

**Агропочвоведение и агроэкология**

УДК 579.6+631.17

DOI 10.31857/S2500262725030068 EDN FDWEBB

**ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ТЯЖЕЛОСУГЛИНИСТОЙ ПОЧВЫ ПРИ ВОЗДЕЛЫВАНИИ РАЗЛИЧНЫХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР**© 2025 г. **А. А. Завалин**<sup>1</sup>, академик РАН, доктор сельскохозяйственных наук, **А. С. Карашаева**<sup>1</sup>, кандидат сельскохозяйственных наук, **Е. Н. Старостина**<sup>1</sup>, **А. О. Зверев**<sup>2</sup><sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии имени Д. Н. Прянишникова, 127550, Москва, ул. Прянишникова, 31а<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, 196608, Санкт-Петербург, Пушкин-8, ш. Подбельского, 3  
E-mail: zavalin.52@mail.ru

*Полевые и лабораторные исследования проводили в 2023 г. с целью оценки изменений состава микробных сообществ дерново-подзолистой тяжелосуглинистой почвы при выращивании различных культур в звене севооборота со следующим чередованием культур: горчица – озимая пшеница – ячмень. Такая последовательная ротация культур выбрана для базовой оценки динамических преобразований структуры микробиологических сообществ почвы, обусловленных возделыванием различных сельскохозяйственных культур. Микробное сообщество в почвенных образцах, отобранных через 1, 2 и 3 года после заделки сидеральной массы, анализировали посредством ампликонного секвенирования гена 16S рРНК бактерий и архей. При попарном сравнении микробных сообществ почвы из-под различных культур наибольшее в опыте число достоверно изменяющихся таксономически значимых групп микроорганизмов (55) обнаружено в почве из-под озимой пшеницы и горчицы. При анализе почвы из-под ячменя и горчицы количество специфических таксонов уменьшалось вдвое (до 24). Почвы, занятые пшеницей и ячменем, были практически идентичны по составу доминирующих таксонов бактерий. Наиболее выраженные изменения отмечали среди представителей архей типа Crenarchaeota, относящихся к классу Nitrososphaeria. Отдельные таксоны этого класса продемонстрировали высокую специфичность в отношении агроэкологических условий возделывания зерновых культур и горчицы. Сидерация оказывает минорное влияние на состав микробного сообщества, по-видимому, в первую очередь на уровне изменения численности отдельных бактериальных таксонов.*

**CHANGES IN THE MICROBIAL COMMUNITY OF SOD-PODZOLIC HEAVY LOAMY SOIL DURING CULTIVATION OF VARIOUS AGRICULTURAL CROPS****A. A. Zavalin**<sup>1</sup>, **A. S. Karashaeva**<sup>1</sup>, **E. N. Starostina**<sup>1</sup>, **A. O. Zverev**<sup>2</sup><sup>1</sup>Pryanishnikov All-Russian Research Institute of Agrochemistry, 127550, Moskva, ul. Pryanishnikova, 31a<sup>2</sup>All-Russian Research Institute of Agricultural Microbiology, 196608, Sankt-Peterburg, Pushkin-8, sh. Podbelskogo, 3  
E-mail: zavalin.52@mail.ru

*Field and laboratory studies were conducted in 2023 to assess changes in the composition of microbial communities of sod-podzolic heavy loamy soil when growing various crops in the crop rotation: mustard-winter wheat-barley. This sequential rotation of crops was chosen for the basic assessment of dynamic changes in the structure of soil microbiological communities caused by the cultivation of various agricultural crops. The microbial community in soil samples taken 1, 2, and 3 years after green manure plowing was analyzed by amplicon sequencing of the 16S rRNA gene of bacteria and archaea. The largest number of taxonomically significant groups of microorganisms (55) was found when comparing the soil used for growing winter wheat and after planting mustard. The number of specific taxa is halved (up to 24) when analyzing barley and mustard soils. The soils occupied under wheat and barley are almost identical in the composition of the dominant bacterial taxa. The most pronounced changes were observed among representatives of the Crenarchaeota archaea belonging to the Nitrososphaeria class. Individual taxa of this class have demonstrated high specificity in relation to the agroecological conditions of grain and mustard cultivation. It is shown that sideration has a minor effect on the composition of the microbial community, apparently primarily at the level of changes in the number of individual bacterial taxa.*

**Ключевые слова:** микробиоценоз почвы, сидераты, севооборот, таксономия, секвенирование.**Key words:** soil microbocenosis, siderates, crop rotation, taxonomy, sequencing.

Последние два десятилетия метагеномику активно используют для изучения структуры, разнообразия и функционирования почвенных микробных сообществ и их связей с внешними факторами. Школа генетического почвоведения, которая ведет свои корни от трудов В. В. Докучаева, рассматривает почвенный профиль как систему генетических горизонтов – слоев почвы с разным происхождением, физико-химическими свойствами и протекающими в них процессами [1].

Комплексные исследования динамики микробных сообществ и почвенных свойств выступают перспективным направлением развития микробиологии в части оценки экологического состояния почвы. Микробные сообщества почвы, как сложная и изменчивая экосистема, служат биоиндикаторами ее состояния. Их состав и функциональная активность тесно связаны с агрохимическими характеристиками почвы, включая содержание органического вещества, реакцию почвенной среды

(рН), концентрацию доступных элементов питания (азота, фосфора, калия), а также наличие тяжелых металлов и остатков пестицидов. Использование современных молекулярных и информационных методов открывает широкие возможности для анализа временных изменений почвенных микробных сообществ и их влияния на почвенные свойства.

Несмотря на активное изучение пространственной изменчивости микробных сообществ, динамика системы «почва–микробиом» во времени остается недостаточно исследованной. Использование удобрений не только влияет на производительность культур, но и существенно изменяет таксономическую структуру микробиоценоза, на которую оказывают значительное влияние севооборот и внесение удобрений. Вид возделываемой культуры определяет динамику микробиоты на уровне более крупных таксонов, например, доменов, а удобрения оказывают воздействие на более низком таксономическом уровне (фили, порядки, роды) [2]. Применение минеральных удобрений, например, может привести к увеличению численности определенных групп микроорганизмов, специализирующихся на разложении органических веществ, богатых азотом, а также к подавлению роста видов, зависящих от органического вещества почвы. В свою очередь, органическое земледелие, характеризующееся внесением органических удобрений и минимальной обработкой почвы, способствует развитию более разнообразных и устойчивых микробных сообществ, повышая содержание гумуса и улучшая структуру почвы [2, 3].

Севооборот эффективно снижает популяции фитопатогенов в почве, оказывая комплексное воздействие на структуру микробных сообществ. При известковании почвы уменьшается количество микроорганизмов, которые предпочитают кислые условия обитания (*Acidobacteria*), а при внесении удобрений увеличивается численность других семейств микроорганизмов (*Chitinophagaceae* и *Bacillaceae*) [3, 4].

Однако использование мочевины и аммиачных удобрений может временно повысить рН, осмотический потенциал и концентрацию аммиака до уровней, подавляющих микробные сообщества. Длительное многократное применение минерального азота может изменить состав микробного сообщества, даже если рН меняется незначительно. Однако реакция определенных группы микробов на повторное внесение минеральных удобрений широко варьирует и, по-видимому, зависит от факторов окружающей среды и управления культурами.

Так, было отмечено, что в почве, где удобрения не применяли, доля бактерий филума *Acidobacteriia* семейства *Solibacteraceae*, а также неатрибутируемого семейства этого же филума приближается к уровню, характерному для залежи (1,04...1,35 %). Особенно заметно, почти в 4 раза, снижается количество бактерий *Candidatus solibacter* при внесении минеральных удобрений без известкования, а также в почве чистого пара. Бактерии этой группы могут служить индикаторами негативных изменений, происходящих в агродерново-подзолистых почвах [5, 6].

Результаты метаанализа, основанного на 107 наборах данных 64 долгосрочных исследований со всего мира, свидетельствуют, что применение минеральных удобрений привело к увеличению микробной биомассы на 15,1 %, по сравнению с уровнями без их использования. Минеральные удобрения также увеличили содержание органического углерода ( $C_{org}$ ) в почве [6, 7].

Цель исследования – изучить изменение таксономического состава прокариотного сообщества дерново-

подзолистой почвы после сидерации методом высокопроизводительного секвенирования гена 16S рРНК.

**Методика.** Работу проводили в стационарном опыте ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии им. Д. Н. Прянишникова», расположенном в п. Шебанцево Домодедовского городского округа Московской области. Изначальные свойства почвы (1961 г.) характеризовались следующими параметрами: уровень кислотности ( $pH_{KCl}$ ) находился в пределах от 4,3 до 4,5, гидролитическая кислотность по Каппену (Нг) составляла 4,6 мг-экв/100 г, сумма поглощенных оснований – 8,3 мг-экв/100 г, водопроницаемость (V) – 64,3 %, содержание гумуса по Тюрину – 1,58 %, подвижного фосфора ( $P_2O_5$ ) по Кирсанову – 21 мг/кг, обменного калия ( $K_2O$ ) по Масловой – 113 мг/кг. В экспериментальный период (2023 г.) усредненные величины рН находились в диапазоне 5,3...5,5 ед., гидролитической кислотности – 2,28...3,03 мг-экв/100 г, суммы поглощенных оснований – 11,2...12,2 мг-экв/100 г, водопроницаемости – 84,2 %, содержания гумуса – 1,9...2,1 %,  $P_2O_5$  – 221...229 мг/кг,  $K_2O$  – 207...218 мг/кг,  $N_{общ}$  – 0,116 %. При использовании гербицидов содержания  $N_{общ}$  снизилось до 0,0099 %, без их применения величина этого показателя изменялась в интервале 0,101...0,108 % [8].

Объектами исследования служили образцы почвы, отобранные на трех последовательных полях севооборота: горчица, озимая пшеница, ячмень. Пробы почвы, объединяющие три точечные выборки массой более 200 г, отбирали из верхнего гумусового слоя с глубины 5...15 см на участках, где заделку сидератов проводили один, два и три года назад, летом 2023 г. В качестве контрольных вариантов использовали образцы с аналогичных по типу и агрохимическим показателям почвы участков, расположенных в непосредственной близости от опытного поля, на которых сидераты не выращивали. Всего был проанализирован 81 почвенный образец.

Микробное сообщество отобранных проб оценивали посредством ампликонного секвенирования V3...V4 варибельного участка последовательности, кодирующей 16S рРНК, с использованием праймеров 515f (GTGCCAGCMGCGCGGTAA) и 806r (GGACTACVSGGGTATCTAAT). Секвенирование проводили на Illumina MiSEQ согласно рекомендациям производителя. Обработку данных выполняли в программной среде R (v4.3.0) с использованием пакета *dada2* (v1.14.1) [9], в качестве референсной базы данных при таксономической аннотации последовательностей применяли SILVA 132. Основные анализы (альфа- и бета-разнообразие, дисперсионный анализ, барграфы, теплокарты) выполняли с использованием пакетов *phyloseq* (v1.30.0) [10] и *tidyverse* (2.0.0) [11]. Пермутационный дисперсионный анализ с перестановками (PERMANOVA) осуществляли с использованием пакета *vegan* (2.5–6) [12]. Поиск дифференциально представленных таксонов проводили с использованием *DESeq2* (v1.26.0) [13] с указаниями пограничных значений (маркирующих ASV как «достоверно изменяющую численность в рамках сравнения»)  $baseMean > 10$ ,  $\log_2 FoldChange > 2$  и  $p\text{-adj} < 0.05$ .

Изменения микробных сообществ описывали посредством метрик альфа-разнообразия сообществ (индексы общего видового богатства, разнообразия Шеннона и доминирования Симпсона), бета-разнообразия (взвешенный и невзвешенный Юнифрак и дистанции Брея).

**Результаты и обсуждение.** По результатам анализа видового богатства альфа-разнообразия исследуемых сообществ различалась незначительно. По данным двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) применение сидератов, в сравнении с контрольными почвами,

не приводит к изменению альфа-разнообразия. Тип сельскохозяйственной культуры, примененной в сидерации, не оказывает влияния на значения видового богатства или индекса Шеннона, однако по выровненности (индекс Симпсона) различия достоверны (рис. 1, табл. 1).

Различные метрики бета-разнообразия (дистанции Брея, взвешенный и невзвешенный Юнифрак) демонстрировали в целом схожие результаты, поэтому в работе рассмотрены данные наиболее показательной из них – взвешенный Юнифрак. Результаты ординации полученных дистанций (рис. 2), а также данные пермутационного дисперсионного анализа (табл. 2) свидетельствуют о том, что достоверным фактором в распределении дистанций бета-разнообразия выступает только тип выращиваемой культуры. Заделка сидератов в почву не оказывает какого-либо достоверного эффекта, в сравнении с контролем.

Поиск дифференциально представленных таксонов, несмотря на достаточно ослабленные установки (поиск изменений в 2 раза и более, при численности порядка 10 ридов на образец), не выявил таксонов, ассоциированных с внесением в почву сидератов. При попарном сравнении микробных сообществ почвы из-под разных культур тот же анализ показал различия в малочисленных (менее 2...5 % от общего числа прочтений) таксонах: численность достоверно изменяющихся таксонов в среднем не превышала нескольких сотен прочтений, изменения численности составляли от 2 до 5 раз. Наибольшее число таких таксонов (55) отмечено при сопоставлении микробиомов почв из-под горчицы и пшеницы, при сравнении почв из-под ячменя и горчицы их было меньше (24). При этом в почвах из-под ячменя и озимой пшеницы достоверно различающихся таксонов не выявлено. Самые значительные изменения были связаны с представителями

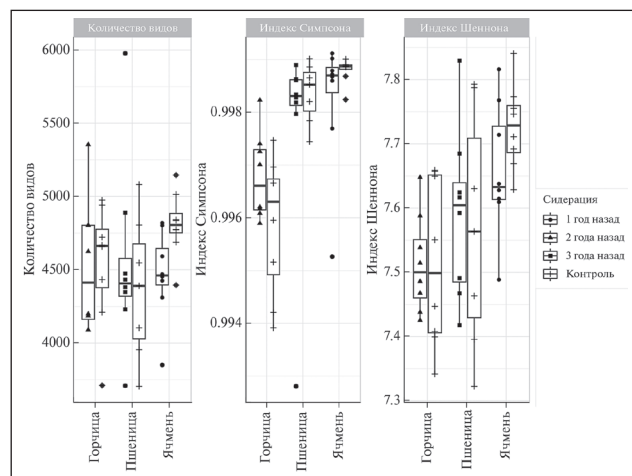


Рис. 1. Альфа-разнообразие различных почв с использованием сидератов.

Табл. 1. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) для индексов альфа-разнообразия

| Фактор                  | Степени свободы | Сумма квадратов отклонений | Среднее квадратичное отклонений | F-значение | p-значение |
|-------------------------|-----------------|----------------------------|---------------------------------|------------|------------|
| <b>Количество видов</b> |                 |                            |                                 |            |            |
| Культура                | 2               | 227 103                    | 113 552                         | 0,571      | 0,569      |
| Сидерация               | 3               | 601 916                    | 200 639                         | 1,009      | 0,399      |
| Остаток                 | 41              | 8 152 496                  | 198 841                         |            |            |
| <b>Индекс Симпсона</b>  |                 |                            |                                 |            |            |
| Культура                | 2               | 4,18E-05                   | 2,09E-05                        | 14,611     | 1,62E-05   |
| Сидерация               | 3               | 6,13E-06                   | 2,04E-06                        | 1,428      | 0,249      |
| Остаток                 | 41              | 5,87E-05                   | 1,43E-06                        |            |            |

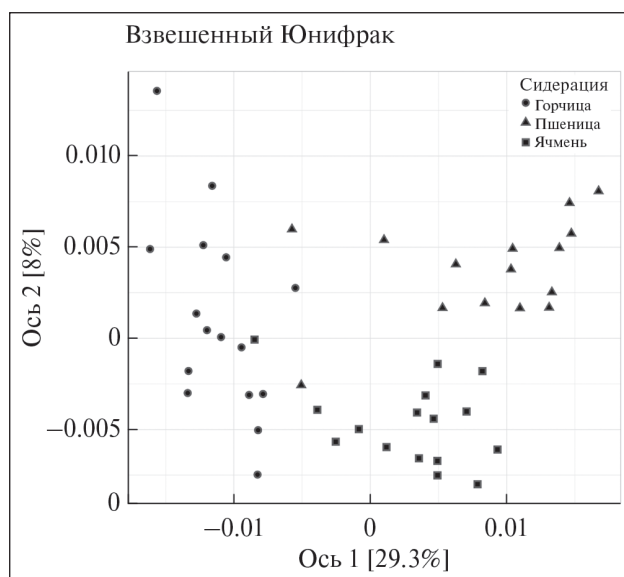


Рис. 2. Анализ главных координат для дистанций бета-разнообразия (взвешенный Юнифрак) микробных сообществ с использованием различных типов сидератов (в скобках приведены значения объясненной вариативности осей анализа главных координат).

Табл. 2. Результаты двухфакторного пермутационного дисперсионного анализа для дистанций бета-разнообразия (взвешенный Юнифрак)

| Фактор    | Степени свободы | Сумма квадратов отклонений | R <sup>2</sup> -значение | F-значение | p-значение |
|-----------|-----------------|----------------------------|--------------------------|------------|------------|
| Культура  | 2               | 4,09E-03                   | 2,75E-01                 | 8,4047     | 0,001      |
| Сидерация | 3               | 8,06E-04                   | 5,42E-02                 | 1,1039     | 0,255      |
| Остаток   | 41              | 9,98E-03                   | 6,71E-01                 |            |            |

класса Nitrososphaeria (Crenarchaeota), причем среди них отмечали таксоны, преимущественно ассоциированные как с почвой под злаками, так и с почвой под горчицей (рис. 3).

Таким образом, показано наличие только краткосрочного эффекта от заделки сидератов. Динамичные микробные сообщества почв ориентированы в большей степени на растительные экссудаты и депонированные в почве питательные вещества и, по-видимому, восстанавливают свой таксономический состав достаточно быстро. Через год после заделки в почву сидерата микробные сообщества возвращаются к исходному составу.

Вторым аспектом можно назвать высокую гетерогенность почвенных сообществ. Анализ альфа-и бета-разнообразия показывает достаточно широкий разброс между значениями в пределах одной группы, что затрудняет идентификацию значимых таксонов, «маскируя» изменения, обусловленные изучаемыми факторами.

Эти наблюдения подчеркивают сложность и многогранность взаимодействий внутри почвенных экосистем. Высокий уровень гетерогенности микробных сообществ указывает на то, что даже незначительные изменения в условиях окружающей среды могут существенно влиять на состав и структуру микробиоты. С другой стороны, быстрая адаптация микробных сообществ к изменениям условий свидетельствует о высокой пластичности и устойчивости почвенных экосистем. Они способны эффективно реагировать на внешние воздействия, восстанавливая баланс и продолжая выполнять свои ключевые функции. Это свой-

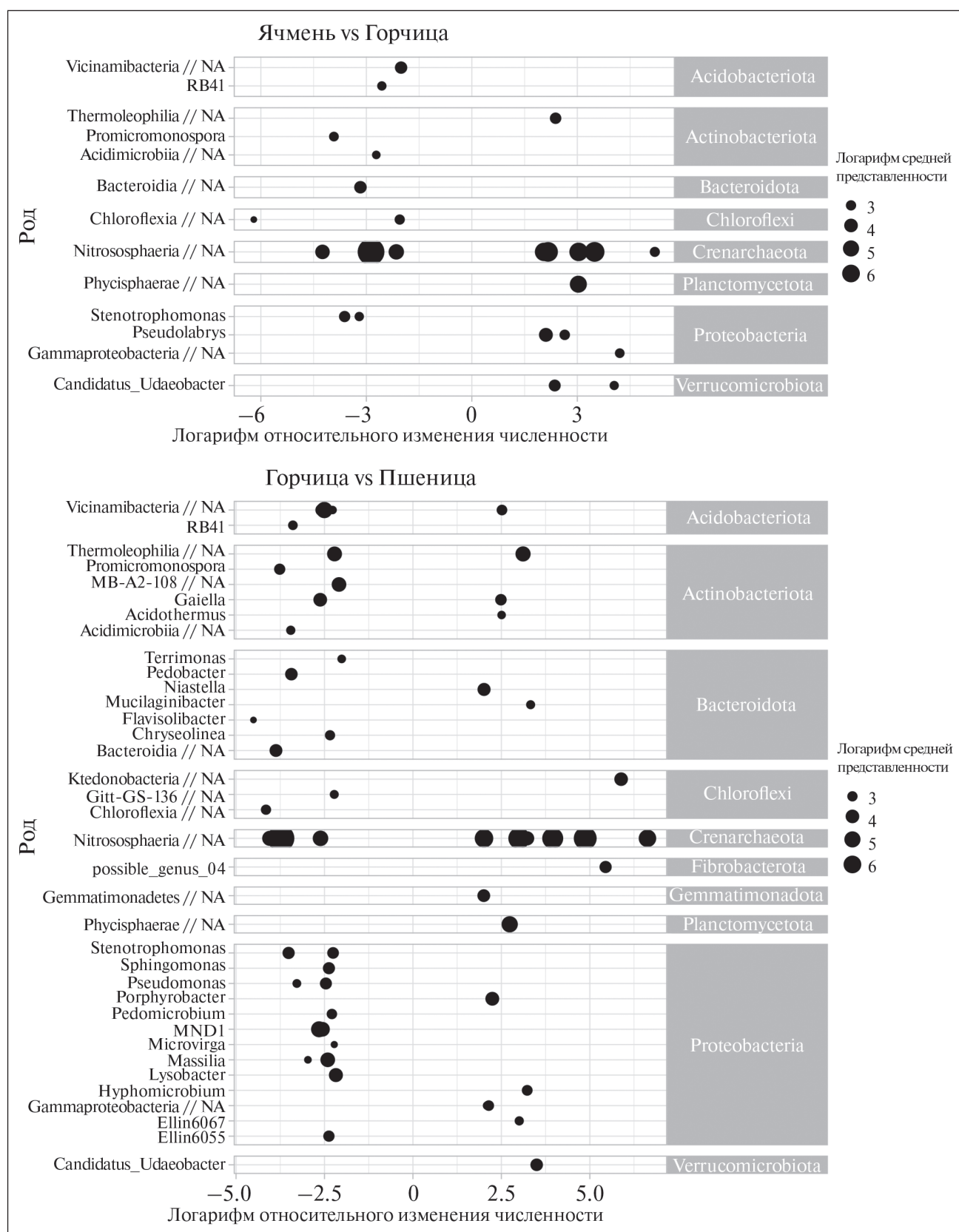


Рис. 3. Таксоны, достоверно изменяющие численность в сравнении почв от разных сельскохозяйственных культур.

ство особенно важно в контексте глобальных изменений климата и антропогенного давления на природные ресурсы. Для эффективного управления почвенными

ресурсами и повышения их продуктивности необходимо учитывать комплексный характер взаимодействия между различными компонентами экосистемы.

**Выводы.** Микробные сообщества почвы после сидерации практически не отличаются от контрольной почвы того же года. Это может быть следствием минорного влияния сидерации, незаметного на фоне общей сравнительно высокой внутригрупповой вариабельности сообщества.

В почвах под изученными культурами после сидерации отмечена разная представленность ряда таксонов. Этот эффект особенно выражен для почвы под горчицей. Однако из-за того, что он может быть связан с особенностями лет исследования, необходимо уточнение такой зависимости.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ.

Работа финансировалась за счет средств бюджета в рамках выполнения Государственного задания по теме № FGWR-2024-0002. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство этим конкретным исследованием получено не было.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ.

В работе отсутствуют исследования человека или животных.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### Литература.

1. Методология биологических исследований почвы в рамках проекта «Микробиом России» / Т. И. Чернов, В. А. Холодов, Б. М. Козут и др. // Бюллетень Почвенного института им. В. В. Докучаева. 2017. Вып. 87. С. 100–112. doi: 10.19047/0136-1694-2017-87-100-113.
2. Responses of soil physico-chemical properties, structure of the microbial community and crop yields to different fertilization practices in Russias' S conventional farming system. / A. N. Naliukhin, A. V. Kozlov, A. V. Eregin, et al. // *Brazilian Journal of Biology*. 2024. Vol. 84. e282493. URL: <https://www.scielo.br/bjb/a/6cLdJhvfS2CvMyTD-8mnbkrw/?format=pdf&lang=en> (дата обращения: 14.05.2025). doi: 10.1590/1519-6984.282493.
3. Чернов Т. И., Семенов М. В. Управление почвенными микробными сообществами: возможности и перспективы (обзор) // *Почвоведение*. 2021. № 12. С. 1506–1522. doi: 10.31857/S0032180X21120029.
4. Unveiling the roles, mechanisms and prospects of soil microbial communities in sustainable agriculture / K. Kiprotich, E. Muema, C. Wekesa, et al. // *Discover Soil*. 2025. Vol. 2:10. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s44378-025-00037-4> (дата обращения: 14.05.2025). doi: 10.1007/s44378-025-00037-4.
5. Biodiversity, and biotechnological contribution of beneficial soil microbiomes for nutrient cycling, plant growth improvement and nutrient uptake / N. Yadav, D. Kour, T. Kaur, et al. // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2021. Vol. 33. 102009. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1878818121001055> (дата обращения: 14.05.2025). doi: 10.1016/j.bcab.2021.102009.
6. Изменение метагенома прокариотного сообщества как показатель плодородия пахотных дерново-подзолистых почв при применении удобрений / А. Н. Налиухин, С. М. Хамитова, А. П. Глинушкин и др. // *Почвоведение*. 2018. № 3. С. 331–337. doi: 10.7868/S0032180X18030073.
7. Microbial community succession in soil is mainly driven by carbon and nitrogen contents rather than phosphorus and sulphur contents. / Sh. Tang, Q. Ma, K. A. Marsden, et al. // *Soil Biology and Biochemistry*. 2023. Vol. 180. 109019. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0038071723000810> (дата обращения: 14.05.2025). doi: 10.1016/j.soilbio.2023.109019.
8. Влияние удобрений и средств химизации на плодородие почвы и питание растений / А. С. Карашаева, А. А. Завалин, Г. А. Иващенко и др. // *АгроЭкоИнженерия*. 2023. № 4(117). С. 4–14. doi: 10.24412/2713-2641-2023-4117-4-14.
9. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data // B. J. Callahan, P. J. McMurdie, M. J. Rosen, et al. *Nature Methods*. 2016. Vol. 13. No. 7. P. 581–583. doi: 10.1038/nmeth.3869.
10. P. J. McMurdie, S. Holmes. Phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data // *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8. No. 4. P. e61217. URL: <https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0061217&type=printable> (дата обращения: 14.05.2025). doi: 10.1371/journal.pone.0061217.
11. Welcome to the tidyverse / H. Wickham, M. Averick, J. Bryan, et al. // *Journal of Open Source Software*. 2019. Vol. 4. No. 43. P. 1686. URL: <https://www.theoj.org/joss-papers/joss.01686/10.21105.joss.01686.pdf> (дата обращения: 14.05.2025). doi: 10.21105/joss.01686.
12. Amplicon Sequencing of Fusarium Translation Elongation Factor 1a Reveals that Soil Communities of Fusarium Species Are Resilient to Disturbances Caused by Crop and Tillage Practices / P. M. Henry, S. I. Koehler, S. Kaur, et al. // *Journal Phytobiomes*. 2022. Vol. 6(3). P. 261–274. doi: 10.1094/PBIOMES-09-21-0053-R.
13. Zhu A., Ibrahim J. G., Love M. I. Heavy-tailed prior distributions for sequence count data: removing the noise and preserving large differences // *Bioinformatics*. 2019. Vol. 35. No. 12. P. 2084–2092. doi: 10.1093/bioinformatics/bty895.

Поступила в редакцию 01.04.2025

После доработки 28.04.2025

Принята к публикации 20.05.2025