 2,5 % и применение микробных препаратов способствовало её увеличению до 3,0 %, что является показателем богатой среды и благоприятных почвенных условий, тогда как при традиционной системе земледелия уменьшение составило 2,2 и 3,5 раза соответственно.

Наиболее высокий уровень бета-разнообразия установлен в условиях прямого посева. Индекс бета-разнообразия Уиттакера уменьшился на 28,6 при традиционной системе по сравнению с целинной почвой и в 1,7 раза – с прямым посевом. Применение комплекса микробных препаратов способствовало увеличению данного индекса на 36,0 % в условиях традиционной системы и снижению на 9,7 % при прямом посеве.

Работа выполнена в рамках государственного задания № 0834-2015-0004 и поддержана грантом РФФИ 18-416-910009 р_а.

Литература

1. Halde C., Gagne S., Charles A., Lawley Y. Organic No-Till Systems in Eastern Canada: a Review // Agriculture-Basel. 2017. No. 4. 36 p.
2. Петрова Л. Н., Дридигер В. К., Кащаев Е. А. Влияние технологий возделывания сельскохозяйственных культур на содержание продуктивной влаги и плотность почвы в севообороте // Земледелие. № 5. 2015. С. 16–18.
3. Осенний Н. Г., Ильин А. В., Веселова Л. С. Перспективы развития органического земледелия в Республике Крым // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2017. № 3 (65). С. 11–13.
4. Кирюшин В. И. О Белгородской модели модернизации сельского хозяйства и биологизации земледелия // Земледелие. 2013. № 1. С. 3–6.
5. Schmidt R., Gravuer K., Bossange A. V., Mitchell J., Scow K. Long-term use of cover crops and no-till shift soil microbial community life strategies in agricultural soil // Plos one. 2018. Vol. 13 (2). P. 1–19. [Электронный ресурс]. DOI:org/10.1371/journal.pone.0192953 (дата обращения 04.12.2018).
6. Favaz M. N. Reveling the ecological role of gemmatimonadetes through cultivation and molecular analysis of agricultural soils: master's thesis. University of Tennessee, 2013. 113 p. [Электронный ресурс]. Точка доступа: https://trace.tennessee.edu/utk_gradthes/1652 (дата обращения 04.12.2018).
7. Mathew R. P., Feng Y., Githinji L., Ankumah R., Balkcom K. S. Impact of no-tillage and conventional tillagesystems on soil microbial communities // Applied and Environmental Soil Science. 2012. Vol. 2012.10 p. [Электронный ресурс]. DOI:org/10.1155/2012/548620 (дата обращения 04.12.2018).
8. Tikhonovich I. A., Provorov N. A. Microbiology is the basis of sustainable agriculture: an opinion // Annals of Applied Biology. Vol. 159. 2011. No. 2. P. 155–168.
9. Choudhary M., Sharma P. C., Jat H. S., Dash A., Rajashekar B., McDonald A. J., Jat M. L. Soil bacterial diversity under conservation agriculture-based cereal systems in Indo-Gangetic Plains // 3 Biotech. 2018. Vol. 8. No. 7. P. 304. [Электронный ресурс]. DOI: 10.1007/s13205-018-1317-9 (дата обращения 04.12.2018).
10. Bulgarelli D., Schlaeppi K., Spaepen S., Ver Loren Van Themaat E., Schulze-Lefert P. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants // Annu. Rev. Plant Biol. 2013. Vol. 64. P. 807–838. [Электронный ресурс]. DOI: 10.1146/annurev-arplant-050312-120106 (дата обращения 04.12.2018).
11. Основные достижения и перспективы почвенной метагеномики // Под ред. Першиной Е. В., Кутовой О. В., Когут Б. М., Андропова Е. Е. СПб.: Информ-Навигатор, 2017. 288 с.

12. Feng G., Xie T., Wang X., Bai J., Tang L., Zhao H., Wei W., Wang M., Zhao Y. Metagenomic analysis of microbial community and function involved in cd-contaminated soil // BMC Microbiology. 2018. Vol. 18 (1):11. P. 1–13. [Электронный ресурс]. DOI: org/10.1186/s12866-018-1152-5 (дата обращения 04.12.2018).
13. Fierer N., Leff J. W., Adams B. J., Nielsen U. N., Bates S. T., Lauber C. L., Owens S., Gilbert J. A., Wall D. H., Caporaso J. G. Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2012. Vol. 109. No. 52. P. 21390–21395. [Электронный ресурс]. DOI: org/10.1073/pnas.1215210110 (дата обращения 04.12.2018).
14. Свиридова О. В., Воробьев Н. И., Проворов Н. А., Орлова О. В., Русакова И. В., Андронов Е. Е., Пищик В. Н., Попов А. А., Круглов Ю. В. Выравнивание почвенных условий для развития растений при деструкции растительных остатков микробными препаратами // Сельскохозяйственная биология. 2016. Т. 51. № 5. С. 664–672. [Электронный ресурс]. DOI: 10.15389/agrobiology.2016.5.664rus (дата обращения 04.12.2018).
15. 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-rPHK // Сельскохозяйственная биология. 2013. № 3. С. 100–109.
16. Паштецкий В. С. Научные основы оптимизации агроландшафтов и эффективного аграрного производства Республики Крым. Симферополь: ИТ «Ариал», 2015. 276 с.
17. Андронов Е. Е., Пинаев А. Г., Першина Е. В. Выделение ДНК из образцов почвы. СПб.: ПК «Объединение Вента», 2011. 27 с.
18. Bates S. T., Berg-Lyons D., Caporaso J. G., Walters W. A., Knight R., Fierer N. Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soil // ISME J. 2010. Vol. 5. P. 908–917.
19. Grüning B., Dale R., Sjödin A., Chapman B. A., Rowe J., Tomkins-Tinch C. H., Valieris R., Bioconda Team, Köster J. Bioconda: Sustainable and Comprehensive Software Distribution for the Life Sciences // Nature Methods. 2018. Vol. 15. P. 475–476. [Электронный ресурс]. Точка доступа: [http://portal.research.lu.se/portal/en/publications/bioconda\(3dcb16b0-2b49-4fdf-82cf477e741c7f58\)/export.html](http://portal.research.lu.se/portal/en/publications/bioconda(3dcb16b0-2b49-4fdf-82cf477e741c7f58)/export.html) (дата обращения 04.12.2018).
20. Caporaso J. G., Kuczynski J., Stombaugh J., Bittinger K., Bushman F. D., Costello E. K., Fierer N., Pena 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., Yatsunenkov T., Zaneveld J., Knight R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data // Nature methods. 2010. Vol. 7. No. 5. 335 p. [Электронный ресурс]. DOI: 10.1038/nmeth.f.303 (дата обращения 04.12.2018).
21. Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D., PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis // Palaeontologia Electronica. 2001. Vol. 4. No. 1. 9 p.
22. Мельничук Т. Н., Еговцева А. Ю., Гонгало А. А., Абдурашитова Э. Р., Абдурашитов С. Ф., Женченко К. Г. Влияние комплекса микробных препаратов на численность микроорганизмов ризосферы гороха // Известия Оренбургского ГАУ. 2017. № 4 (66). С. 235–237.
23. Rajares S., Campo J., Bohannon B. J. M., Etchevers J. D. Environmental controls on soil microbial communities in a seasonally dry tropical forest // Appl. Environ. Microbiol. 2018. Vol. 84. No. 17. [Электронный ресурс]. DOI: 10.1128/AEM.00342-18 (дата обращения 04.12.2018).
24. Манучарова Н. А., Власенко А. Н., Менько Е. В., Звягинцев Д. Г. Специфика хитиноподобного микробного комплекса в почвах, инкубируемых при различных температурах // Микробиология. 2011. Т. 80. № 2. С. 219–229.
25. Kielak A. M., Barreto C. C., Kowalchuk G. A., Van Veen J. A., Kuramae E. E. The ecology of Acidobacteria: moving beyond genes and genomes // Frontiers in Microbiology. 2016. Vol. 7. 744 p. [Электронный ресурс]. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00744 (дата обращения 04.12.2018).
26. Ivanova A. A., Philippov D. A., Kulichevskaya I. S., Dedysh S. N. Distinct diversity patterns of Planctomycetes associated with the freshwater macrophyte *Nuphar lutea* (L.) Smith // Antonie van Leeuwenhoek. 2018. Vol. 111. No. 6. P. 811–823.
27. Constancias F., Saby N. P. A., Terrat S., Dequiedt S., Horrigue W., Nowak V., Guillemin J. P., Biju Duval L., Prevost-Bour C. N., Ranjard L. Contrasting spatial patterns and ecological attributes of soil bacterial and archaeal taxa across a landscape // Microbiology Open. 2015. Vol. 4. No. 3. P. 518–531. [Электронный ресурс]. Точка доступа: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10482-015-0530-3> (дата обращения 04.12.2018).
28. Hartmann M., Frey B., Mayer J., Mäder P., Widmer F. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming // The ISME journal. 2015. Vol. 9. No. 5. 1177 p.
29. Navarrete A. A., Soares T., Rossetto R., Van Veen J. A., Tsai S. M., Kura E. E. Verrucomicrobial community structure and abundance as indicators for changes in chemical factors linked to soil fertility // Antonie van Leeuwenhoek. 2015. Vol. 108. No. 3. P. 741–752.

References

1. Halde C., Gagne S., Charles A., Lawley Y. Organic No-Till Systems in Eastern Canada: a Review // *Agriculture-Basel*. 2017. No. 4. 36 p.
2. Petrova L. N., Dridiger V. K. Influence of crops cultivation technologies on productive moisture content and soil density in crop rotation // *Crop Husbandry*. 2015. No. 5. P. 16–18.
3. Osseny N. G., Ilyin A. V., Veselova L. S. Prospects for the development of organic farming in the Republic of Crimea // *Izvestia Orenburg Stat Agrarian University*. 2017. No. 3 (65). P. 11–13.
4. Kiryushin V. I. On the Belgorod model of agricultural modernization and agricultural biologization // *Farming*. 2013. No. 1. P. 3–6.
5. Schmidt R., Gravuer K., Bossange A. V., Mitchell J., Scow K. Long-term use of cover crops and no-till shift soil microbial community life strategies in agricultural soil // *Plos one*. 2018. P. 1–19. [Electronic resource]. DOI:org/10.1371/journal.pone.0192953 (reference's date 04.12.2018).
6. Favaz M. N. Reveling the ecological role of gemmatimonadetes through cultivation and molecular analysis of agricultural soils: master's thesis. University of Tennessee. 2013. 113 p. [Electronic resource]. Access point: https://trace.tennessee.edu/utk_gradthes/1652 (reference's date 04.12.2018).
7. Mathew R. P., Feng Y., Githinji L., Ankumah R., Balkcom K. S. Impact of no-tillage and conventional tillagesystems on soil microbial communities // *Applied and Environmental Soil Science*. 2012. Vol. 2012. 10 p. [Electronic resource]. DOI:org/10.1155/2012/548620 (reference's date 04.12.2018).
8. Tikhonovich I. A., Provorov N. A. Microbiology is the basis of sustainable agriculture: an opinion // *Annals of Applied Biology*. 2011. Vol. 159. No. 2. P. 155–168.
9. Choudhary M., Sharma P. C., Jat H. S., Dash A., Rajashekar B., McDonald A. J., Jat M. L. Soil bacterial diversity under conservation agriculture-based cereal systems in Indo-Gangetic Plains // *3 Biotech*. 2018. Vol. 8. No. 7. P. 304. [Electronic resource]. DOI: 10.1007/s13205-018-1317-9 (reference's date 04.12.2018).
10. Bulgarelli D., Schlaeppi K., Spaepen S., Ver Loren Van Themaat E., Schulze-Lefert P. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2013. Vol. 64. P. 807–838. [Electronic resource]. DOI: 10.1146/annurev-arplant-050312-120106 (reference's date 04.12.2018).
11. The main achievements and prospects of soil metagenomics // Ed. by Pershina E. V., Kutovaya O. V., Kogut B. M., Andronov E. E. Saint-Petersburg: Inform Navigator, 2017. 288 p.
12. Feng G., Xie T., Wang X., Bai J., Tang L., Zhao H., Wei W., Wang M., Zhao Y. Metagenomic analysis of microbial community and function involved in cd-contaminated soil // *BMC Microbiology*. 2018. P. 1–13. [Electronic resource]. DOI: org/10.1186/s12866-018-1152-5 (reference's date 04.12.2018).
13. Fierer N., Leff J. W., Adams B. J., Nielsen U. N., Bates S. T., Lauber C. L., Owens S., Gilbert J. A., Wall D. H., Caporaso J. G. Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012. Vol. 109. No. 52. P. 21390–21395. [Electronic resource]. DOI: org/10.1073/pnas.1215210110 (reference's date 04.12.2018).
14. Sviridova O. V., Vorobyov N. I., Provorov N. A., Orlova O. V., Rusakova I. V., Andronov E. E., Pishchik V. N., Popov A. A., Kruglov Y. V. The alignment of soil's conditions for plant's development during microbial destruction of plant's residues by microbial preparations. *Biology agricultural*. 2016. Vol. 51. No. 5. P. 664–672. [Electronic resource]. DOI: 10.15389/agrobiology.2016.5.664rus (reference's date 04.12.2018).
15. Chirak E. L., Pershina E. V., Dolnik A. S., Kutovaya O. V., Vasilenko E. S., Kogut B. M., Merzlyakova Ya. V., Andronov E. E. Taxonomic structure of microbial communities in soils of various types according to high-throughput sequencing of the 16S-rRNA gene libraries // *Agricultural Biology*. 2013. No. 3. P. 100–109.
16. Pashetsky V. S. Scientific basis for the optimization of agricultural landscapes and efficient agricultural production of the Republic of Crimea. Simferopol: Publishing house "Arial", 2015. 276 p.
17. Andronov E. E., Pinaev A. G., Pershina E. V. DNA extraction from soil samples. Saint-Petersburg: Publishing house "Venta Association", 2011. 27 p.
18. Bates S. T., Berg-Lyons D., Caporaso J. G., Walters W. A., Knight R., Fierer N. Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soil // *ISME J*. 2010. Vol. 5. P. 908–917.
19. Grünig B., Dale R., Sjödin A., Chapman B.A., Rowe J., Tomkins-Tinch C.H., Valieris R., the Bioconda Team, Köster J. Bioconda: Sustainable and Comprehensive Software Distribution for the Life Sciences // *Nature Methods*. 2018. Vol. 15. P. 475–476.
20. Caporaso J. G., Kuczynski J., Stombaugh J., Bittinger K., Bushman F. D., Costello E. K., Fierer N., Pena 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. Vol. 7. No. 5. P. 335. [Electronic resource]. DOI: 10.1038/nmeth.f.303 (reference's date 04.12.2018).
21. Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis // *Palaeontologia Electronica*. 2001. Vol. 4. No. 1. 9 p.
22. Melnichuk T. N., Yegovtseva A. Yu., Gongalo A. A., Abdurashytova E. R., Abdurashitov S. F., Zhenchenko K. G. Influence of the complex of microbial preparation on the numbers of microorganisms in the pea rhizosphere. // *Izvestia Orenburg Stat Agrarian University*. 2017. No. 4 (66). P. 235–237.

23. Pajares S., Campo J., Bohannan B. J. M., Etchevers J. D. Environmental controls on soil microbial communities in a seasonally dry tropical forest // Appl. Environ. Microbiol. 2018. Vol. 84. No. 17. [Electronic resource]. DOI: 10.1128/AEM.00342-18 (reference's date 04.12.2018).
24. Manucharova N. A., Vlasenko A. N., Menko E. V., Zvyagintsev D. G. Specificity of the chitinolytic microbial complex in soils incubated at different temperatures // Microbiology. 2011. Vol. 80. No. 2. P. 219–229.
25. Kielak A. M., Barreto C. C., Kowalchuk G. A., Van Veen J. A., Kuramae E. E. The ecology of Acidobacteria: moving beyond genes and genomes // Frontiers in Microbiology. Vol. 7. 2016. 744 p. [Electronic resource]. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00744 (reference's date 04.12.2018).
26. Ivanova A. A., Philippov D. A., Kulichevskaya I. S., Dedysh S. N. Distinct diversity patterns of Planctomycetes associated with the freshwater macrophyte *Nuphar lutea* (L.) Smith // Antonie van Leeuwenhoek. 2018. Vol. 111. No. 6. P. 811–823.
27. Constancias F., Saby N. P. A., Terrat S., Dequiedt S., Horrigue W., Nowak V., Guillemin J. P., Biju Duval L., Prevost-Bour C. N., Ranjard L. Contrasting spatial patterns and ecological attributes of soil bacterial and archaeal taxa across a landscape // Microbiology Open. 2015. Vol. 4. No. 3. P. 518–531.
28. Hartmann M., Frey B., Mayer J., Mäder P., Widmer F. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming // The ISME journal. 2015. Vol. 9. No. 5. 1177 p.
29. Navarrete A. A., Soares T., Rossetto R., Van Veen J. A., Tsai S. M., Kura E. E. Verrucomicrobial community structure and abundance as indicators for changes in chemical factors linked to soil fertility // Antonie van Leeuwenhoek. 2015. Vol. 108. No. 3. P. 741–752.

UDC 631.461: 579.64

Melnichuk T. N., Abdurashytov S. F., Andronov E. E., Egovtseva A. Yu.,
Abdurashytova E. R., Gongalo A. A., Turin E. N., Zubochenko A. A.

CHANGES IN THE COMPOSITION OF THE SOUTHERN CHERNOZEMS SOIL MICROBIOME UNDER THE INFLUENCE OF FARMING SYSTEMS AND MICROBIAL PREPARATIONS

Summary. *The orientation of farming systems to resource conservation has been noted. Currently, the development of direct sowing (No-till) in the Steppe zone provides stable crop yield at minimum cost. The soil microbiome is sensitive to the effects of various factors including farming systems, which determine the activity and direction of biological processes in agrocenoses. The use of the metagenomic approach in research allows expanding our knowledge of the taxonomic structure of soil microbiomes under agrogenic effects on them. The purpose of the research was to study the taxonomic structure of the soil microbiome of southern chernozems under different farming systems (traditional and direct sowing) and use of complex of microbial preparations in comparison with virgin soil. Investigations were carried out in 2018 in the stationary experiment to study the effect of microbial preparations under the conditions of traditional farming system and direct seeding (No-till). Changes in the taxonomic structure of southern chernozem under the influence of complex of microbial preparations under the conditions of the traditional farming system and direct seeding had been established. The increase in the representation among the dominant phyla Acidobacteria, Bacteroidetes, Proteobacteria and Verrucomicrobia in the agrocenosis and the decrease in Actinobacteria, Chloroflexi, Gemmatimonadetes and Planctomycetes in comparison with the virgin soil was noted. In the prokaryotic biome of the southern chernozem, 455 families had been identified. The maximum proportion of the Chthoniobacteraceae family (2.5 %) was observed under direct seeding and the use of microbial preparations contributed to its increase up to 3.0 %. This is an indicator of rich environment and favorable soil conditions, while under the traditional farming system the reduction was 2.2 and 3.5 times, respectively. The highest level of beta diversity was set under direct seeding. The Whittaker beta-diversity index decreased by 28.6 % under the traditional system compared to virgin soil and 1.7 times under No-till. The use of the complex of microbial preparations promoted its increase of 36.0 % under the conditions of the traditional system and decrease of 9.7 % under direct seeding.*

Keywords: *microbiome, high-throughput sequencing, 16S rRNA, southern chernozem (Chernozems), microbial complex, traditional farming system, direct seeding (No-till), virgin soil.*

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.

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.

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.

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.

Гонгало Анна Андреевна, научный сотрудник, аспирант лаборатории земледелия отдела интродукции технологий в полеводстве и животноводстве, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295453, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: gongalo.nyura@yandex.ru.

Турин Евгений Николаевич, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник лаборатории земледелия, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295453, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150, e-mail: turin_e@niishk.ru.

Зубоченко Алла Анатольевна, заведующий лабораторией агрохимических исследований ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295453, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: zubochenko_a@mail.ru.

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.

Abdurashytov 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.

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.

Abdurashytova 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.

Gongalo Anna Andreevna, researcher of the Laboratory of agriculture of FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: gongalo.nyura@yandex.ru.

Turin Evgeniy Nikolaevich, Cand. Sc. (Agr.), senior researcher of the Laboratory of agriculture, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150 Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295453, Russia; e-mail: turin_e@niishk.ru.

Zubochenko Alla Anatolievna, head of the Laboratory of agrochemical research of FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: zubochenko_a@mail.ru.

Дата поступления в редакцию – 09.10.2018.

Дата принятия к печати – 11.11.2018.