

УДК 631.46.

МЕТОДОЛОГИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПОЧВЫ В РАМКАХ ПРОЕКТА “МИКРОБИОМ РОССИИ”

**© 2017 г. Т. И. Чернов, В. А. Холодов,
Б. М. Когут, А. Л. Иванов**

*Почвенный институт им. В.В. Докучаева,
Россия, 119017, Москва, Пыжевский пер., 7, стр. 2
e-mail: chern-off@mail.ru*

Рассматриваются методологические направления развития отечественной почвенной биологии при изучении микробиома почв. Приоритетными являются междисциплинарные исследования растительно-микробных взаимодействий, роли микробиома в формировании почвенного плодородия и круговороте углерода. Для наиболее полного раскрытия экологических и сервисных функций почвенного микробиома предлагается сочетать методы метагеномики (для оценки филогенетического разнообразия микроорганизмов), анализа биомаркеров (для определения функционального разнообразия) и измерения ферментативной активности (для оценки актуальной функциональности почв). Исследование связи структурной иерархии почв (от агрегатов и микролокусов до почвенных ареалов) с уровнями организации микробных сообществ (от непосредственно микробных популяций до биогеографических закономерностей) позволит лучше понять пространственное распределение и общие основы взаимодействия системы почва–микроорганизмы. Помимо пространственной организации предлагается изучать динамику почвенных микробиомов на разных временных отрезках: краткосрочные изменения (на полевых мониторинговых площадках), трансформация в процессе почвообразования (на “хронорядках” почв разного возраста) и в геологическом масштабе времени (на примерах погребенных почв). Рассматривается важность изучения разнообразия почвенных микроорганизмов как источника супрессирующей активности почв, крупнейшего депозитария генетической информации, важного агента эмиссии и фиксации атмосферного углерода. Сравнительный анализ микробного разнообразия целинных и нарушенных почв и оценка различных внешних воздействий на почвенный микробиом представляются необходимыми для сохранения биоразнообразия почв как ценного экологического и биотехнологического ресурса.

Ключевые слова: метагеном, молекулярные маркеры, ферментативная активность, супрессивность почв, экология микроорганизмов.

DOI: 10.19047/0136-1694-2017-87-100-113

Микробиом можно определить как совокупность всех микроорганизмов, генетическая и функциональная информация о которых присутствует в системе. Уровни организации микробиома могут варьировать от геологических сфер и биогеоценозов до микрокосмов. Присутствие в системе генетической и функциональной информации подразумевает, что сами микроорганизмы не обязательно должны быть живыми и физиологически активными. Например, отмершие или нефункционирующие клетки сохраняют свою генетическую информацию, а действие ферментов или токсинов может проявляться в течение долгого времени в отсутствие организмов, их выделивших. В связи с такой сложностью объекта, подробное изучение микробиома практически до конца XX столетия было затруднено.

Развитие молекулярной биологии в конце XX–начале XXI вв. дало толчок к развитию таких новых направлений в микробиологических и экологических исследованиях, как метагеномика ([Handelsman et al., 1998](#)), изучающая совокупность генной информации системы, и симбиогенетика ([Loefering, 1978](#)), рассматривающая на генетическом уровне коэволюцию симбионтов. В приложении к почвам, эти подходы успели пройти свойственные новым революционным методам этапы легкого скепсиса, взросления и эйфории. В настоящее время они находятся на стадии переосмысления их роли, места и перспектив развития.

Во многом это связано с особенностями почвы как среды обитания микроорганизмов. Главное из них заключается в том, что почва – это самый обширный депозитарий микробных сообществ на Земле, как по совокупной массе генетического материала, так и по его разнообразию ([Wardle, 2002](#); [Torsvik, Øvreås, 2002](#); [Daniel, 2005](#)). Благодаря этому почвенная среда представляет собой фактически неисчерпаемый источник новых генов для прикладных технологий.

Интенсивное исследование метагенома почвы – важнейшее эколого-функциональное направление, уже обогатившее мировую науку как фундаментальными знаниями, так и новыми практическими решениями. В России имеются приоритетные предпосылки для проведения исследований подобного рода – наличие авторитетных классических школ почвоведения, десятков стационарных опытов и широкого разнообразия почв, находящихся в различном

агроэкологическом состоянии ([Чернов и др., 2015](#), [Корвиго и др., 2016](#)).

“Инвентаризация” и переоценка совокупной генетической информации о почвенном микробиоме – универсальный индикатор состояния, адаптационного и эволюционного тренда развития почвенных ресурсов, своего рода “интерфейс” между средой и биотой. Это стало реальностью с применением высокопроизводительного секвенирования, современной эволюционной статистики, молекулярного моделирования и докинга, использованием современных вычислительных мощностей и соответствующего программного обеспечения для принципиально новых мониторинговых и прогностических систем оценки беспрецедентного разнообразия почв России, контроля эффективности агроботехнологий, выявления признаков почвенного неблагополучия и связанных с этим рисков ([Цыганов и др., 2013](#); [Андронов, 2015](#); [Иванов, 2016](#)).

Однако чисто описательного подхода в настоящее время уже недостаточно, требуется оценка внутренних и внешних взаимосвязей микробиома и его функциональной роли в системе. В связи с этим, можно выделить “таргетные” приоритеты для подходов к изучению почвенного микробиома:

1. Мобилизация и управление растительно-микробным сообществом для оптимизации биоценологических и депозитарных функций и почвенного плодородия, как способности воспроизводства среды жизнеобеспечения.

2. Оценка сервисных и экосистемных услуг почвы (плодородия) для производства продукции, компенсаторные и адаптационные технологии использования микроорганизмов.

3. Организация почвенно-географически ориентированных растительно-микробных ассоциаций – ингибиторов разложения органического вещества и эмиссии углерода.

4. Разработка биопрепаратов – регуляторов цикла углерода в агроэкосистемах и почвах.

5. Создание принципиально новых технологий для мобилизации труднодоступных элементов питания растений из почвенных соединений, повышение степени утилизации промышленных средств химизации.

Описание и документирование биоразнообразия, геномной характеристики и соответствующего генофонда, отражающего

реальное таксономическое разнообразие обитающих в почве живых организмов, может осуществляться только при условии масштабного обследования основных типов почв, что невозможно без тесного научного сотрудничества генетиков, микробиологов и почвоведов ([Persina et al., 2013](#); [Иванов, 2016](#)).

Учитывая большое разнообразие почв России, обусловленное сочетанием естественных факторов почвообразования с видами хозяйственной деятельности человека ([Почвоведение, 1988](#)), можно обозначить ряд направлений исследований на краткосрочную перспективу. Они состоят в изучении метагенома почв: целинных, сформированных в условиях антропогенного воздействия, деградированных и коренным образом преобразованных, постагрогенных, постмелиоративных и т.п.

В силу неоднородности почв представляется оправданным исследование микробиома на уровне педов и более низких уровнях: порового пространства, частиц илистого и коллоидного размера. Для успешного решения этих задач следует привлекать современные физические методы исследования почв, позволяющие изучать микроуровень почвенной среды, например, микроструктурное описание и магнитно-резонансную томографию порового пространства. Анализ комплекса таких данных обеспечит наиболее полное представление об экологических условиях обитания микробного сообщества, позволит выявить значимость микроорганизмов в процессах почвообразования.

Актуальными представляются редко используемые в мировой почвенной метагеномике исследования микробиомов почвообразующих пород различного состава и генезиса. Влияние таких свойств материнских пород, как минералогический и гранулометрический состав, засоленность и карбонатность, создают тот фон, на который накладываются другие факторы, определяющие структуру почвенных микробных сообществ.

Кроме того, перспективны мультидисциплинарные подходы к изучению функций и сервисов почв. В мировой науке эта идеология развивается весьма интенсивно ([Daniel, 2005](#); [Myrold et al., 2014](#); [Hungate et al., 2015](#); [Stulberg et al., 2016](#)).

Методы, основанные на анализе тотальной ДНК, обладают большой информативностью, однако лишь опосредованно раскрывают экологические и сервисные функции почвенного микро-

биома ([Torsvik, Øvreås, 2002](#)). Более “физиологический” метод – анализ биомаркеров – позволяет выделить молекулы, характерные для той или иной группы организмов, следы физиологической деятельности которых реально проявляются в почве. Под биомаркерами здесь понимаются не только традиционные липидные, но и различные молекулярные следы жизнедеятельности, например, фенольные производные, маркеры лигнина, нефтяные маркеры ([Sobeih et al., 2008](#); [Lopez-Dias et al., 2010](#); [Derenne et al., 2015](#); [Santana et al., 2015](#); [Swenson et al., 2015](#)). Здесь же открываются новые возможности для почвенной энзимологии, несколько “затененной” развитием молекулярной биологии. Определение ферментативной активности в почве позволяет оценить ее актуальную эколого-физиологическую активность, но практически не дает информации об организмах, ее обуславливающих ([Burns et al., 2013](#)).

Таким образом, по подходам можно выделить взаимодополняющий структурно-функциональный ряд:

– Метагеномный подход потенциально определяет всю генетическую информацию микробиома, в том числе о покоящихся формах и отмерших микроорганизмах.

– Анализ биомаркеров позволяет оценивать и сравнивать состав микробиома, функционирующий на данный момент.

– Анализ ферментативной активности дает информацию об актуальной функциональности почв, но не позволяет определять таксономический состав микробиома.

Наиболее полная структурно-функциональная оценка почвенного микробиома предполагает совокупное использование всех перечисленных подходов. Очевидно, необходима оптимизация методологии оценки состава и функциональности почвенного микробиома за счет комплексного подхода с использованием как генетических, так и функциональных методов, способного дать максимум информации при минимуме затрат. Вероятно, наиболее удачной оптимизацией будет анализ молекулярных маркеров характеристик их совокупностей и сочетаний, дополненный данными о филогенетическом составе и ферментативной активности. Такой комплексный подход позволит оценивать на новом уровне обмен между педосферой, атмосферой, литосферой, гидросферой и биосферой.

Связи между микробиомами различных ценозов и сопряженных ландшафтов могут быть выявлены при помощи кросс-ландшафтного подхода. Кроссландшафтный подход ориентирован на поиск генетических, молекулярных, ферментативных и иных маркеров, по которым можно оценить связь удаленных ландшафтов, например, верховьев, средней части и дельты реки.

Важнейшая задача в этом аспекте – изучение и моделирование круговорота углерода. Почва является одновременно важнейшим источником и резервуаром, а почвенные микроорганизмы важным биотическим агентом продукции, эмиссии и поглощения углерода, например, лишь микроорганизмы способны как выделять, так и потреблять метан. Они же являются первым и самым чувствительным индикатором преобразований в почве и в биосфере, вызываемых глобальными климатическими нарушениями. Использование комплекса современных молекулярно-генетических и биохимических методов способно идентифицировать совокупность, количество и активность микробных агентов углеродного цикла. Вероятно, мировые тенденции “низкоуглеродного технологического развития экономики” после ратификации Парижского соглашения ([ООН, 2015](#)) создадут новые площадки и востребованность микробиологических исследований.

Как уже упоминалось, весьма своевременна работа над глобальной систематизацией знаний о пространственной организации почвенных микробных сообществ. Почва и населяющие ее микроорганизмы представляют собой единую систему, и изучение связи структурной иерархии почв и почвенного покрова с уровнями организации микробиомов является весьма актуальным. Таких уровней можно выделить как минимум четыре (табл. 1).

Нижний уровень, соответствующий структурным отдельностям почвы, определяет микролокусы, в которых непосредственно существуют популяции почвенных микроорганизмов. Следующий уровень почвенных горизонтов, характеризующийся примерно одинаковыми почвенными условиями (рН, содержанием органических веществ, условиями аэрации и увлажнения), объединяет микробные сообщества, сходные по структуре и функциональному составу. Далее почвенный профиль, как взаимосвязанная система горизонтов, через водный, воздушный и температурный режимы определяет общие условия жизни микроорганизмов в данной

Таблица 1. Соответствие структурной иерархии почв, уровней организации микробиома и элементов круговорота углерода

Уровень структурной иерархии почвы	Уровень организации микробиома	Элемент глобального круговорота углерода
Почвенные микролокусы	Непосредственно микробные популяции	Непосредственные процессы фиксации/эмиссии
Генетические горизонты	Сообщества микроорганизмов, существующие в однородных условиях	Количество фиксируемого/выделяемого углерода
Профиль почвы	Связь микробиомов разных горизонтов, обмен метаболитами	Баланс углерода для почвы в целом
Почвенные ареалы и ландшафты	Биогеография микробных сообществ	Общий баланс углерода

почве, закономерности их миграции по профилю и обмена продуктами жизнедеятельности. Наиболее высокий уровень – ареалы почвенных таксонов различного порядка – соответствует географическим закономерностям распределения микробных сообществ.

Такая иерархия вполне согласуется с глобальным круговоротом углерода: микробиом ландшафтов и ценозов влияет на общий баланс углерода на планете; взаимодействие почвенного микробиома с сопредельными средами определяет аккумулятивную способность, на уровне горизонта – количество фиксируемого углерода, а микробиом структурных отдельностей – механизм такой фиксации.

Еще одним направлением возможного развития современной микробиологии почв являются комплексные исследования динамики микробных сообществ и почвенных свойств. Если пространственной изменчивости почвенных микробных сообществ посвящено значительное число современных генетических исследований ([Lauber et al., 2009](#); [Eilers et al., 2012](#); [Fierer et al., 2012](#)), то изучение изменений системы почва–микробиом во времени – широчайшая и пока еще малоисследованная тема, которая представ-

ляет просторное поле для применения современных молекулярных и информативных методов.

Краткосрочные изменения системы почва–микробиом (сезонную динамику и годовые колебания) возможно отследить на специально организованных для этой цели мониторинговых площадках на базе полевых стационаров или природных резерватов.

Более продолжительные временные отрезки совместной эволюции почв и микробиомов возможно изучать на примере разных стадий первичного почвообразования на минеральных субстратах и нарушенных почвах, а также постагрогенных почв или долговременных сельскохозяйственных опытов. Очевидный практический интерес в рамках этих исследований представляет рекультивация антропогенно-нарушенных грунтов и техногенных отложений. Перспективными объектами для таких исследований являются “хроноряды” площадок, соответствующих разным стадиям первичного почвообразования (например, закрепляющихся песков), а также разновозрастные отвалы горнорудных разработок.

Наиболее долгосрочные изменения системы почва–микробиом могут быть оценены только в геологическом масштабе времени, связанном с изменениями климата и основных факторов почвообразования. Исследования таких долговременных изменений возможны на примере погребенных и палеопочв, отражающих биоклиматические условия, характерные для времени их формирования. Основную задачу здесь представляет тщательный выбор объектов исследования – хорошо датированных, максимально изолированных от современной биосферы палеопочв, являющихся носителями информации о почвенных микробиомах предшествующих периодов. Соответствие предлагаемых направлений исследования динамики почвенных микроорганизмов, факторов изменений во времени и объектов исследования представлено в табл. 2.

Наконец, одной из важнейших практических целей изучения генетического и физиологического разнообразия почвенных микроорганизмов является его использование в сельскохозяйственной и медицинской биотехнологии.

Здесь уместно вспомнить имя Зельмана Ваксмана (1888–1973) – выдающегося ученого в области микробиологии и биохимии почв, одного из основоположников учения о гумусе, автора знаменитой монографии “Гумус. Происхождение, химический

Таблица 2. Предлагаемые направления изучения динамики системы почва–микроорганизмы в разных временных масштабах

Временной масштаб	Факторы динамики	Объекты
Месяцы–годы	Сезонные изменения, тренды эволюции почв	Мониторинговые площадки, стационары, полевые опыты
Годы–сотни лет	Первичное почвообразование, рекультивация нарушенных почв, растительные сукцессии, влияние агротехнологий	“Хроноряды” разновозрастных почв, долговременные сельскохозяйственные опыты, старозалежные почвы
Сотни лет и более	Изменения климата, основных процессов почвообразования	Погребенные и палеопочвы, многолетнемерзлые породы

состав и значение его в природе” ([Ваксман, 1937](#)). Он – единственный среди почвоведов лауреат Нобелевской премии по физиологии и медицине (1952) за “открытие стрептомицина, первого антибиотика, эффективного при лечении туберкулеза” ([Лауреаты Нобелевской..., 1992](#)).

Предыстория этого открытия такова: в 1932 г. американская ассоциация по борьбе с туберкулезом обратилась к Ваксману с просьбой изучить процесс разрушения палочки Коха в почве. Ученый дал заключение, что за этот процесс ответственны микробы-антагонисты. А к началу 40-х годов прошлого века после упорного изучения 10 тыс. различных почвенных микроорганизмов [Ваксманом и др. \(1946\)](#) был выделен сначала актиномицин, а затем и стрептомицин. Это яркий пример взаимопроникновения наук: сельскохозяйственной, биологической и медицинской – и тесной связи поисковой, фундаментальной и прикладной дисциплин с выходом на колоссальный практический результат – миллионы людей, спасенных от туберкулеза.

Примечательно, что действие первых антибиотиков, созданных в 30–40 гг. прошлого века, было эффективным на протяжении не одного десятка лет, более поздних – одного, максимум двух десятков лет; выпускаемые в последнее время в основном синте-

тические антибиотики действуют в течение нескольких лет. При этом эффективность их использования резко снизилась. Болезнетворные микроорганизмы выработали свои механизмы борьбы с антибиотиками. Вероятно, познание механизмов взаимодействия различных групп микроорганизмов с помощью современных технических возможностей геномики и протеомики позволит создать новые средства борьбы с болезнями растений, животных и человека.

Отдельно стоит отметить роль микробных сообществ почвы как регулятора ее агропроизводственных и биогеоценологических функций. Одним из основных экологических свойств почвенного микробиома является его крайне высокое биоразнообразие, которое непосредственным образом связано с решением проблем фитосанитарии. Важнейшей чертой высокопродуктивной почвы является наличие супрессирующей активности в отношении фитопатогенов. Появился обиходный, даже излишне фигуральный термин “здоровье почв” ([Doran et al., 1996](#); [Семенов, Соколов, 2016](#)). Супрессивность почвы – это показатель, характеризующий подавление патогенных организмов, обусловленный совокупным действием всей почвенной экосистемы ([Mazzola, 2002](#); [Stone et al., 2004](#)). Супрессивные почвы характеризуются очень низким уровнем развития болезней растений, зачастую даже в присутствии высоковирулентного патогена, причем чем выше микробное биоразнообразие, тем ниже активность фитопатогенов. Учитывая рассмотренную выше значимость микробного разнообразия почвы как огромного депоzitария генетической информации, способной найти применение в медицине и биотехнологии, становится очевидно, что изучение и поддержание этого разнообразия – насущное требование для обеспечения стабильного будущего. Исследовательская работа в этом направлении должна заключаться в метагеномном анализе микробных сообществ целинных, ненарушенных и незагрязненных почв как природного эталона, а также сравнительной оценке различных воздействий, особенно способов обработки почвы по их влиянию на структуру и разнообразие почвенного микробного сообщества.

Таковы основные перспективные направления развития отечественной почвенной биологии в аспекте изучения микробиома в теоретическом и практическом плане. При условии комплексного

подхода, использования современных аналитических технологий вместе со всеми знаниями классических научных школ, эти исследования способны как поднять на новый уровень фундаментальную науку в данной сфере, так и обогатить новаторскими решениями практические области, связанные со здоровьем человека, животных и культурных растений, охраной окружающей среды и рациональным природопользованием.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андронов Е.Е., Иванова Е.А., Перишина Е.В., Орлова О.В., Круглов Ю.В., Белимов А.А., Тихонович И.А. [Анализ показателей почвенного микробиома в процессах, связанных с почвообразованием, трансформацией органического вещества и тонкой регуляции вегетационных процессов](#) // Бюл. Почв. ин-та им. В.В. Докучаева. 2015. № 80. С. 83–94.
2. Ваксман З.А. Антибиотики, их природа, получение и применение. Лекции, читанные в Академии наук Союза ССР 8–12 августа 1946 г. М.: Изд-во АН СССР, 1946. 112 с.
3. Ваксман С.А. Гумус. Происхождение, химический состав и значение его в природе. М.: Огиз-Сельхозгиз, 1937. 471 с.
4. Иванов А.Л. Почвенный покров России: состояние, информационный ресурс, исследовательские задачи и прикладные проблемы (к 100-летию академика Г.В. Добровольского) // Бюл. Почв. ин-та им. В.В. Докучаева. 2016. № 82. С. 139–155. [doi: 10.19047/0136-1694-82-139-155](#)
5. Корвиго И.О., Перишина Е.В., Иванова Е.А., Матюк Н.С., Савоськина О.А., Чирак Е.Л., Проворов Н.А., Андронов Е.Е. Оценка длительного воздействия агротехнических приемов и сельскохозяйственных культур на почвенные микробные сообщества // Микробиология. 2016. Т. 85. № 2. С. 199–210. [doi: 10.7868/s0026365616020117](#)
6. Лауреаты Нобелевской премии: Энциклопедия. Пер. с англ. М.: Прогресс, 1992.
7. ООН. Парижское соглашение. 2015. 32 с. http://unfccc.int/files/essential_background/convention/application/pdf/russian_paris_agreement.pdf
8. Почвоведение. Ч. 2. Типы почв, их география и использование / Под ред. Ковды В.А., Розанова Б.Г. М.: Высш. шк., 1988. 368 с.
9. Семенов А.М., Соколов М.С. [Концепция здоровья почвы: фундаментально-прикладные аспекты обоснования критериев оценки](#) // Агрохимия. 2016. № 1. С. 3–16.
10. Цыганов В.Е., Андронов Е.Е., Долгих Е.А., Тихонович И.А. [От “ультра” до “мета”: современные технологии в биологических исследованиях](#) // Нанотехнологии. Экология. Производство. 2013. № 3. С. 37.

11. Чернов Т.И., Тхакахова А.К., Иванова Е.А., Кутовая О.В., Турусов В.И. Сезонная динамика почвенного микробиома многолетнего агрохимического опыта на черноземе Каменной Степи // Почвоведение. 2015. № 12. С. 1483–1488. doi: [10.7868/S0032180X15120059](https://doi.org/10.7868/S0032180X15120059)
12. Burns R.G., DeForest J.L., Marxsen J., Sinsabaugh R.L., Stromberger M.E., Wallenstein M.D., Weintraub M.N., Zoppini A. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions // Soil Biol. Biochem. 2013. V. 58. P. 216–234. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.11.009>
13. Daniel R. The metagenomics of soil // Nature Reviews Microbiology. 2005. V. 3. P. 470–478.
14. Derenne S., Quenea K. Analytical pyrolysis as a tool to probe soil organic matter // J. Analytical Appl. Pyrolysis. 2015. V. 111. P. 108–120. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaap.2014.12.001>
15. Doran J.W., Sarrantonio M., Liebig M.A. Soil Health and Sustainability // Advances in Agronomy. San Diego: Academic Press, 1996. V. 56. P. 1–54.
16. Eilers K.G., Debenport S., Anderson S., Fierer N. [Digging deeper to find unique microbial communities: The strong effect of depth on the structure of bacterial and archaeal communities in soil](#) // Soil Biol. Biochem. 2012. V. 50. P. 58–65. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.03.011>
17. Fierer N., Leff J.W., Adams B.J., Nielsen U.N., Bates S.T., Lauber C.L., Owens S., Gilberte J. A., Wall D.H., Caporaso J.G. [Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes](#) // PNAS. 2012. V. 109. No. 52. P. 21390–21395. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1215210110>
18. Handelsman J., Rondon M. R., Brady S. F., Clardy J., Goodman R. M. [Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products](#) // Chemistry Biology. 1998. V. 5. I. 10. P. 245–249. [http://dx.doi.org/10.1016/S1074-5521\(98\)90108-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1074-5521(98)90108-9)
19. Hungate B.A., Mau R.L., Schwartz E., Caporaso J.G., Dijkstra P., van Gestel N., Koch B.J., Liu C.M., McHugh T.A., Marks J. C., Morrissey E., Price L.B. [Quantitative microbial ecology through stable isotope probing](#) // Appl. Environ. Microbiology. 2015. V. 81 (21). P. 7570–7581. doi: 10.1128/AEM.02280-15
20. Lauber C.L., Hamady M., Knight R., Fierer N. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale // Appl. Environ. Microbiology. 2009. V. 75. No. 15. P. 5111–5120. doi: [10.1128/AEM.00487-09](https://doi.org/10.1128/AEM.00487-09)
21. Loegering W.Q. [Current concepts in interorganismal genetics](#) // Annual Review of Phytopathology. 1978. T. 16. № 1. P. 309–320 <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.py.16.090178.001521>
22. Lopez-Dias V., Borrego A. G., Blanco C. G., Arboleya M., Lopez-Saez J.A., López-Merino L. Biomarkers in a peat deposit in Northern Spain (Huelga de

- Bayas, Asturias) as proxy for climate variation // *J. Chromatography A*. 2010. V. 1217. P. 3538–3546. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2010.03.038>
23. *Mazzola M.* Mechanisms of natural soil suppressiveness to soilborne diseases // *Antonie van Leeuwenhoek*. 2002. V. 81. P. 557–564. doi: 10.1023/A:1020557523557
24. *Myrold D.D., Zeglin L.H., Jansson J.K.* The potential of metagenomic approaches for understanding soil microbial processes // *Soil Sci. Soc. Am. J.* 2014. V. 78. № 1. P. 3–10. doi: [10.2136/sssaj2013.07.0287dgs](http://dx.doi.org/10.2136/sssaj2013.07.0287dgs)
25. *Pershina E.V., Andronov E.E., Pinaev A.G., Provorov N.A.* [Recent advances and perspectives in metagenomic studies of soil microbial communities // Management of Microbial Resources in the Environment](#). Springer, 2013. P. 141–166. doi: 10.1007/978-94-007-5931-2_7
26. *Santana G.S., Knicker H., Gonzalez-Vila F.J., Gonzalez-Perez J.A., Dick D.P.* The impact of exotic forest plantations on the chemical composition of soil organic matter in Southern Brazil as assessed by Py–GC/MS and lipid extracts study // *Geoderma Regional*. 2015. V. 4. P. 11–19. <http://dx.doi.org/10.1016/j.geodrs.2014.11.004>
27. *Sobeih K.L., Baron M., Gonzalez-Rodriguez J.* Recent trends and developments in pyrolysis–gas chromatography // *J. Chromatography A*. 2008. V. 1186 (1–2). P. 51–66.
28. *Stone A.G., Scheuerell S.J., Darby H.M.* Suppression of Soilborne Diseases in Field Agricultural Systems: Organic Matter Management, Cover Cropping, and Other Cultural Practices // *Soil Organic Matter in Sustainable Agriculture*. Ed. Magdoff F., Weil Raton R.R. et al. CRC PRESS, 2004. P. 131–178.
29. *Stulberg E., Fravel D., Proctor L. M., Murray D. M., LoTempio J., Chrisey L., Garland J., Goodwin K., Graber J., Harris M. C., Jackson S., Mishkind M., Porterfield D. M., Records A.* An assessment of US microbiome research // *Nature Microbiology*. 2016. V. 1. P. 15015. doi: [10.1038/nmicrobiol.2015.15](http://dx.doi.org/10.1038/nmicrobiol.2015.15)
30. *Swenson T.L., Jenkins S., Bowen B.P., Northen T.R.* Untargeted soil metabolomics methods for analysis of extractable organic matter // *Soil Biol. Biochem.* 2015. V. 80. P. 189–198. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.10.007>
31. *Torsvik V., Øvreås L.* Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems // *Current Opinion in Microbiology*. 2002. V. 5. I. 3. P. 240–245. [http://dx.doi.org/10.1016/S1369-5274\(02\)00324-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1369-5274(02)00324-7)
32. *Wardle D.A.* [Communities and Ecosystems: Linking the Aboveground and Belowground Components](#). Princeton, New Jersey, USA: Princeton University Press, 2002. 408 p.

THE METHOD OF MICROBIOLOGICAL SOIL INVESTIGATIONS WITHIN THE FRAMEWORK OF THE PROJECT “MICROBIOME OF RUSSIA”

T. I. Chernov, V. A. Kholodov, B. M. Kogut, A. L. Ivanov

*V.V. Dokuchaev Soil Science Institute,
Pyzhevskii per. 7, Moscow, 119017 Russia
e-mail: e-mail: chern-off@mail.ru*

The methods of Russian soil biology for the purposes of the investigations of soils microbiome were studied. The most important methods are cross-disciplinary investigations of plant and microbial interactions, the role of microbiome in the forming of soil fertility and carbon cycle. For the purposes of the most complete description of soil microbiome functions we suggest to combine the methods of metagenomics (for the purposes of the assessment of the phylogenic diversity of the microorganisms), biomarkers analysis (for the purposes of determination of the functional diversity) and the changes in the enzyme activity (for the purposes of the assessment of the actual functioning of soils). The investigation of correlation of the structural soil hierarchy (from aggregates and microloci to the soil areas) and levels of microbial community organization (from microbial populations to bio-geographic regularities) will allow us to understand better the distribution and common specificities of soil and microorganisms interactions. Along with the investigation of spatial organization we suggest to study the dynamics of the soil microbiomes on different time lines: short-term changes (on the field monitoring areas), transformation during the soil forming process (on the “chronosequences” of the soil of a different age) and at the geologic time scale (on the example of buried soils). In this paper we consider the importance of the investigation of the diversity of the soil microorganisms as a source of the suppressing activity of soils as the largest depository of genetic information, important agent of the emission and fixation of atmospheric carbon. The comparative analysis of microbial diversity of disturbed and undisturbed soils and the assessment of outer impact on the soil microbiome is necessary for the preservation of soil biodiversity as one of the most valuable ecologic and biotechnologic resource. *Keywords:* metagenome, molecular markers, enzyme activity, soil suppressivity, ecology of microorganisms.

Ссылки для цитирования: Чернов Т.И., Холодов В.А., Когут Б.М., Иванов А.Л. Методология микробиологических исследований почвы в рамках проекта «микробиом России» // Бюл. Почв. ин-та им. В.В. Докучаева. 2017. Вып. 87. С. 100-113. doi: 10.19047/0136-1694-2017-87-100-113

Chernov T.I., Kholodov V.A., Kogut B.M., Ivanov A.L. The Method of Microbiological Soil Investigations within the Framework of the Project “Microbiome of Russia”, Byulleten Pochvennogo instituta im. V.V. Dokuchaeva, 2017, Vol. 87, pp. 100-113. doi: 10.19047/0136-1694-2017-87-100-113