

ДОМИНИРУЮЩИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ТАКСОНЫ В ЧЕРНОЗЕМАХ И ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ИХ ДОЛЮ В БАКТЕРИАЛЬНОМ СООБЩЕСТВЕ

© 2024 г. К. С. Бояршин^{а,*}, В. В. Адамова^а, В. Чжен^а, Е. В. Никитинская^б,
О. Ю. Обухова^а, М. В. Колкова^а, В. А. Нестеренко^с, О. С. Беспалова^а,
В. В. Клюева^а, К. А. Дегтярева^а, Л. В. Нестерук^а, Ю. Н. Куркина^а,
О. А. Маканина^а, Е. С. Иванова^б, Чж. Ли^д, И. В. Батлуцкая^а

^аИнститут фармации, химии и биологии Белгородского государственного университета,
ул. Победы, 85, корп. 17, Белгород, 308015 Россия

^бЧереповецкий государственный университет, Череповец, пр-т Луначарского, 5, 162600 Россия

^сПочвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва, Пыжевский пер., 7, стр. 2, 119017 Россия

^дИнститут биофизики, Университет Дэжжоу, ш. Даксуэ, 566, Дэжжоу, 253023 Китай

*e-mail: kboyarshin@mail.ru

Поступила в редакцию 06.10.2023 г.

После доработки 24.12.2023 г.

Принята к публикации 27.12.2023 г.

Идентифицированы семейства и роды бактерий, доминирующие в черноземах лесостепной зоны. Проведено микробиологическое профилирование по гену 16S рРНК образцов пахотных и непахотных черноземов в разные фазы вегетационного периода: в июне и августе. Показаны изменения доли отдельных семейств бактерий в зависимости от землепользования и времени. Выявлены корреляционные связи между распространенностью семейств бактерий и химическими параметрами почвы. Показана преобладающая роль нитратов в формировании структуры сообщества, в этом процессе играют важную роль содержание органического углерода, влажность почвы и ее pH. Несмотря на выявленные различия долей рассмотренных семейств в зависимости от землепользования и времени сбора образцов, набор доминирующих семейств бактерий в исследуемых образцах оставался стабильным. Среди доминирующих семейств первые 6 составляют около 1/4 всего сообщества, а первые 20 – около 40%. Полученные результаты создают предпосылки для дальнейшего изучения изменчивости таксономического состава бактериального сообщества черноземов в различных биотических и агрохимических условиях.

Ключевые слова: почвенная микробиота, микробиологическое профилирование, Naplic Chernozem, Luvic Chernozem

DOI: 10.31857/S0032180X24060076 , **EDN:** YBNAZW

ВВЕДЕНИЕ

Черноземы [3] занимают значительные площади на евразийском континенте [24] и активно используются для сельскохозяйственного производства [11, 13]. Этому способствуют такие их свойства, как высокое содержание органических веществ [25] и значения pH, близкие к нейтральным [36]. Обилие органического вещества в почве обеспечивает удержание влаги и питательных веществ [39, 41], что повышает ее естественное плодородие и эффективность использования удобрений. Эти свойства

черноземов обуславливают их ценность и своеобразное место эталона пахотных почв. Большое количество работ посвящено их физико-химическим характеристикам [42], биологическому разнообразию и поддержанию плодородия [40].

Цель работы – выявление бактериальных таксонов на уровне семейства и рода, доминирующих в черноземах лесостепной зоны на примере Белгородской области, и оценка влияния на них различных агрохимических факторов. В современной почвенной микробиологии следует отметить тенденцию к широкому использованию

статистических методов, позволяющих характеризовать и сопоставлять почвенные микробные сообщества в целом [8, 43, 28]. В то же время, как правило, не ставится целью подробное рассмотрение встречаемости отдельных семейств и родов микроорганизмов. В значительной мере это связано с методологическими проблемами, так как достоверность количественных данных по отдельным семействам и родам может ставиться под сомнение, по причине, в частности, преимущественного связывания ПЦР-праймеров с последовательностями, принадлежащими определенным таксонам [34, 21].

В настоящей работе исходили из предположения, что уклоны ПЦР (PCR biases) не будут искажать таксономическую структуру сообщества до неузнаваемости, если включить в нее достаточное количество семейств и родов, занимающих значительные доли в сообществе. Брали в расчет не только средние показатели встречаемости таксона, но и их разброс, демонстрирующий менее типичные, но также допустимые в природе ситуации.

Рассматривали 20 наиболее многочисленных семейств, занимающих в сообществе суммарную долю в среднем около 40%, и, вероятно, играющих значительные роли в его биохимической активности. Формирование такого перечня групп, доминирующих в бактериальной микробиоте черноземов, представляет фундаментальный интерес с точки зрения дальнейшего изучения распределения в ней

ее основных биохимических функций, таких как химические превращения питательных веществ, используемых растениями, сохранение или расход почвенного органического вещества, влияние на значения pH. Также выявляли корреляционные зависимости, связывающие доли бактериальных семейств в сообществе с землепользованием и агрохимическими показателями.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Отбор образцов почвы. Исследование проводили на территории Белгородской области России, в южной части Среднерусской возвышенности, в бассейнах рек Оскол и Северский Донец, входящих в речную систему Дона (рис. 1). Белгородская область расположена в зоне лесостепи на приподнятой равнине с выраженными эрозионными явлениями, высота над уровнем моря составляет в среднем 200 м. Среднегодовая температура воздуха в различных точках региона варьирует в пределах 5.4–6.8°C. Январь является самым холодным месяцем, безморозный период продолжается в течение 155–160 дней, продолжительность солнечного сияния – 1800 ч/год. Зимой почва промерзает на 0.5–1.0 м. В различных районах области годовое количество осадков варьирует от 540–550 до 400 мм. Лесистость области составляет 9.8% [1]. Зональные почвы представлены различными подтипами

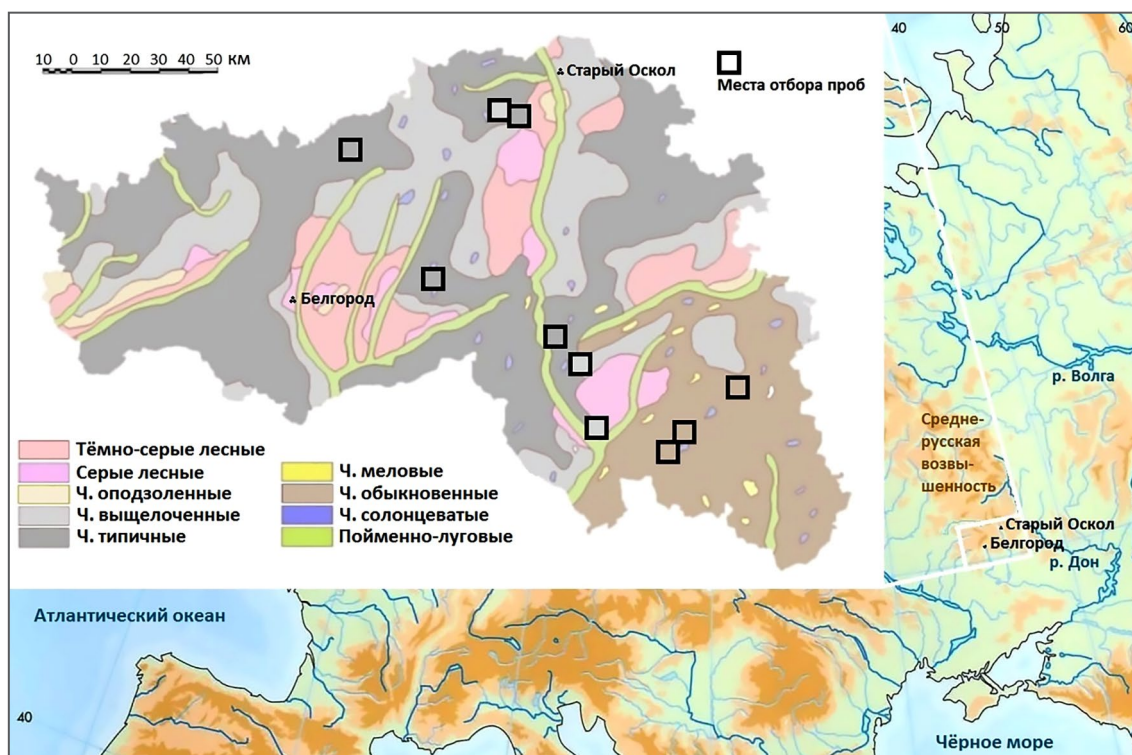


Рис. 1. Точки отбора проб на почвенной карте Белгородской области России.

черноземов, занимающими 77% территории, и серыми лесными почвами (15% территории) [2].

На исследуемой территории наиболее распространен в регионе типичный чернозем (Haplic Chernozem). Его обширные участки соседствуют с выщелоченными черноземами (Luvic Chernozem), которые также широко распространены. В юго-восточной части области преобладает обыкновенный чернозем (Haplic Chernozem), характерный для более аридных условий. Кроме того, в области присутствуют менее распространенные разновидности черноземов, привязанные к определенным формам рельефа. Это пойменно-луговые черноземы (Gleyic Chernozems), обычные в поймах рек. Эрозионные процессы выводят к поверхности залежи мела, при этом на склонах нередко формируются карбонатно-меловые черноземы (Calcargic Phaeozems). Также присутствуют солонцеватые черноземы (Gleyic Chernozems (Protosodic)).

Изучены типичный, выщелоченный и обыкновенный черноземы, отобрано 40 почвенных образцов (табл. 1). Для отбора выбирали места, в которых пахотные угодья соседствовали с непахотными (неокультуренные и окультуренные почвы). Пахотные участки всех изученных черноземов были засеяны озимой пшеницей, растительность непахотных участков включала разнотравье либо листовенные породы и травяной подлесок. Каждая проба состояла из 20 частей, собранных в гумусово-аккумулятивном горизонте (A1) с глубины 5–15 см на расстоянии 3–4 м друг от друга. Места отбора образцов пахотной и непахотной почвы каждого типа чернозема находились на расстоянии 10–20 м. Вес каждой сборной пробы около 1 кг. Отбор проводили на тех же местах дважды в конце июня и в конце августа 2022 г.

Микробиологическое профилирование. Экспериментальные процедуры проводили как описано в работе [9]. В день сбора каждый образец почвы тщательно измельчали до размера частиц менее 2 мм, перемешивали. Корни растений и другие выявленные органические остатки удаляли. После перемешивания образцы замораживали без

предварительного высушивания и хранили при температуре –80°C. ДНК выделяли из навески массой 0.3 г с использованием FastDNA Spin Kit for Soil DNA Extraction (MP Biomedicals, США). Для получения ампликонов фрагмента гена 16S рРНК, содержащего гипервариабельные участки V3 и V4 проводили двухстадийную ПЦР. После очистки на магнитных частицах Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, США) ампликоны использовали для подготовки библиотек и парноконцевого секвенирования на секвенаторе Illumina MiSeq (Illumina, США). Для каждого образца получено не менее 10 000 парных прочтений. Для первичной обработки данных использовали программный пакет QIIME 1.9.1 [10], в частности отсеивали последовательно с показателем качества менее Q30. Таксономическую идентификацию полученных последовательностей проводили с использованием базы данных Silva [27] версии 132. Применяли классификационный порог 97%. Расчеты встречаемости различных таксонов выполняли при помощи алгоритмов, созданных для этой цели на программном языке Python 3.

Агрохимический анализ. Значение рН почвы определяли в растворе 1 М КСl при соотношении почва : раствор 1 : 2.5 с использованием стеклянного электрода (ГОСТ 26483-85). Массовую долю органического вещества (C_{org} , %) определяли по методу Тюрина, фотометрическим методом, основанным на окислении раствором $K_2Cr_2O_7$ в серной кислоте с последующим определением содержания трехвалентного хрома при длине поглощаемой волны 590 нм (ГОСТ 26213-2021). Подвижные формы Р и К (в пересчете соответственно на P_2O_5 и K_2O , мг/кг почвы) определяли по методу Чирикова, основанному на извлечении подвижных соединений фосфора и калия из почвы 0.5 М раствором уксусной кислоты при отношении почвы к раствору 1 : 25 с последующим определением фосфора в виде синего фосфорно-молибденового комплекса на фотоэлектроколориметре, и калия – на пламенном фотометре (ГОСТ 26204-91). Содержание нитратов ($N-NO_3$, мг/кг почвы) измеряли путем

Таблица 1. Количество образцов пахотного (п.) и непахотного (н.п.) чернозема разного подтипа (горизонт A₁, глубина 5–15 см)

Время	Чернозем						Сумма
	типичный		выщелоченный		обыкновенный		
	п.	н.п.	п.	н.п.	п.	н.п.	
Конец июня 2022 г.	4	4	3	3	3	3	20
Конец августа 2022 г.	4	4	3	3	3	3	20
Сумма	8	8	6	6	6	6	40

их извлечения из почвы 1 М раствором K_2SO_4 при соотношении массы пробы почвы и объема раствора 1 : 2,5 с последующим определением нитратов в вытяжке с помощью ионоселективного электрода (ГОСТ 26951-86). Определение содержания аммония ($N-NH_4$, мг/кг почвы) проводили путем его извлечения из почвы 1 М раствором KCl и получения окрашенного индофенольного соединения путем воздействия гипохлоритом и салицилатом натрия в щелочной среде с последующим фотометрированием окрашенного раствора (ГОСТ 26489-85).

Статистическая обработка данных. Для анализа влияния подтипа почвы, землепользования и химических свойств почвы на структуру сообщества микроорганизмов применяли перестановочный (пермутационный) многомерный дисперсионный анализ (Permutational Multivariate Analysis of Variance, Permanova) [7] с использованием матриц расстояний [29]. Взаимодействие независимых переменных между собой не учитывали, зависимой переменной выступала таксономическая структура сообщества на уровне семейств. Индексы несходства были рассчитывали методом Брэя–Кертиса, на их основе составили матрицу расстояний между сообществами, которую использовали для проведения многомерного дисперсионного анализа.

Тестировали различия долей микроорганизмов каждого из семейств в микробных сообществах черноземов, различающихся 1) типом землепользования, 2) подтипом чернозема, 3) временем отбора почвенных образцов, используя метод непараметрического дисперсионного анализа Крускала–Уоллиса [23]. Для анализа различий встречаемости семейств в разных подтипах чернозема использовали попарные множественные сравнения с использованием критерия ранговой суммы Уилкоксона [44] с коррекцией p -значений методом Бениамини–Хохберга.

Корреляционный анализ взаимосвязи между долей семейств в сообществе и значениями химических параметров почвы проводили с использованием коэффициента корреляции Спирмена. Все статистические расчеты выполняли в среде R версии 4.1.2 с использованием пакета 'vegan' [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Бактериальные семейства, доминирующие в микробиоте чернозема. Анализ бактериальных сообществ на соседствующих пахотных и непашотных участках, в конце июня и в конце августа, показал близость средних долей доминирующих семейств (табл. 2). Все рассмотренные семейства способны многократно менять свои доли в зависимости от локации (табл. 3). Они могут быть охарактеризованы как постоянные и существенные участники функционирования микробиоты черноземов. При этом размах их варьирования может быть

следствием определенной степени экологической взаимозаменяемости, при которой экологические ниши представителей различных семейств в значительной мере перекрываются [20, 16]. С этим толкованием согласуется относительное постоянство средних значений, сохраняющееся даже в отличающихся экологических условиях, таких как сельскохозяйственная деятельность или ее отсутствие, а также на разных фазах вегетационного периода. Этот наблюдаемый уровень постоянства открывает потенциальную возможность более детального изучения распределения базовых экологических функций в микробных сообществах черноземов.

Микробиологическое профилирование показало наличие в собранных образцах бактерий, относимых не менее чем к 237 семействам. Первые шесть из них, представленные в таблицах, в среднем формируют около четверти общего состава бактериального сообщества, с учетом нераспознанных последовательностей. Первые двадцать формируют около 40%. Таким образом, рассмотренный в работе список семейств характеризует существенную часть микробиоты.

Большинство семейств включает определенные доминирующие роды. Их доли в сообществе варьируют в еще более широких пределах, чем доли семейств, что указывает на еще большую экологическую взаимозаменяемость на этом таксономическом уровне. Вероятно, следует рассматривать высокую среднюю долю некоторых бактериальных родов, как признак их участия в осуществлении наиболее важных биохимических функций, выполняемых бактериями в почве. Таким образом, детальное изучение биохимических возможностей их представителей способно помочь оценить выраженность определенных процессов и их значение для почвенной экосистемы.

К сожалению, работ, позволяющих сопоставить полученные результаты, мало. Как правило исследования, использующие микробиологическое профилирование, ставят целью целостную характеристику микробных сообществ с точки зрения биоразнообразия, постоянства их структуры и влияния определенных факторов, не углубляясь в перечисление доминирующих таксонов на уровне семейств и родов. Тем не менее, существует ряд работ, содержащих такие сведения.

В работе [18] показано, что в типичном черноземе (пахотные и непашотные участки, Курская область, примерно в 100 км северо-западнее района настоящего исследования) наиболее распространенными семействами были *Bradyrhizobiaceae*, *Mycobacteriaceae*, *Streptomycesaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Planctomycetaceae*, *Micromonosporaceae*, *Xanthomonadaceae*, *Sphingomonadaceae*, *Acidobacteraceae* и *Comamonadaceae*. В настоящем исследовании семейства *Micromonosporaceae*, *Xanthomonadaceae*

Таблица 2. Доля наиболее многочисленных семейств в пахотных (п.) и непахотных (н.п.) черноземах в разные фазы вегетационного периода (июнь, август). Жирный шрифт указывает на статистически значимое преобладание в почвах, подчеркивание – то же для одного из месяцев, %, среднее $\pm$ стандартное отклонение.

Семейство	Июнь		Август		Среднее ($n = 40$)
	п. ($n = 10$)	н.п. ($n = 10$)	п. ($n = 10$)	н.п. ($n = 10$)	
Gemmatimonadaceae	7.59 $\pm$ 1.66	3.87 $\pm$ 1.99	6.85 $\pm$ 1.25	3.32 $\pm$ 1.87	5.41 $\pm$ 2.49
Chitinophagaceae	4.54 $\pm$ 0.50	4.53 $\pm$ 1.06	<u>5.70 $\pm$ 0.79</u>	4.70 $\pm$ 1.05	4.87 $\pm$ 0.98
Sphingomonadaceae	6.31 $\pm$ 2.25	6.38 $\pm$ 2.81	4.29 $\pm$ 1.66	1.33 $\pm$ 0.77	4.58 $\pm$ 2.84
Xanthobacteraceae	3.03 $\pm$ 0.60	4.56 $\pm$ 1.94	2.79 $\pm$ 0.65	4.86 $\pm$ 1.08	3.81 $\pm$ 1.47
Chthoniobacteraceae	2.10 $\pm$ 1.05	2.52 $\pm$ 1.97	2.50 $\pm$ 0.98	4.29 $\pm$ 2.61	2.85 $\pm$ 1.92
Rubrobacteriaceae	2.51 $\pm$ 0.87	3.01 $\pm$ 1.23	1.73 $\pm$ 0.60	2.30 $\pm$ 0.93	2.39 $\pm$ 1.01
Burkholderiaceae	2.30 $\pm$ 1.33	2.18 $\pm$ 0.76	1.65 $\pm$ 0.40	1.10 $\pm$ 0.39	1.81 $\pm$ 0.92
Microscillaceae	0.88 $\pm$ 0.75	2.12 $\pm$ 0.72	1.64 $\pm$ 0.95	2.00 $\pm$ 0.99	1.66 $\pm$ 0.96
Nocardiodiaceae	1.36 $\pm$ 0.27	<u>2.03 $\pm$ 0.48</u>	1.37 $\pm$ 0.40	1.37 $\pm$ 0.15	1.53 $\pm$ 0.44
Micromonosporaceae	0.97 $\pm$ 0.31	1.40 $\pm$ 0.70	1.42 $\pm$ 0.53	1.80 $\pm$ 0.66	1.40 $\pm$ 0.62
Solirubrobacteraceae	<u>1.18 $\pm$ 0.32</u>	<u>1.97 $\pm$ 0.59</u>	0.92 $\pm$ 0.25	1.21 $\pm$ 0.17	1.32 $\pm$ 0.53
Pedospaeraceae	1.07 $\pm$ 0.49	0.79 $\pm$ 0.47	<u>1.59 $\pm$ 0.38</u>	<u>1.73 $\pm$ 0.46</u>	1.29 $\pm$ 0.58
Pyrinomonadaceae	1.05 $\pm$ 0.37	0.53 $\pm$ 0.23	1.62 $\pm$ 0.69	<u>1.93 $\pm$ 0.67</u>	1.28 $\pm$ 0.74
SC-I-84 (Burkholderiales)	1.90 $\pm$ 1.02	0.97 $\pm$ 0.49	1.34 $\pm$ 0.77	0.73 $\pm$ 0.52	1.23 $\pm$ 0.83
Ilumatobacteraceae	0.86 $\pm$ 0.26	1.72 $\pm$ 0.91	1.07 $\pm$ 0.28	1.24 $\pm$ 0.47	1.22 $\pm$ 0.62
Nitrosomonadaceae	1.33 $\pm$ 0.45	0.91 $\pm$ 0.25	1.35 $\pm$ 0.38	1.20 $\pm$ 0.41	1.20 $\pm$ 0.41
Xanthomonadaceae	1.48 $\pm$ 1.13	1.15 $\pm$ 0.58	1.42 $\pm$ 0.64	0.52 $\pm$ 0.11	1.14 $\pm$ 0.78
Blastocatellaceae	1.06 $\pm$ 0.37	0.99 $\pm$ 0.31	1.46 $\pm$ 0.48	0.67 $\pm$ 0.27	1.04 $\pm$ 0.45
Haliangiaceae	1.03 $\pm$ 0.51	0.76 $\pm$ 0.33	1.15 $\pm$ 0.37	1.05 $\pm$ 0.40	1.00 $\pm$ 0.42
Caulobacteraceae	0.91 $\pm$ 0.48	<u>1.40 $\pm$ 0.62</u>	0.70 $\pm$ 0.27	0.54 $\pm$ 0.21	0.89 $\pm$ 0.52
Сумма	43.43	43.77	42.56	37.86	41.91

и *Sphingomonadaceae* также относятся к преобладающим. По сравнению с настоящими результатами, в работе [18] семейства *Mycobacteriaceae*, *Streptomycetaceae* и *Pseudomonadaceae* существенно более распространены. На уровне родов, как и в полученных в настоящем исследовании результатах, весьма многочисленен род *Bradyrhizobium*. Оба исследования показали обилие представителей родов *Solirubrobacter*, *Sphingomonas* и *Chthoniobacter*.

В Курской области проведена работа, освещающая различия встречаемости бактериальных таксонов в пахотном и непахотном типичном черноземе [4]. Показана высокая численность родов *Pseudomonas* (*Pseudomonadaceae*), *Bacillus* (*Bacillaceae*), *Kaistobacter* (*Sphingomonadaceae*) и *Candidatus Solibacter* (*Solibacteraceae*). Род *Kaistobacter* является гетеротипическим синонимом *Sphingomonas* [32], который продемонстрировал высокую встречаемость в проведенном нами исследовании.

В работе [33] образцы пахотного и непахотного типичного чернозема были собраны в Воронежской области. Частично приведенные данные по доминирующим семействам и родам продемонстрировали обилие представителей семейства *Chitinophagaceae*, что совпадает с настоящими результатами, а также большее количество представителей *Gaiellaceae*, *Hyphomicrobiaceae* и *Syntrophobacteraceae*. Показана высокая численность рода *Chthoniobacter*, более многочисленен род *Rhodoplanes*, составляющий в наших образцах в среднем лишь 0.34%.

Различия в списке доминирующих таксонов в черноземах одного и того же подтипа соседствующих Белгородской, Курской и Воронежской областей могут иметь различные причины, в том числе методологического характера. Статьи, опубликованные в разные годы, отличаются используемой таксономической номенклатурой, с чем

Таблица 3. Доминирующие роды 20 крупнейших семейств почвенных бактерий. Приведены диапазоны средних процентных долей в микробных сообществах черноземов для семейств и родов. Показаны роды, которые могут составлять более 1% от всего сообщества, если в семействе таких не обнаружено, приведен и выделен курсивом наиболее распространенный род. Столбец Среднее относится к родам, средние доли семейств приведены в табл. 2

Семейство	Доля, %	Род	Доля, %	Среднее, %
Gemmatimonadaceae	1.62–10.19	Gemmatimonas	0.2–5.8	2.15 ± 1.4
Chitinophagaceae	3.11–6.71	Ferruginibacter	0.17–1.67	0.55 ± 0.32
		Flavisolibacter	0.02–1.72	0.66 ± 0.39
		Terrimonas	0.1–1.64	0.54 ± 0.26
Sphingomonadaceae	0.42–11.35	Sphingomonas	0.18– 8.84	3.58 ± 2.42
		Novosphingobium	0.0–1.13	0.20 ± 0.20
		Altererythrobacter	0.0–1.01	0.29 ± 0.24
Xanthobacteraceae	1.5–8.85	Bradyrhizobium	0.6–3.51	1.53 ± 0.63
Chthoniobacteraceae	0.58–10.52	Cand. Udaeobacter	0.25–9.64	2.21 ± 1.81
		Chthoniobacter	0.2– 1.32	0.64 ± 0.28
Rubrobacteriaceae	0.75–4.96	Rubrobacter	0.75–4.96	2.39 ± 1.01
Burkholderiaceae	0.52–5.34	Massilia	0.0–2.05	0.30 ± 0.42
Microscillaceae	0.16–3.49	Chryseolinea	0.0–0.88	0.18 ± 0.22
Nocardioideaceae	0.9–3.18	Nocardioides	0.37–1.84	0.86 ± 0.37
		Kribbella	0.19–1.12	0.44 ± 0.17
Micromonosporaceae	0.48–2.95	Actinoplanes	0.0–1.53	0.29 ± 0.30
Solirubrobacteraceae	0.62–2.79	Solirubrobacter	0.31–2.15	0.86 ± 0.41
Pedospaeraceae	0.18–2.48	ADurb.Bin063-1	0.0–0.37	0.09 ± 0.10
Pyrinomonadaceae	0.17–2.92	RB41	0.17–2.92	1.28 ± 0.74
SC-I-84 (Burkholderiales)	0.08–3.18	—	—	—
Ilumatobacteraceae	0.33–3.6	Ilumatobacter	0.0–1.48	0.30 ± 0.26
Nitrosomonadaceae	0.57–1.99	Ellin6067	0.14–1.18	0.60 ± 0.24
		MND1	0.06–1.06	0.47 ± 0.28
Xanthomonadaceae	0.31–4.46	Stenotrophomonas	0.0–1.95	0.11 ± 0.30
		Lysobacter	0.04–1.66	0.53 ± 0.33
		Pseudoxanthomonas	0.0–1.07	0.14 ± 0.21
Blastocatellaceae	0.31–2.17	Aridibacter	0.0–0.28	0.01 ± 0.04
Haliangiaceae	0.31–2.16	Haliangium	0.31–2.16	1.00 ± 0.42
Caulobacteraceae	0.23–2.13	Phenylobacterium	0.02– 1.2	0.36 ± 0.22

приходится сталкиваться при сопоставлении литературных данных. Применяемые методы микробиологического профилирования могут иметь погрешности, занижающие или завышающие доли определенных таксонов. Основное влияние оказывает различная эффективность амплификации гипервариабельных участков генов 16S рРНК с различной нуклеотидной последовательностью при помощи тех или иных пар праймеров. В настоящей работе микробиологическое профилирование проводили с использованием гипервариабельных

участков гена 16S рРНК V3 и V4 [9]. Участок V4 использовался в работах [4, 33], работа [18] основана на применении метагеномного секвенирования методом дробовика (shotgun sequencing). Наконец, экологическая взаимозаменяемость видов, принадлежащих к разным таксонам, основанная на значительном совпадении доступных им экологических ниш, может вести к значительным различиям в таксономической структуре сообществ даже при сходных почвенных условиях. Стоит учитывать, что в одном и том же регионе и на одном

и том же типе почвы химические условия могут отличаться по случайным причинам или из-за использования различных методов ведения сельского хозяйства. Эти факторы, в частности, связанные с погрешностью результатов ПЦР, делают особенно полезным сравнение данных различных исследований и обобщение полученной информации. Они делают необходимым сохранение постоянства методики и постоянных зон отбора проб в экспериментальных исследованиях с использованием молекулярного профилирования микробных сообществ, если конечной целью является изучение экологических свойств видов или групп микроорганизмов.

Агрохимический анализ пахотных и непашотных черноземов. Основные химические показатели изученных пахотных и непашотных почв оказались близкими (рис. 2). Средние значения pH практически совпадают несмотря на то, что для пахотных почв характерна тенденция к закислению [37]. Это находит объяснение в эффективности мер по известкованию почвы, широко применяемых в регионе. Слабокислые и нейтральные значения pH типичны для черноземов [5], с тенденцией к большей кислотности в менее аридных частях их ареала. Диапазон разброса pH составил 5.8–7.3 для пахотных почв и 5.9–7.2 для непашотных.

Доля органических соединений в пахотных почвах оказалась в среднем немного ниже, чем в непашотных. В целом этот показатель высок, что характерно для черноземов [19]. Разброс значений составил 3.9–6.6% для пахотных, и 5.6–8.6% для непашотных участков. Обилие органического вещества должно способствовать развитию микробного сообщества, обеспечивая его разнообразие [35]. В настоящем исследовании ни содержание

органического вещества, ни pH, ни другие химические параметры не оказывали статистически значимого влияния на бактериальное сообщество в целом (табл. 4).

Изученная выборка характеризуется широким разбросом концентраций подвижного калия. В пахотных почвах его содержание в среднем ниже и находится в диапазоне 122–516 мг/кг, в непашотных оно лежит в пределах 117–630 мг/кг. Широкий диапазон характерен и для концентраций подвижного фосфора, он составил 60–289 мг/кг при сельскохозяйственной обработке и 44–237 мг/кг без нее. При используемой агротехнике баланс фосфора поддерживается ближе к естественному уровню, чем баланс калия.

Пахотные почвы характеризуются повышенным средним содержанием нитратного азота, и это единственное статистически достоверное различие по химическим параметрам между пахотными и непашотными черноземами в полученной выборке. В то же время показатель варьирует в широких пределах, 8–46 мг/кг. В непашотных почвах разброс его разброс также значителен, 2–7 мг/кг. Среднее содержание аммонийного азота при этом остается близким для образцов пахотных и непашотных почв, оно составляет 10–20 мг/кг в первом случае, и 9–21 мг/кг во втором.

Несмотря на то, что химические особенности пахотных почв в конкретной местности обусловлены применяемой агротехникой, диапазоны, в которых лежат изученные параметры, имеют большое значение в настоящем исследовании, обеспечивая разнообразие выборки для анализа корреляционных взаимодействий между химическими параметрами и встречаемостью представителей тех или иных бактериальных семейств (табл. 5).

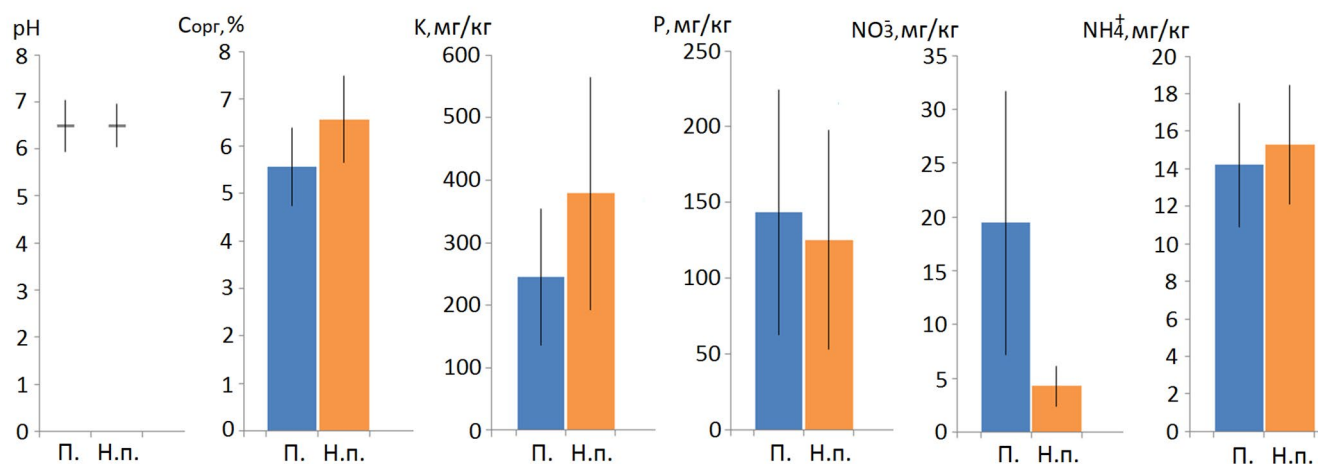


Рис. 2. Химические характеристики пахотных (П.) и непашотных (Н.п.) черноземов с их стандартными отклонениями: pH KCl, массовая доля органических веществ ($C_{орг}$, %), массовые концентрации обменного калия в пересчете на K_2O , обменного фосфора в пересчете на P_2O_5 , NO_3^- и NH_4^+ в пересчете на азот.

Таблица 4. Перестановочный (пермутационный) многомерный анализ влияния факторов на структуру почвенных бактериальных сообществ. Единственный фактор, оказывающий статистически значимое влияние, выделен жирным шрифтом, и подразумевает пахотное земледелие либо его отсутствие

Фактор	D_f	Σ квадратов	R^2	F	$Pr(>F)$
Подтип чернозема	2	0.04754	0.10129	1.5543	0.170
Землепользование	1	0.13671	0.29128	8.9397	0.001
Влажность	1	0.01809	0.03855	1.1832	0.302
pH	1	0.01974	0.04206	1.2908	0.258
Органическое вещество (C_{org})	1	0.02346	0.04999	1.5341	0.177
Калий	1	0.01235	0.02632	0.8078	0.524
Фосфор	1	0.01170	0.02493	0.7651	0.566
Нитрат	1	0.02831	0.06032	1.8513	0.132
Аммоний	1	0.01470	0.03132	0.9612	0.410

Таблица 5. Коэффициенты корреляции между долями доминирующих семейств в почвенном сообществе и химическими параметрами почвы. Отображены только значения с уровнем значимости ниже 0.05

Семейство	Влажность	pH	C_{org}	P	NO_3^-
Gemmatimonadaceae	0.47		-0.57		0.82
Chitinophagaceae					
Sphingomonadaceae					0.82
Xanthobacteraceae			0.46		-0.78
Chthoniobacteraceae				-0.47	
Rubrobacteriaceae					
Burkholderiaceae					
Microscillaceae		0.58			
Nocardioideaceae					
Micromonosporaceae					
Solirubrobacteraceae			0.67		
Pedospaeraceae					
Pyrinomonadaceae					
SC-I-84 (Burkholderiales)	0.47	-0.46			0.44
Ilumatobacteraceae					-0.47
Nitrosomonadaceae			-0.56		
Xanthomonadaceae	0.47				0.76
Blastocatellaceae	0.46				0.72
Haliangiaceae					
Caulobacteraceae					0.48

Экологические признаки отдельных семейств, доминирующих в микробиоте чернозема. Конец июня и конец августа представляют собой две различные фазы вегетационного периода, отличающиеся по состоянию растительного покрова как пахотных, так и непахотных почв. На непахотных участках к концу июня в рассматриваемом регионе заканчивается сезон сенокоса, воспроизводство биомассы травянистых растений замедляется. Замедление вегетации в период с конца июня до конца августа сопряжено со снижением физиологической активности корней. Таким образом, средовые условия в подповерхностном слое почвы существенно меняются, что может вести к изменениям в составе почвенной микрофлоры.

На посевных площадях, занятых под озимую пшеницу, в это время происходят еще более выраженные изменения. К концу июня колосья уже сформированы, и начинается усыхание побега. С этого времени вегетация на таких полях практически отсутствует, отмершие корни, а затем и запаханная солома начинают подвергаться разложению. Для бактерий исчезают экологические ниши, связанные с корневой экссудацией, и расширяются ниши, связанные с переработкой растительных остатков.

В исследовании [6], посвященном изменениям состава микробных сообществ в ходе вегетационного периода, типичный чернозем существенно различался по содержанию типов бактерий в мае, июле и сентябре. К сожалению, эти различия не были прослежены на других таксономических уровнях. При этом существование сезонных перестроек состава микробиоты показано в ней для данного типа почв.

Рассматривая различия в размере долей тех или иных доминирующих бактериальных семейств

между пахотными и непахотными черноземами в июне и августе (табл. 2), можно отметить шесть семейств, достоверно меняющих доли в зависимости от стадии вегетационного цикла (данные отмечены подчеркиванием). В двух случаях, *Solirubrobacteraceae* и *Pedosphaeraceae*, изменения оказываются однонаправленными для пахотных и непахотных почв. Различия между пахотными и непахотными почвами в разные месяцы достоверно совпадают только для *Gemmatimonadaceae* и *Solirubrobacteraceae*. Таким образом, семейство *Solirubrobacteraceae* достоверно предпочитает июнь и нераспаханые почвы.

Перестановочный (пермутационный) многомерный дисперсионный анализ из всех рассмотренных факторов показал достоверное влияние на структуру бактериального сообщества чернозема только фактора землепользования. Сельскохозяйственное использование почв связано с конкретными факторами, способными влиять на их микрофлору, в первую очередь это разрушение естественной структуры почвы и ее переуплотнение, ведущее к снижению аэрации и нарушению дренирования с более продолжительным сохранением влаги в подповерхностном слое. Как показано выше, собранная выборка пахотных черноземов по сравнению с непахотными характеризовалась повышенным средним содержанием нитратов. Однако эти факторы по отдельности не продемонстрировали достоверного влияния на таксономическую структуру сообщества, что можно связать с различной восприимчивостью к их действию разных компонентов сообщества. Землепользование, в свою очередь, представляет собой комплекс факторов, суммарно оказывающих влияние на значительную часть сообщества и, таким образом, ведущих к его существенной перестройке. Нельзя исключать влияние причин, возникающих в ходе сельскохозяйственного использования почвы, которые не были рассмотрены.

Корреляционный анализ позволил выявить зависимость доли тех или иных семейств в сообществе от химических характеристик почвы. Фактором, в наибольшей мере влияющим на состав сообщества, является концентрация нитратов, для шести из доминирующих семейств это влияние оказалось положительным, а еще для двух — отрицательным. Может возникнуть вопрос, не является ли эта корреляция следствием того, что высокие концентрации нитратов сопровождают сельскохозяйственное использование? Однако, широкий разброс концентраций в рассмотренной выборке пахотных почв свидетельствует в пользу достоверности полученного результата.

Четыре семейства зависят от содержания органических веществ, два в положительную сторону, два в отрицательную. Возможно, отрицательные корреляции здесь связаны с благоприятствованием

высокого содержания органических веществ численности определенных конкурентов или антагонистов, влияющих на значительную часть их представителей. Также четыре семейства зависят от влажности. В рассмотренном диапазоне между 17.5 и 33.4% влажности, все они предпочитают более высокие значения показателя. Значение pH оказывает влияние на три семейства, два из которых предпочитают более щелочные, а одно более кислые значения. Доля представителей семейства *Chthoniobacteraceae* характеризуется отрицательной зависимостью от концентрации подвижного фосфора. Обращает на себя внимание отсутствие корреляции концентраций калия и аммония с долями в сообществе каких-либо из распространенных семейств. Любопытно, что обилие представителей аммонийоксиляющего семейства *Nitrosomonadaceae* не коррелирует с концентрациями ни аммония, ни нитрата. Это может быть связано с достаточно узким диапазоном варьирования концентраций аммония в выборке.

Пять семейств не продемонстрировали корреляционной зависимости ни от одного из рассмотренных химических параметров почвы. Более того, *Rubrobacteriaceae* и *Haliangiaceae* не показали зависимости ни от землепользования, ни от фазы вегетационного периода. Такое постоянство может характеризовать группы организмов, занимающих экологические ниши, связанные с наиболее медленными биохимическими процессами в почве, которые в наименьшей степени подвержены сезонным изменениям. В то же время диапазоны химических факторов в естественных и обрабатываемых почвах могут быть слишком узкими, чтобы можно было анализировать их влияние на организмы, обладающие широкой нормой реакции. Отдельным вопросом остается накопление в почвах мертвой ДНК различных бактериальных таксонов.

Если рассматривать каждое из наиболее распространенных семейств по отдельности, доля *Gemmatimonadaceae* положительно коррелирует с концентрацией нитрат-ионов, и отрицательно коррелирует с содержанием органических веществ. Как в июньских, так и августовских пробах средняя доля его представителей приблизительно вдвое выше в пахотных почвах, чем в непахотных, эта разница статистически достоверна. Доля *Gemmatimonadaceae* коррелирует с влажностью. Из представителей наиболее распространен род *Gemmatimonas*, также присутствует род *Gemmatirosa*. Представители *Gemmatimonadaceae* представляют собой подвижные палочковидные неспорообразующие облигатно аэробные бактерии, поддающиеся культивированию в среде, содержащей низкие концентрации глюкозы, пептона и других органических веществ [45].

С концентрацией нитрат-ионов коррелирует встречаемость семейства *Sphingomonadaceae*.

В июне она практически одинакова в пахотных и непашотных почвах, в августе их доля в сообществе ниже. Семейство представлено в черноземах не менее чем 14 родами, среди которых доминируют *Ferruginibacter*, *Flavisolibacter* и *Terrimonas*. Их общими признаками являются аэробность и хемо-органотрофия. Род *Sphingomonas* способен вырабатывать экзополисахариды, называемые сфинганами, некоторые входящие в него виды способны к разложению полиароматических соединений [22]. Род *Blastomonas*, обладающий бактериохлорофиллом а [17], представлен в малых количествах.

Напротив, доля семейства *Xanthobacteraceae* характеризуется отрицательной корреляцией с содержанием нитратов. Статистически достоверные различия между пахотными и непашотными почвами формируются к августу. В пробах присутствуют 7 родов, среди которых преобладает *Bradyrhizobium*, также значительные доли в сообществе могут составлять *Rhodoplanes* (0.04–0.86%) и *Pseudolabrys* (0.04–0.82%). Для семейства характерен аэробный хемогетеротрофный тип питания, хотя встречается факультативная хемолитоавтотрофия с использованием водорода или восстановленной серы. Распространена способность к фиксации атмосферного азота [26], которой, в частности, обладает род *Bradyrhizobium*.

Расчеты показывают отрицательную связь встречаемости семейства *Chthoniobacteraceae* с концентрациями подвижного фосфата. В августе наблюдается статистически большая доля его представителей в непашотных почвах. В пробах обнаружены три рода: *Chthoniobacter*, *Candidatus Udaeobacter* и LD29. Последний, не вошедший в табл. 3, составляет всего до 0.03% сообщества. К семейству относятся неподвижные неспорообразующие аэробные бактерии, типовой вид способен использовать для роста углеводные компоненты растительной биомассы, а также пировиноградную кислоту. Часть видов выступает эндосимбионтами нематод и переходит к анаэробизму [31].

Доля *Chitinophagaceae* в пахотных и непашотных почвах практически одинакова в июне, но к августу становится достоверно большей в пахотных условиях. К этому семейству относятся 17 бактериальных родов, представленных в пробах, наибольшие доли приходится на роды *Ferruginibacter*, *Flavisolibacter* и *Terrimonas*. Представители семейства аэробы или факультативные анаэробы, виды рода *Chitinophaga* способны к гидролизу целлюлозы и хитина. Некоторые представители способны к передвижению скольжением, а также к формированию микроцист [30].

Rubrobacteraceae можно привести в качестве примера семейства, которое не проявляет зависимости ни от одного из факторов, рассмотренных в исследовании. Его единственный род *Rubrobacter*

неподвижен и не образует спор, способен использовать большое количество моносахаридов без кислотообразования. *R. radiotolerans* в анаэробных условиях восстанавливает нитраты до нитритов [38]. Он способен выдерживать высыхание и воздействие ионизирующего излучения [15]. В частности, *Rubrobacter* обнаружен в образцах с поверхности известняковой кладки исторических сооружений [12]. Нельзя исключать, что сохранение покоящихся и инактивированных клеток может вести к накоплению неактивной ДНК этого семейства *Rubrobacteraceae* в почвах. Однако полученные данные демонстрируют уменьшение доли ДНК этого семейства в образцах более чем на 30% в течение двух месяцев. Таким образом, возможное присутствие мертвой ДНК в почвах в данном случае не препятствует детекции изменения доли семейства в сообществе на выбранном временном промежутке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Составление перечня основных компонентов бактериальной микробиоты черноземов на уровне семейств и родов позволило выделить характерные группы бактерий, высокие доли которых свидетельствуют об их вовлеченности в выполнение существенных экологических функций, обеспечиваемых микроорганизмами в почвах. Основные выводы, сделанные на основе полученных результатов:

1) Таксономическая структура бактериального сообщества черноземов лесостепной зоны достаточно стабильна, несмотря на различия в зависимости от землепользования и стадии вегетационного периода.

2) Выраженное доминирование отдельных родов в рассмотренных семействах делает целесообразным рассмотрение таксономической структуры сообщества в дальнейших исследованиях на уровне родов, что облегчит сопоставление данных микробного профилирования с данными классической микробиологии.

3) Из химических факторов на доли многих доминирующих семейств влияет концентрация нитратов, в то время как концентрации калия и аммония в наблюдаемых диапазонах выражено не влияют на них. Важным представляется вывод, что в реальных диапазонах химических факторов может не проследиваться влияние на таксоны, на которые они теоретически должны были бы заметно воздействовать, как в случае концентраций аммония и доли семейства *Nitrosomonadaceae*. Этот результат подчеркивает сложность перехода от культуральных характеристик к экологическим, и актуальность сбора данных по экологии микроорганизмов в естественных условиях, или

в экспериментальных условиях, приближенных к естественным.

Важен поиск экспериментальных подходов для экологического тестирования сложных микробных сообществ с изучением влияния выбранных факторов на их структуру. Такой метод должен позволить конкретным видам или группам в составе сообщества проявлять именно те адаптационные способности, которые актуальны в естественных условиях, его ценность должна быть основана на экологической релевантности. Полученные результаты создают необходимый задел, очерчивая границы изменчивости сообщества в естественных условиях и перечень важнейших таксонов, благополучие которых может стать критерием адекватности экспериментальных моделей.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы благодарят за поддержку ООО “Русагро Инвест” и ФГБУ “Государственный заповедник “Белогорье”, Белгородская область, Россия.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование проведено при поддержке Российского научного фонда, № 22-14-20024, и правительства Белгородской области, Россия.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авраменко П.М., Акулов П.Г., Атанов Ю.Г. Природные ресурсы и окружающая среда Белгородской области. Белгород: Белгород, 2007. 556 с.
2. Григорьев Г.Н. География Белгородской области. Белгород: Изд-во БелГУ, 1996. 144 с.
3. Докучаев В.В. Русский чернозем. СПб.: Типография Деклерона и Евдокимова, 1883. 376 с.
4. Иванова Е.А., Кутюкова О.В., Тхакахова А.К., Чернов Т.И., Першина Е.В., Маркина Л.Г., Андронов Е.Е., Когут Б.М. Структура микробного сообщества агрегатов чернозема типичного в условиях контрастных вариантов сельскохозяйственного использования // Почвоведение. 2015. № 11. С. 1367–1382. <https://doi.org/10.7868/S0032180X15110088>
5. Чевердин Ю.И., Зборищук Ю.Н. Закономерности изменения показателей кислотности черноземов Каменной Степи // Вестник Моск. ун-та. Сер. 17, почвоведение. 2009. № 4. С. 22–25.
6. Чернов Т.И., Тхакахова А.К., Иванова Е.А., Кутюкова О.В., Турусов В.И. Сезонная динамика почвенного микробиома многолетнего агрохимического опыта на черноземах Каменной Степи // Почвоведение. 2015. № 12. С. 1483–1488. <https://doi.org/10.7868/S0032180X15120059>
7. Anderson M.J. Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA) // Wiley StatsRef: Statistics Reference Online. Wiley, 2017. P. 1–15. <https://doi.org/10.1002/9781118445112.stat07841>
8. Bennett L.T., Kasel S., Tibbits J. Non-parametric multivariate comparisons of soil fungal composition: Sensitivity to thresholds and indications of structural redundancy in T-RFLP data // Soil Biol. Biochem. 2008. V. 40(7). P. 1601–1611. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.01.008>
9. Boyarshin K.S., Adamova V.V., Zheng W., Obuhova O.Y., Kolkova M.V., Nesterenko V.A., Bessalova O.S., et al. The effect of long-term agricultural use on the bacterial microbiota of chernozems of the forest-steppe zone // Diversity. 2023. V. 15(2). P. 191. <https://doi.org/10.3390/d15020191>
10. Caporaso J.G., Kuczynski J., Stombaugh J., Bittinger K., Bushman F.D., Costello E.K., Fierer N., et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data // Nat. Methods. 2010. V. 7. P. 335–336. <https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>
11. Chibilyov A.A. Ecology-geographical essay about steppes of northern Eurasia // Вопросы степеведения. 2000. № 2. P. 12–29.
12. Coelho C., Mesquita N., Costa I., Soares F., Trovão J., Freitas H., Portugal A., Tiago I. Bacterial and archaeal structural diversity in several biodeterioration patterns on the limestone walls of the old cathedral of Coimbra // Microorganisms. 2021. V. 9(4). P. 709. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040709>
13. Dedov A.V., Boluchevsky D.A. Influence of biological techniques for restoring soil fertility and methods of soil treatment on the fertility of typical chernozem and yield of winter wheat // Bull. Agric. Sci. 2014. V. 46(1). P. 38–41.
14. Dixon P. VEGAN, a package of R functions for community ecology // J. Veg. Sci. 2003. V. 14(6). P. 927–930. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2003.tb02228.x>
15. Ferreira A., Nobre M., Moore E., Rainey F.A., Battista J.R., da Costa M.S. Characterization and radiation resistance of new isolates of *Rubrobacter radiotolerans* and *Rubrobacter xylanophilus* // Extremophiles. 1999. V. 3. P. 235–238. <https://doi.org/10.1007/s007920050121>
16. Fujita H., Ushio M., Suzuki K., Abe M.S., Yamamichi M., Okazaki Y., Canarini A., Hayashi I., Fukushima K., Fukuda Sh., Kiers E.T., Toju H. Metagenomic analysis of ecological niche overlap and community collapse in microbiome dynamics // bioRxiv. 2023. P. 524457. <https://doi.org/10.1101/2023.01.17.524457>
17. Glaeser S., Kämpfer P. The family Sphingomonadaceae // The Prokaryotes: Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria. Springer, 2013. P. 641–707. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30197-1_302

18. Gorbacheva M.A., Melnikova N.V., Chechetkin V.R., Kravatsky Yu.V., Tchurikov N.A. DNA sequencing and metagenomics of cultivated and uncultivated chernozems in Russia // *Geoderma Reg.* 2018. V. 14. P. e00180.
<https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2018.e00180>
19. Goryanin O., Chichkin A., Dzhangabaev B., Shcherbina E. Scientific bases of the humus stabilization in ordinary chernozem in Russia // *Geogr. Environ. Sustain.* 2019. V. 52(1). P. 113–128.
<https://doi.org/10.17951/pjss.2019.52.1.113>
20. Hester E.R., Jetten M.S.M., Welte C.U., Lückner S. Metabolic overlap in environmentally diverse microbial communities // *Front. Genet.* 2019. V. 10. P. 989.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2019.0098>
21. Kool J., Tymchenko L., Shetty S.A., Fuentes S. Reducing bias in microbiome research: Comparing methods from sample collection to sequencing // *Front. Microbiol.* 2023. V. 14. P. 1094800.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1094800>
22. Kosako Y., Yabuuchi E., Naka T., Fujiwara N., Kobayashi K. Proposal of *Sphingomonadaceae* fam. nov., consisting of *Sphingomonas* Yabuuchi et al. 1990, *Erythrobacter* Shiba and Shimidu 1982, *Erythromicrobium* Yurkov et al. 1994, *Porphyrobacter* Fuerst et al. 1993, *Zymomonas* Kluyver and van Niel 1936, and *Sandaracinobacter* Yurkov et al. 1997, with the type genus *Sphingomonas* Yabuuchi et al. 1990 // *Microbiol. Immunol.* 2000. V. 44(7). P. 563–575.
<https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2000.tb02535.x>
23. Kruskal W.H., Wallis W.A. Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis // *J. Am. Stat. Assoc.* 1952. V. 47(260). P. 583–621.
<https://doi.org/10.2307/2280779>
24. Liu X., Burras C.L., Kravchenko Y.S., Duran A., Huffman T., Morrás H.J., Studdert G.A., Zhang X., Cruse R.M., Yuan X. Overview of Mollisols in the world: Distribution, land use and management // *Can. J. Soil Sci.* 2012. V. 92(3). P. 383–402.
<https://doi.org/10.1139/CJSS2010-058>
25. Mikhailova E.A., Post Ch. Organic carbon stocks in the Russian Chernozem // *Eur. J. Soil Sci.* 2005. V. 57(3). P. 330–336.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2005.00741.x>
26. Oren A. The family *Xanthobacteraceae* // *The Prokaryotes*. Springer, 2014. P. 709–726.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-30197-1_258
27. Quast C., Pruesse E., Yilmaz P., Gerken J., Schweer T., Yarza P., Peplies J., Glöckner F.O. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools // *Nucleic Acids Res.* 2013. V. 41. P. D590–D596.
<https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
28. Ricotta C., Szeidl L., Pavoine S. Towards a unifying framework for diversity and dissimilarity coefficients // *Ecol. Indic.* 2021. V. 129. P. 107971.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.107971>
29. Roger B.J., Curtis J.T. An Ordination of the Upland Forest Communities of Southern Wisconsin // *Ecol. Monogr.* 1957. V. 27(4). P. 325–349.
<https://doi.org/10.2307/1942268>
30. Rosenberg E. The family Chitinophagaceae // *The Prokaryotes*. Springer, 2014. P. 493–495.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-38954-2_137
31. Sangwan P., Chen X., Hugenholtz P., Janssen P.H. *Chthoniobacter flavus* gen. nov., sp. nov., the first pure-culture representative of subdivision two, *Spartobacteria classis* nov. of the phylum *Verrucomicrobia* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2004. V. 70(10). P. 5875–5881.
<https://doi.org/10.1128/AEM.70.10.5875-5881.2004>
32. Schoch C.L., Ciuffo S., Domrachev M., Hooton C.L., Kannan S., Khovanskaya R., Leipe D., et al. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools // *Database (Oxford)*. 2020. P. baaa062.
<https://doi.org/10.1093/database/baaa062>
33. Semenov M.V., Chernov T.I., Tkhakakhova A.K., Zhelezova A.D., Ivanova E.A., Kolganova T.V., Kutovaya O.V. Distribution of prokaryotic communities throughout the Chernozem profiles under different land uses for over a century // *Appl. Soil Ecol.* 2018. V. 127. P. 8–18.
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.03.002>
34. Silverman J.D., Bloom R.J., Jiang S., Durand H.K., Dallow E., Mukherjee S., David L.A. Measuring and mitigating PCR bias in microbiota datasets // *PLoS Comput. Biol.* 2021. V. 17(7). P. e1009113.
<https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009113>
35. Six J., Feller Ch., Denef K., Ogle S., Carlos de Moraes Sa J., Albrecht A. Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils – Effects of no-tillage // *Agronomie*. 2002. V. 22(7–8). P. 755–775.
<https://doi.org/10.1051/agro:2002043>
36. Stanek-Tarkowska J., Pastuszek M., Szpunar-Krok E., Kacaniova M., Kluz M., Czyż E., Pieniążek R., Skrobacz K., Pietrzyk K. Comparison of the effect of fertilization with ash from wood chips on bacterial community in podzolic and chernozem soils for the cultivation of winter oilseed rape: a preliminary study // *Agronomy*. 2022. V. 12(3). P. 576.
<https://doi.org/10.3390/agronomy12030576>
37. Stekolnikov K.E., Gasanova E.S., Stekolnikova N.V. Agro-genetic transformation (degradation) of chernozems of the Central Chernozem Region // *BIO Web Conf.* 2021. V. 36. P. 03021.
<https://doi.org/10.1051/bioconf/20213603021>
38. Suzuki K., Collins M.D., Iijima E., Komagata K. Chemotaxonomic characterization of a radiotolerant bacterium, *Arthrobacter radiotolerans*: Description of *Arthrobacter radiotolerans* gen. nov., comb. nov. // *FEMS Microbiol. Lett.* 1988. V. 52(1–2). P. 33–39.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1988.tb02568.x>
39. Szalay A. Cation exchange properties of humic acids and their importance in the geochemical enrichment

- of UO_2^{++} and other cations // *Geochim. Cosmochim. Acta*. 1964. V. 28(10–11). P. 1605–1614.
[https://doi.org/10.1016/0016-7037\(64\)90009-2](https://doi.org/10.1016/0016-7037(64)90009-2)
40. Trofimov I.A., Trofimova L.S., Yakovleva E.P., Emelyanov A.V., Skripnikova E.V. Preserving the fertility of Russian chernozems. Status, trends, forecast // *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 2021. V. 817. P. 012108.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/817/1/012108>
41. Van D.H. Cation binding of humic acids // *Geoderma*. 1971. V. 5(1). P. 53–67.
[https://doi.org/10.1016/0016-7061\(71\)90024-3](https://doi.org/10.1016/0016-7061(71)90024-3)
42. Vysloužilová B., Ertlen D., Schwartz D., Šefrna L. Chernozem. From concept to classification: A review // *Acta Univ. Carol. Geogr.* 2016. V. 51(1). P. 85–95.
<https://doi.org/10.14712/23361980.2016.8>
43. Weaver B., Wuensch K.L. SPSS and SAS Programs for Comparing Pearson Correlations and OLS Regression Coefficients // *Behav. Res. Methods*. 2013. V. 45(3). P. 880–895.
<https://doi.org/10.3758/s13428-012-0289-7>
44. Wilcoxon F. Individual comparisons by ranking methods // *Biomathem. Bull.* 1945. V. 1(6). P. 80–83.
<https://doi.org/10.2307/3001968>
45. Zhang H., Sekiguchi Y., Hanada S., Hugenholtz P., Kim H., Kamagata Y., Nakamura K. *Gemmatimonas aurantiaca* gen. nov., sp. nov., a gram-negative, aerobic, polyphosphate-accumulating micro-organism, the first cultured representative of the new bacterial phylum *Gemmatimonadetes* phyl. nov. // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2003. V. 53. P. 1155–1163.
<https://doi.org/10.1099/ijs.0.02520-0>

Dominant Bacterial Taxa of Chernozems and Factors Affecting Their Abundance in the Bacterial Community

K. S. Boyarshin^{1, *}, V. V. Adamova¹, W. Zheng¹, E. V. Nikitinskaya²,
 O. Yu. Obukhova¹, M. V. Kolkova¹, V. A. Nesterenko³, O. S. Besspalova¹,
 V. V. Klyueva¹, K. A. Degtyareva¹, L. V. Nesteruk¹, Yu. N. Kurkina¹, O. A.
 Makanina¹, E. S. Ivanova², Zh. Li⁴, and I. V. Batlutskaya¹

¹International Laboratory for Applied Biotechnology, Institute of Pharmacy, Chemistry and Biology,
 Belgorod State University, Belgorod, 308015 Russia

²Ecological analytical laboratory, Department of Biology, Cherepovets State University, Cherepovets, 162600 Russia

³Dokuchaev Soil Science Institute, Moscow 119017 Russia

⁴Shandong Provincial Key Laboratory of Biophysics, Institute of Biophysics, Dezhou University, Dezhou, 253023 China

*e-mail: kboyarshin@mail.ru

Families and genera of bacteria that dominate in the chernozems of the forest-steppe zone have been identified. Microbiological profiling of samples of arable and non-arable chernozems using the 16S rRNA gene sequencing was carried out in different phases of the vegetation period: in June and August. The changes in the proportion of individual bacterial families depending on land use and time are shown. Correlations between the prevalence of bacterial families and the chemical parameters of the soil have been revealed. The predominant role of nitrates in the formation of the community structure, in this process the content of organic carbon, soil moisture and its pH play an important role. Despite the revealed differences in the proportions of the studied families depending on land use and the time of sample collection, the set of dominant bacterial families in the studied samples remained stable. The first 6 dominant families make up about 1/4 of the entire community, and the first 20 make up about 40%. The obtained results create prerequisites for further study of the variability of the taxonomic composition of the bacterial community of chernozems in various biotic and agrochemical conditions.

Keywords: Soil microbiota, microbiological profiling, 16S rRNA, chernozem, arable grounds