

УДК 631.4:574.472

ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПРОКАРИОТНЫХ СООБЩЕСТВ ПОЧВ РАЗНЫХ БИОКЛИМАТИЧЕСКИХ ЗОН

© 2018 г. И. А. Тихонович^{1,*}, Т. И. Чернов², А. Д. Железова²,
А. К. Тхакахова², Е. Е. Андронов^{1,2}, О. В. Кутлова^{2,#}

¹ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии,
Россия, 196608 Санкт-Петербург, Пушкин-8, ш. Подбельского, 3

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

*e-mail: arriam2008@yandex.ru, chern-off@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-7977-2358>

Поступила в редакцию 07.12.2018, после доработки 13.12.2018,
принята в печать 15.12.2018

С помощью метода высокопроизводительного секвенирования был проведен полнопрофильный анализ таксономической структуры и разнообразия прокариотных сообществ почв зонального ряда: дерново-подзолистой, темно-серой, чернозема типичного, коричневой почвы, лугово-каштановой почвы и солонца. Определены филумы бактерий, составляющие основную часть почвенного прокариотного сообщества: Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Chloroflexi, Firmicutes, Gemmatimonadetes, Planctomycetes, Proteobacteria и Verrucomicrobia. Во всех почвах доминировали Proteobacteria и Actinobacteria, среди архей – филум Thaumarchaeota. Выявлены тренды изменения представленности филумов в почвах зонального ряда от таежных к сухостепным: уменьшение доли Acidobacteria и увеличение доли Actinobacteria в верхних горизонтах. Были оценены индексы разнообразия прокариотных сообществ генетических горизонтов исследованных почв. Во всех почвах выявлено снижение индексов разнообразия с глубиной залегания горизонта, с редким и небольшим увеличением в нижних структурно-метаморфических (ВМ), текстурных (ВТ) или аккумулятивно-карбонатных (ВСА) горизонтах. При рассмотрении прокариотных сообществ почв столь разного генезиса не было обнаружено определяющего влияния показателей рН и содержания органического вещества на индексы разнообразия. Различия в таксономической структуре и разнообразии прокариотных сообществ почв разных биоклиматических зон обусловлены совокупностью факторов: разницей в химических и физических свойствах почв, а также в водном и температурном режимах.

Ключевые слова: секвенирование, профильное распределение микроорганизмов, бактерии, археи, дерново-подзолистая почва, темно-серая почва, чернозем типичный, коричневая почва, лугово-каштановая почва, солонец

DOI: 10.19047/0136-1694-2018-95-125-153

Почва является самым большим резервуаром микробного разнообразия на Земле ([Daniel, 2005](#)). Суммарное биоразнообразие почвенных микроорганизмов значительно превышает микробное разнообразие водной среды и других местообитаний (опада и подстилки, филлосферы растений, тел животных, воздуха) при том, что последние изучены намного более полно ([Wardle, 2002](#); [Torsvik, Øvreås, 2002](#)). Благодаря уникальному устройству почвы как гетерогенной полифазной системы с высокой внутренней удельной поверхностью, в одном грамме почвы может содержаться до 10 млрд клеток микроорганизмов, относящихся к тысячам различных видов ([Torsvik, Øvreås, 2002](#)). Молекулярно-биологические и молекулярно-генетические методы, основанные на анализе выделенных из почвы препаратов ДНК, особенно методы секвенирования нового поколения, позволяют оценить структуру микробного сообщества *in situ* и широко применяются в настоящее время ([Fierer et al., 2005](#); [Jones et al., 2009](#); [Манучарова, 2010](#); [Чирак и др., 2013](#); [Semenov et al., 2018](#)). К преимуществам данного подхода по сравнению с другими методами относятся возможность изучения некультивируемых представителей микробного сообщества и высокая информативность анализа.

Населяющие почву микроорганизмы участвуют в осуществлении экологических функций почв и почвообразовательных процессов ([Zehnder et al., 2001](#); [Weller et al., 2002](#); [Basak and Biswas, 2010](#)). Основная биомасса почвенных бактерий, архей и грибов локализована в верхней части профиля и играет важную роль в трансформациях органического вещества, в то время как биологическая активность минеральных горизонтов почвы снижена ([Blume et al., 2002](#); [Eilers et al., 2012](#); [Semenov et al., 2018](#)). В связи с этим большинство работ о прокариотном сообществе почвы анализируют только ее верхние органические горизонты. Немногочисленные исследования почвенной микробиоты, основанные на анализе тотальной ДНК и библиотек гена 16S и касающиеся более глубоких слоев почвы, обычно лишь грубо разделяют профиль на поверхностную

и подповерхностную части, или на формальные слои по глубине ([Fierer et al., 2003](#), [Eilers et al., 2012](#)). Между тем, школой генетического почвоведения еще в XIX в. было сформировано представление о почвенном профиле как о системе генетических горизонтов, различающихся по происхождению и свойствам. Именно исследования совокупности генетических горизонтов представляются перспективными для изучения экологических особенностей почвенных микробных сообществ и их связи со свойствами почв.

Почвенный покров Российской Федерации разнообразен: обширная территория с выраженной широтной зональностью включает практически все биоклиматические зоны. Европейская территория России хорошо исследована с точки зрения генетического почвоведения, однако крайне мало изучалась с точки зрения анализа таксономической структуры прокариотного сообщества современными молекулярно-биологическими методами.

Цель настоящего исследования – анализ таксономической структуры и разнообразия прокариотных сообществ генетических горизонтов зонального ряда почв и выявление ее связи с особенностями почвенного генезиса. На европейской территории России располагается ряд агробиологических станций, стационаров и природных резерватов с хорошо изученным почвенным покровом. Почвы подобных площадок, относящихся к разным природным зонам и типам климата, служили базой для настоящего исследования.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись прокариотные сообщества почв, расположенных на пяти опорных площадках регулярных почвенных исследований. Площадки приурочены к разным природным зонам европейской части России: южной тайги, широколиственных лесов, лесостепей, полупустынь и полусухих субтропиков. В описаниях названия почв приводятся по трем основным используемым в настоящее время классификациям ([Классификация и диагностика почв СССР, 1977](#); [Классификация и диагностика почв России, 2004](#); [WRB, 2014](#)). Индексация горизонтов приведена в соответствии с Классификацией и диагностикой почв России (2004). При обсуждении результатов используются традиционные краткие названия почв.

1. Дерново-подзолистая легкосуглинистая почва на покровных суглинках, подстилаемых моренными отложениями (постагрогенная дерново-палево-подзолистая), Albeluvisol по классификации WRB, далее – дерново-подзолистая. Разрез заложен в октябре 2014 г. на залежном участке территории учебно-опытного почвенно-экологического центра “Чашниково” МГУ им. М.В. Ломоносова, расположенного в Солнечногорском районе Московской области (N 56°2'21.03", E 37°10'8.49"). Территория относится к зоне южной тайги, подзоне елово-широколиственных лесов. Водоразделы территории заняты дерново-подзолистыми почвами разной степени оподзоленности, оглеенности, смывтости и намытости, окультуренности ([Абрукова и др., 1986](#)). Климат умеренно-континентальный, с суровой снежной зимой и теплым летом. Среднегодовая температура 3.5°C, самый холодный месяц – январь (–10.3...–10.6°C), самый теплый – июль (17.5–17.8°C) ([Абрукова и др., 1986](#)). Годовое количество осадков достигает 600–650 мм, большая часть их выпадает летом, на долю снега приходится 17–48% осадков. Отрицательные температуры, которые наблюдаются в почве с января по март, не достигают 50 см, лишь в наиболее холодные и малоснежные зимы на открытых местах почва промерзает до 75–100 см. Почвы водоразделов формируются на покровных суглинках, подстилаемых мореной или флювиогляциальными песками и супесями, или непосредственно на ледниковых отложениях.

AУ, 0–6 см. Окраска однородная, коричневато-серая. Свежий, легкосуглинистый, комковатый, рыхлый, мягкий. Много корней. Граница ровная, переход по обилию корней.

AУra, 6–15 см. Окраска однородная коричневато-серая. Свежий, легкосуглинистый, комковатый, рыхлый (но плотнее вышележащего), мягкий. Граница ровная, переход плавный по цвету и плотности.

AУel,f, 15–35(38) см. Окраска палево-коричневато-серая. Свежий, пылеватый легкий суглинок, уплотненный, твердоватый. Структура комковато-плитчатая. Fe-Mn конкреции и примазки, червороины, антропогенные включения. Граница карманная, переход явный по цвету.

ELf, 35(38)–47 см. Окраска палевая. Свежий, опесчаненный средний суглинок, твердоватый, плотный. Структура плитчато-

чешуйчатая. Fe-Mn примазки. Граница языковатая, переход ясный по цвету и гранулометрическому составу.

BEI, 47–70 см. Окраска палево-бурая. Свежий, среднесуглинистый, твердый, плотный. Структура призматически-столбчатая. Fe-Mn конкреции (около 10 % площади среза). Граница ровная, переход неясный по цвету.

BT, 70–85 см. Окраска буровато-палевая. Свежий, среднесуглинистый, твердый, плотный. Структура глыбисто-призматическая. Граница ровная, переход неясный по цвету.

BCg, 85–110 см. Окраска буровато-сизоватая. Влажноватый, среднесуглинистый, твердый, плотный. Структура призматическая. Осветленный глей по краям структурных отдельностей. Граница ровная, переход неясный по гранулометрическому составу.

C, 110–125 см. Окраска буроватая. Влажноватый, тяжелосуглинистый, плотный, твердый. Структура крупно-призматическая. Граница ровная, переход четкий по цвету.

D, >125 см. Красноватая морена, глинистый.

2. Темно-серая лесная тяжелосуглинистая почва на тяжелых лёссовидных суглинках (темно-серая со вторым гумусовым горизонтом), Luvic Retic Greyzem Phaeozem (Loamic) по классификации WRB, далее – темно-серая. Разрез заложен в июне 2014 г. в лесном массиве на Богословском стационаре Почвенного института им. В.В. Докучаева, Каширский район Московской области, между с. Ледовские Выселки и с. Елькино (N 54°46'37.52", E 38°01'55.34"). Территория относится к зоне широколиственных лесов; на водоразделах распространены темно-серые лесные почвы, сформированные на покровных суглинках. Растительность покров на данном участке представлен широколиственным липово-дубовым лесом с примесью мелколиственных деревьев. Климат территории умеренно-континентальный, среднегодовая температура воздуха около 3.9°C, средняя температура воздуха самого теплого месяца (июль) +17.7°C, самого холодного (январь) –0.5°C. Среднее количество осадков за год – 450–650 мм.

AU1, 0–15 см. Темно-серый с буроватым оттенком, свежий, тяжелосуглинистый, рыхлый. Структура комковато-зернистая. Очень много корней, перерыв почвенной фауной, много копролитов. Переход по структуре.

AU2, 15–30 см. Темно-серый с буроватым оттенком. Структура комковато-порошистая, встречаются зоогенные зоны с копрогенной

структурой. Местами уплотнен, очень много корней, тонких и до 2 см в диаметре, встречаются кротовины. Переход по плотности и структуре;

AУЗ, 30–40 см. Прерывистый, встречается фрагментарно. Темно-серый с бурым оттенком с белесыми скелетанами. Уплотненный. Структура комковато-порошистая, местами неясноплитчатая (угловатые плитки), комковато-плитчатая. Переход по структуре, окраске и наличию скелетанов.

ВЕL(hh), 40–55(60) см. Окраска неравномерная (темно-серая, белесая, бурая до углистого). Тяжелосуглинистый, плотный, пористый, много крупных ходов червей (5–6 на см²). Структура ореховатая, местами неясноплитчатая, по границам, на разломе темные гумусовые кутаны и обильные белесые скелетаны; большие “орехи” распадаются на мелкие. Нижняя граница языковатая, волнистая, переход по окраске и структуре.

ВТ1, 55(60)–85 см. Бурый с серыми глинисто-гумусовыми кутанами с редкими белесоватыми скелетанами. Плотный, влажный. На глубине 80 см – кротовина, заполненная темным материалом. Структура – ореховато-призматическая, в отличие от предыдущего горизонта призмы имеют вертикальную ориентацию, структурные отдельности крупнее.

ВТ2, 85–110 см. Окраска неоднородная: бурый с серыми потеками, более увлажнен, тяжелосуглинистый до глинистого. Структура глыбисто-призматическая. Много гумусовых потеков. Вязкий, плотный, корней меньше, чем в вышележащем горизонте.

ВТ3, 110–140 см. Похож на предыдущий, но встречаются орштейны, примазки, структура неясно-глыбистая, переход постепенный, встречаются темные гумусовые потеки (по ходам корней или морозобойным трещинам).

ВС, >140 см. Темно-бурый, плотный, тяжелый лёссовидный суглинок.

3. Чернозем типичный легкоглинистый на лёссовидных легких глинах (постагрогенный миграционно-мицелярный), *Haplic Chernozem* (*Pachic, Clayic*) по классификации WRB, далее – чернозем. Разрез заложен в июле 2014 г. на косимой залежи на территории агроэкологического стационара “Каменная Степь” НИИСХ ЦЧП им. В.В. Докучаева в Воронежской области (N 51°01'51", E 40°43'39"). Территория Каменной Степи представляет собой, изборозженную пологими балками и неоформленными степными западинами слабоволнистую равнину. Основной почвенный покров

территории представлен черноземами обыкновенными (сегрегационными) средней мощности (занимают около 40 % территории) и типичными (миграционно-мицеллярными), приуроченными к повышенным водоразделам и верхним частям склонов (~35% территории). Климат можно охарактеризовать как типично степной, умеренно континентальный с холодной зимой и теплым (нередко жарким и засушливым) летом. Сумма атмосферных осадков составляет в среднем 420–440 мм/год, в последние годы (2000–2006 гг.) количество осадков резко возросло и составляет около 600 мм. Гидротермический коэффициент по многолетним наблюдениям составляет ~1.0, т.е. это засушливая антициклоническая область умеренного пояса, переходная зона от лесостепи к степи с неустойчивым увлажнением ([Чевердин, 2013](#)).

AU1, 0–14(15) см. Дернина. Черный (10YR 2/1), сухой, легкоглинистый. Зернистая структура. Плотно сцеплен корнями травянистых растений. Переход заметный по количеству корней. Граница почвы ровная.

AU_{ра}, 14(15)–30 см. Меньше корней, чем в вышележащем горизонте. Структура, сочетающая зернистые агрегаты и округленные агрегаты с острыми ребрами и матовыми гранями $d = 5–8$ мм. Много копролитов, горизонт рыхлый. Переход заметный по сложению, граница ровная.

AU2, 30–50 см. Зернистая структура, собранная в призматические прочные отдельности. Встречаются корни, ходы.

AU3, 50–65(67) см. По окраске на срезе приобретает буроватый оттенок (10YR 3/1, внешние грани 2/1). Встречаются редкие кротовины, корни, ходы, в том числе вертикальные ($d = 3–7$ мм). Переход резкий по вскипанию, граница слабоволнистая.

AUBCA_{зоо}, 65(67)–84 см. Неоднородный по окраске за счет ходов землероев, заполнен разным материалом: черным, желто-бурым, бурым и смешанным. Индекс зоо, отсутствующий в используемой классификации, в данном случае означает высокую степень зоогенной обработки. Бурно вскипает от HCl. Морфологического выделения карбонатов практически нет, за исключением лабильных прожилок в кротовинах.

BCA_{мс}, 84–100(105) см. Во влажном состоянии 7.5YR 5/4, в сухом – 10.5YR 7/4. Глинистый, свежий, структура призматическая. Редко встречаются карбонаты в виде прожилок, вертикальная цилиндрическая скважность $d = 0.5–1$ мм. Кротовины с серым материалом.

Открытые вертикальные ходы $d = 6-8$ мм. Стенки ходов покрыты темным материалом, по ним проходят корни. Встречаются трещины, заполнены темным материалом. Переход постепенный по обилию карбонатного мицелия и появлению примазок.

BCAmc,q, 100(105)–155 см. Отличия от горизонта BCAmc: чаще встречается карбонатный мицелий, мелкие бурые примазки 0.25–0.5 мм, ходы кротовины.

4. Коричневая карбонатная тяжелосуглинистая почва на красноцветной карбонатной коре выветривания (коричневая типичная среднемелкая карбонатная тяжелосуглинистая на карбонатном элювии терра-росса), Rodic Cambisol Alcalic по классификации WRB, далее – коричневая. Разрез заложен в октябре 2014 г. в ксерофитном лесу на склоне южного побережья полуострова Крым на территории заповедника “Мыс Мартьян”, расположенного на южном берегу полуострова Крым (N 44°30'34.8", E 34°14'53.5"). Растительность отличается богатством видов и близка к средиземноморской, на территории заповедника располагаются ксерофитные леса с обилием древовидного можжевельника. В верхней части южного склона в качестве почвообразующих пород чаще всего выступают продукты выветривания известняков. На климат южного берега Крыма в значительной степени сказывается смягчающее влияние моря, по климатическим характеристикам он может быть отнесен к северо-восточной окраинной области средиземноморского климата. Средняя годовая температура воздуха – 12–13°C, причем около 150 дней в году средняя суточная температура воздуха выше 15°C. Средняя температура июля и августа 24°C, января – 4°C. Годовое количество осадков около 600 мм (на территории заповедника “Мыс Мартьян” – около 560 мм), максимальное количество осадков выпадает зимой, меньше всего осадков выпадает в августе и апреле–мае.

AU, 0–10(21) см. Буро-серый (7.5YR 3/2). Сухой, тяжелосуглинистый, уплотненный. Структура комковато-ореховатая. Пронизан корнями деревьев и травянистой растительности. Граница волнистая, переход ясный.

ABM, 10(21)–32(34) см. Коричневато-красно-бурый (2.5YR 4/4). Тяжелосуглинистый, плотный. Структура ореховато-комковатая. Встречаются корни и скопления белых мицеллярных нитей

(предположительно, разлагающиеся корни растений, опутанные грибным мицелием). Граница ровная, переход постепенный.

ВМго1, 32(34)–55 см. Красно-бурый (5YR 5/6). Тяжелосуглинистый, плотный. Структура крупнопризматически-плитчатая. Встречаются корни. Граница волнистая, переход ясный.

ВМго2, 55–67(72) см. Желтовато-коричневый (7.5YR 5/6). Тяжелосуглинистый, плотный. Встречаются обломки сильно разрушенного известняка. Граница слабоволнистая, переход ясный.

ВСАго, 67(72)–95 см. Желтовато-бурый. Тяжелосуглинистый, плотный. Структура крупноореховато-плитчатая. Вскипает от HCl. Включения карбонатной щебенки. Граница ровная, переход ясный.

ВСса, 95–126 см. Желтовато-палевый. Тяжелосуглинистый, плотный. Структура крупноореховатая. Бурно вскипает от HCl. Включения фрагментов известняка, карбонатной щебенки.

5. Почвы сухостепного солонцового комплекса. Две контрастные по условиям формирования геохимически сопряженные почвы вскрыты на целинном участке Джаныбекского стационара Института лесоведения РАН (Прикаспийская низменность, Волго-Уральское междуречье) (N 49°23'57", E 46°48'38"): солонец мелкий легкосуглинистый на лёссовидных средних суглинках (солонец светлый) на микроповышении и лугово-каштановая легкосуглинистая почва на лёссовидных средних суглинках (каштановая квазиглееватая), далее – лугово-каштановая, в западине.

Территория представляет собой практически бессточную равнину, сложенную однородными тяжелыми бурыми лёссовидными карбонатными суглинками, почвенный покров представлен преимущественно трехчленными комплексами солонцов, каштановых солонцеватых и лугово-каштановых почв ([Роде, Польский, 1961](#)). Уровень грунтовых вод на начало XXI в. находится на глубине 4–5 м ([Сапанов, 2007](#)). Небольшое количество осадков (250–350 мм/год) и высокая испаряемость (около 1000 мм/год) определяют семиаридный тип климата с полупустынными или сухостепными ландшафтами.

Эталонные почвенные разрезы были заложены в 2013 г. на геохимически сопряженных элементах микрорельефа, характерных для данной местности. В западине глубиной около 20 см была диагностирована лугово-каштановая легкосуглинистая на лёссовидных средних суглинках (каштановая квазиглееватая почва), Np1c

Kastanozem (Siltic) по классификации WRB, далее – лугово-каштановая. На микроповышении, на расстоянии 15.5 м от разреза лугово-каштановой почвы локализован солонец мелкий легкосуглинистый на лессовидных средних суглинках (солонец светлый), Gypsic Salic Solonetz (Albic, Siltic, Columnic, Cutanic, Differentic) по классификации WRB, далее – солонец.

Профиль лугово-каштановой легкосуглинистой почвы:

AU, 0–7 см. Плотная темно-серая дернина, густо переплетена корнями. Сухой. Переход заметный по уменьшению переплетения корнями.

AUe1, 7–20 см. Темно-серый с большим количеством тонких и крупных корней. Структура неоднородная: крупнокомковатая при обилии корней, между розетками корней – порошисто-линзовидная. Сухой, легкий суглинок. Переход постепенный по появлению буроватых зон.

AUBMK, 20–45 см. Неоднородно окрашен: буровато-серые, местами серовато-бурые крупные пятна (кротовины). В разных по цвету зонах характерная разная структура: в серых зонах – комковатая, в бурых – тонкая, уплощенная непрочная призмовидность.

BMK, 45–71 см. Неоднородно окрашенный – на каштановом фоне темно-серые пятна и языки (вертикальные ходы слепышонка), встречаются биотубулы ($d \sim 1.5\text{--}2$ см). Сухой. Среднесуглинистый. Структура мелкоореховатая с тенденцией образования уплощенных призм.

CAT, 71–105 см. Буровато-каштановый, среднесуглинистый. Структура многопорядковая: уплощенные призмы легко распадаются на мелкие орешки с $d \sim 1$ см, которые при легком надавливании распадаются на зернистые мелкие агрегаты $d \sim 0.3\text{--}0.5$ см. Переход заметный по увеличению плотности и цвету.

CATq, 105–140 см. Желтовато-бурый, плотный. Структура призмовидно-ореховатая, с глинисто-гумусовыми темными кутанами по граням структурных отдельностей, там же много тонких корней. Редко разбросанные “языки” крупной белой белоглазки диаметром от 6–7 мм до 1 см. Много мелких палевых прожилок, червячков, точек, с небольшим количеством корней, встречаются марганцевые примазки.

Csa,q, 140–145 см. Бурый с темно-коричневыми кутанами по граням структурных отдельностей, плотный. На разломе поблескивают кристаллы гипса. Карбонатная белоглазка единична, структура – непрочная, уплощенно-призмовидная, местами мелко глыбистая.

Профиль солонца мелкого легкосуглинистого:

AJEL, 0–7(10) см. Светло-палево-серый, сверху вниз отмечается изменение структуры: в верхней части – чешуйчато-линзовидная, внизу – комковатая. Сухой, легкосуглинистый, тонкопылеватый, слегка уплотненный. Корни растений распределены в виде розеток. Переход постепенный, граница волнистая.

BSN, 7(10)–14 см. Неоднородная окраска: палево-белесые зоны приурочены к верхней части плотных призматических структурных отдельностей, которые на изломе имеют кофейно-серый цвет. Сухой, плотный, тонкопористый, среднесуглинистый. Большое количество корней разного размера. На срезе в горизонте видны мелкие железистые конкреции и примазки. На корнях растений висят бусины остро-реберных мелких агрегатов. Переход заметный по плотности, цвету и структуре.

BSN_{dc}, 14–24(26) см. Солонцовый горизонт. Кофейный, очень плотный. Структура призматическая с делимостью на отдельные угловатые агрегаты при приложении силы. Тяжелосуглинистый, свежий. Переход постепенный по цвету и плотности.

BSN_{s,nc}, 24(26)–33(36) см. Бурый, с кофейными по цвету кутанами на гранях структурных отдельностей. Структура уплощенно-призматическая. Менее плотный (по сравнению с вышележащим горизонтом), среднесуглинистый, свежий. В нижней части появляются гипсовые прожилки и мелкие карбонатные пятна, которые распределены гнездами. Переход заметный по появлению большого количества солевых новообразований.

BCA_s, 33(36)–57 см. Неоднородная окраска: на буром фоне в отдельных зонах встречается большое количество пятен и прожилок белого и палевого цвета – гипсовые и карбонатные новообразования. Менее плотный и более свежий по сравнению с вышележащим горизонтом. Классический (Роде, Польский, 1961) псевдопесчаный среднесуглинистый подсолонцовый горизонт. Структура непрочноглыбистая, встречается биогенное заполнение ходов. Переход заметный по цвету и уменьшению количества солевых новообразований.

BCA_{s,cs}, 57–100 см. Желтовато-бурый, менее плотный, чем вышележащий горизонт, глыбистый, с редкими разбросанными округлыми стяжениями (диаметром до 1 см) из мелких кристаллов гипса, по отдельным ходам отчетливо видны солевые заполнения. Структура уплощенно-глыбистая. Среднесуглинистый, граница волнистая. Переход заметный по уменьшению округлых солевых стяжений.

Сса,s, 100–150 см. Светло-желтовато-палевый. Среднесуглинистый. Структура глыбистая непрочная, характерны редкие округлые солевые стяжения.

Образцы массой 5–10 г для микробиологического анализа отбирали в трех повторностях из средних частей каждого генетического горизонта, до выделения ДНК почву хранили при температуре -70°C . Химический анализ образцов проводили в аналитическом испытательном центре Почвенного института им. В.В. Докучаева; результаты представлены в табл. 1. Значения рН почвенной суспензии (1 : 2.5) определяли потенциометрически на рН-метре рН-410. Обменный Na определяли методом Пфедфера в модификации Молодцова и Игнатовой ([Хитров, Понизовский, 1990](#)). Определение общего содержания углерода и азота проводили при помощи высокотемпературного окисления образца на анализаторе liquiTOC cube компании Elementar Analysensysteme (Германия). Содержание CO_2 карбонатов определяли ацидиметрическим способом. Содержание углерода органического вещества в черноземах, солонце и коричневой почве определяли по разнице общего содержания углерода и углерода карбонатов, в дерново-подзолистой почве – принимали равным общему содержанию углерода, в темно-серой и лугово-каштановой почве – определяли по методу И.В. Тюрина с титриметрическим окончанием ([Воробьева, 1998](#)).

ДНК из замороженных образцов выделяли из 0.2 г почвы по модифицированной методике ([Андронов и др., 2011](#)), подробно описанной в публикации ([Железова и др., 2015](#)). Для подготовки к секвенированию препараты тотальной ДНК использовали в качестве матрицы для реакции ПЦР с парой универсальных праймеров к варибельному участку V4 гена 16S рРНК – F515 (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA) и R806 (GGACTACVSGGGTATCTAAT) ([Bates et al., 2011](#)). В праймеры вводили олигонуклеотидные идентификаторы и служебные последовательности, необходимые для пиросеквенирования по протоколу фирмы “Roche” (Швейцария). Подготовку проб и секвенирование выполняли на приборе GSJunior (Roche, Швейцария) согласно рекомендациям производителя. Работу проводили с

использованием оборудования ЦКП “Геномные технологии, протеомика и клеточная биология” ФГБНУ ВНИИСХМ.

Обработку данных, полученных в результате секвенирования гена 16S рРНК, проводили при помощи программы QIIME ([Caporaso et al., 2010](#)). При помощи инструментов программы осуществляли проверку качества секвенирования и создание библиотеки сиквенсов, формирование ОТЕ (OTU picking) на основе 97% порога сходства сиквенсов по библиотеке реферативных сиквенсов базы данных “Greengenes” (версия от августа 2013 г.), удаление синглтонов (“singletons” – ОТЕ, содержащих только один сиквенс). Филогенетический состав прокариотных сообществ на разных таксономических уровнях определяли при помощи базы данных разнообразия гена 16S рРНК “Greengenes”. Были рассчитаны показатели общего разнообразия прокариотных сообществ (альфа-разнообразия): количество выделенных ОТЕ (S_{obs} , аналог видового богатства), индекс Шеннона ($H = -\sum p_i \ln(p_i)$, где p_i – доля i -го вида в сообществе) и индекс Chao1, оценивающий предположительное реальное количество ОТЕ в сообществе ($Chao1 = S_{obs} + a^2/2b$, где S_{obs} – число обнаруженных ОТЕ, a – число ОТЕ, содержащих 1 сиквенс, b – число ОТЕ, содержащих 2 сиквенса). При расчете индексов разнообразия проводили нормализацию данных по образцу с минимальным числом полученных сиквенсов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Химические свойства почв. Были проанализированы химические свойства почв разных биоклиматических зон, результаты представлены в табл. 1. Для всех почв определяли показатели водного рН и процентного содержания углерода, в то время как другие показатели (CO_2 карбонатов, содержание обменного натрия) были использованы для южных почв для диагностики определенных процессов – выщелачивание карбонатов, осолонцевание.

Наибольшим содержанием углерода отличались верхние горизонты чернозема типичного и коричневой почвы, нижележащие горизонты этих почв были также богаты органическим веществом. В дерново-подзолистой и темно-серой почве было выявлено резкое снижение содержания органического вещества по профилю. Процесс накопления органического вещества является характерным для

Таблица 1. Химические свойства изученных почв

Горизонт	pH H ₂ O	C, %	N, %	СО ₂ карбонатов, %
Дерново-подзолистая почва				
AУpa	6.72	1.6	0.20	—
AУel.f	6.79	0.7	0.13	—
ELf	6.83	0.0	0.03	—
BEL	5.29	0.0	0.05	—
BT	5.29	0.0	0.04	—
BCg	5.24	0.0	0.04	—
C	5.30	0.0	0.05	—
Темно-серая почва				
AU1	5.49	3.7	—	—
AU2	5.14	2.2	—	—
AU3	—	—	—	—
BEL	5.52	1.7	—	—
BT1	5.65	0.0	—	—
BT2	5.86	—	—	—
BT3	5.99	—	—	—
BC	—	—	—	—
Чернозем типичный				
AU1	7.35	6.0	0.51	0.0
AУpa	7.35	4.4	0.37	0.0
AU2	7.67	3.4	0.28	0.0
AU3	7.45	2.8	0.23	0.0
AUBCAzoo	8.21	1.9	0.16	3.1
BCAmc	8.44	0.4	0.08	7.0
BCAmc.q	8.58	0.0	0.06	7.1
Коричневая почва				
AU	7.30	11.4	0.74	0.26
ABM	6.39	2.5	0.21	0.04
BMro1	6.77	1.2	0.14	0.04
BMro2	8.23	1.2	0.14	0.40
BMca.ro	8.38	1.0	0.11	2.88
BCca	8.38	2.0	0.1	7.39
Горизонт	pH H ₂ O	C, %	N, %	Na обменный. мг-экв/100 г
Лугово-каштановая почва				
AU1	6.27	4.6	—	0.02
AU2e	6.81	3.0	—	0.0
AUBMK	7.09	1.8	—	0.0

Горизонт	pH H ₂ O	C, %	N, %	Na обменный. мг-экв/100 г
BMK	7.55	1.2	–	0.0
CAT	8.34	0.0	–	0.0
CATg	8.47	–	–	0.0
		Солонец		
AJEL	7.17	0.9	–	0.69
BSN	8.11	0.6	–	5.82
BSNbc	8.14	1.1	–	10.11
BSNs.bc	8.34	0.0	–	8.94
BCAs	8.61	–	–	7.09
BCs	8.86	–	–	6.62
BC	8.77	–	–	6.68

почвообразования в лесостепной и степной зонах, он менее выражен в более холодном и более засушливом климате.

Карбонаты были выявлены в профиле коричневой почвы с верхнего горизонта, в черноземе они были выщелочены до горизонта AUBCAzoo.

Содержание обменного натрия было сопоставлено для комплекса солонца и лугово-каштановой почвы, формирующийся в условиях засушливого климата. Насыщение поглощающего комплекса почвы натрием является частью процесса осолонцевания. Высокая концентрация солей, выявленная во всех горизонтах солонца, может негативно влиять на микробное сообщество.

Методом высокопроизводительного секвенирования было проанализировано 85 образцов, относящихся к 42 генетическим горизонтам шести почвенных профилей. После проверки качества секвенирования, формирования ОТЕ и удаления синглтонов получено 127 507 сиквенсов, на один образец приходится от 792 до 7 740 сиквенсов, в среднем примерно 2 312 на образец. Длина сиквенсов после обработки (удаления олигонуклеотидных идентификаторов и служебных последовательностей) варьировала от 170 до 450 нуклеотидных оснований, в среднем составляя около 270 нуклеотидных оснований.

Анализ таксономического состава показал, что прокариотные сообщества исследованных почв преимущественно сформированы 9 филумами бактерий (Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes,

Chloroflexi, Firmicutes, Gemmatimonadetes, Planctomycetes, Proteobacteria и Verrucomicrobia) и филумом архей Thaumarchaeota (рис. 1). Во всех почвах доминируют Proteobacteria и Actinobacteria – филумы, включающие в себя широкий спектр бактерий с разными экологическими функциями. Представители доминирующего филума архей – Thaumarchaeota – являются трудно культивируемыми, но очень распространенными в почве окислителями аммония.

Почвы зон южной тайги и широколиственных лесов были сходны по таксономическому составу прокариотного сообщества. Это может быть связано со сходным водным режимом дерново-подзолистой и темно-серой почв, с элливиально-иллювиальным процессом и соответствующими изменениями химических и физических свойств этих почв, не проявляющихся в других изученных почвах. Наибольшую долю в прокариотных сообществах горизонтов этих почв имеет группа Proteobacteria, типично доминирующая в почвах. Помимо протеобактерий, значительную долю в сообществах составляют представители групп Actinobacteria и Acidobacteria. Многие роды ацидобактерий преимущественно выделялись из местообитаний с кислой и слабокислой реакцией среды ([Lauber et al., 2009](#), [Dedysh, Sinningh Damsté, 2018](#)), что объясняет их достаточно высокую долю в горизонтах дерново-подзолистой почвы. Следует отметить, что доля филума Actinobacteria в прокариотных сообществах дерново-подзолистой и темно-серой почв была невысока по сравнению с другими исследованными почвами – примерно 10–20% общего числа сиквенсов. Известно, что многие актинобактерии, в особенности их мицелиальные представители – актиномицеты – приспособлены к местообитаниям с низкой влажностью ([Звягинцев, Зенова, 2001](#)). По-видимому, это дает им преимущество в почвах сухого климата.

В условиях более южных биоклиматических зон основными почвообразующими процессами являются накопление органического вещества и миграция карбонатов по профилю. В черноземах и коричневой карбонатной почве доминирующими филумами бактерий были Actinobacteria, Proteobacteria, Verrucomicrobia. Доля филума Actinobacteria в сообществе возрастает (до 50% в некоторых горизонтах). Примечательна высокая представленность в гумусо-

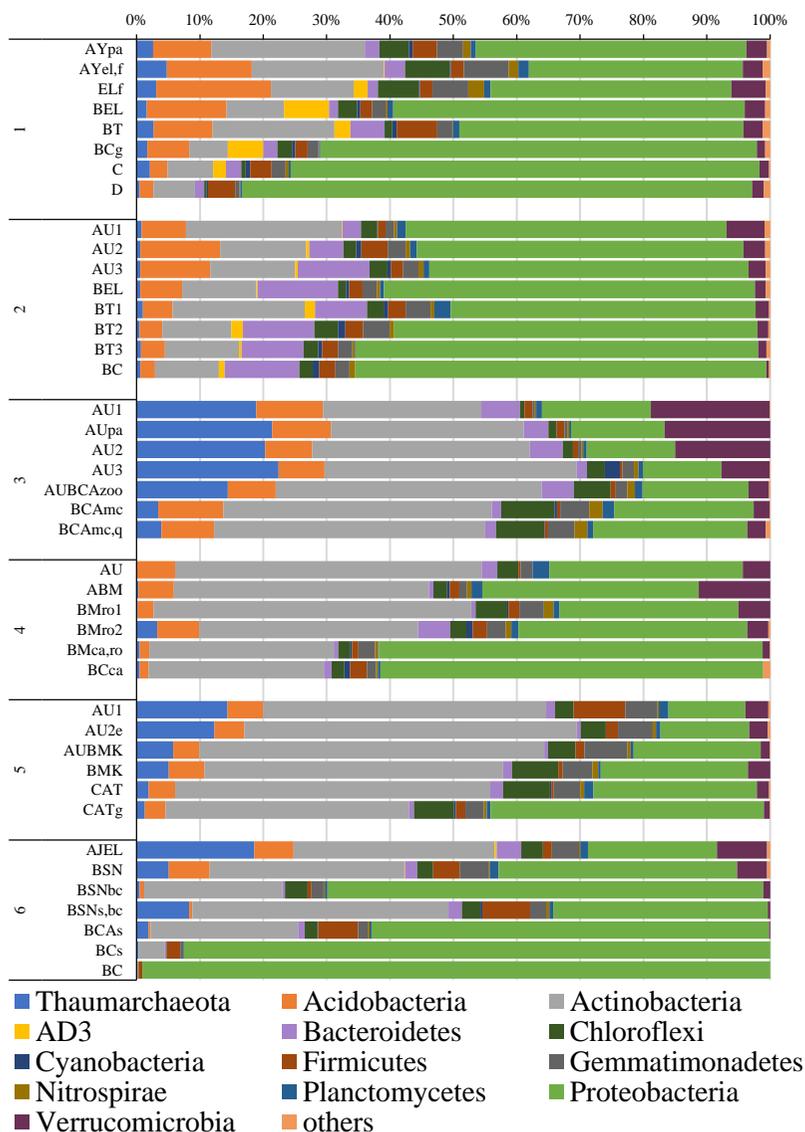


Рис. 1. Таксономическая структура (на уровне филумов) прокариотных сообществ генетических горизонтов дерново-подзолистой почвы (1), темно-серой почвы (2), чернозема типичного (3), коричневой почвы (4), лугово-каштановой почвы (5) и солонца (6).

вых горизонтах профиля архей филума Thaumarchaeota. В верхних органических горизонтах они составляют до 28% от общего количества прокариот, однако практически не обнаруживаются в ниже лежащих минеральных горизонтах. По некоторым оценкам, архей данного филума играют ключевую роль в процессе нитрификации, доминируя среди аммоний-окисляющих почвенных микроорганизмов ([Leininger, 2006](#)). Их представленность в почве, по литературным данным, положительно коррелирует с содержанием органического углерода и азота ([Bates, 2011](#)). Приуроченность Thaumarchaeota в исследованных микробиомах к гумусированным горизонтам соответствует литературным данным и может быть свидетельством их участия в переработке органического вещества почвы. Наибольшие доли представителей филума Thaumarchaeota наблюдалась в прокариотных сообществах верхних горизонтов степных почв: солонца, лугово-каштановой и черноземов.

Ограничивающими факторами развития микробного сообщества в почвах полупустынь являются низкая доступность воды, интенсивная инсоляция на поверхности, отложения токсичных солей. Изученные почвы – лугово-каштановая и солонец – различались по филогенетическому составу прокариотного сообщества. Доминирующими филумами были Actinobacteria и Proteobacteria, меньшую долю составляли Acidobacteria, Chloroflexi, Firmicutes, Gemmatimonadetes. Значительную долю в верхних горизонтах (более 10%), имеют представители филума Thaumarchaeota домена Archaea. В лугово-каштановой почве наблюдается постепенное увеличение доли протеобактерий с глубиной: с 12% в верхнем горизонте до 43% в нижнем. В солонце изменение доли протеобактерий с глубиной более резкое: возрастание с 20% в верхнем горизонте почти до 70% в солонцовом BSNbc (14–24 см), далее вновь уменьшение (33%) и далее увеличение с глубиной вплоть до абсолютного доминирования (99%) протеобактерий в нижнем горизонте BC. Выявлено, что близко расположенные почвы рассматриваемого почвенного комплекса заметно различаются по профильному распределению прокариотных сообществ. Поверхностные горизонты этих почв схожи по таксономическому составу микробиоты. Однако, если в профиле лугово-каштановой почвы прокариотное сообщество меняется с глубиной постепенно и

незначительно, то солонец характеризуется выраженной профильной дифференциацией. Это может быть связано с различием в водных режимах и в количестве солей: солонец формируется на микроповышении и теряет влагу атмосферных осадков за счет поверхностного стока и плотного солонцового горизонта, препятствующего промачиванию нижележащих слоев почвы.

Выявленные в этом исследовании экологические особенности структуры прокариотных сообществ ранее наблюдались другими методами почвенной микробиологии. Так, классическими культуральными методами была показана приуроченность некоторых представителей филума Acidobacteria к местообитаниям с низкими значениями pH ([Панкратов, 2012](#)), а Actinobacteria – к сухим почвам ([Звягинцев, Зенова, 2001](#)), выявлена зависимость общего разнообразия прокариотных сообществ от гетерогенности почвы ([Добровольская, 2002](#); [Марфенина, 2005](#)). Однако по ряду особенностей таксономическая структура прокариотных сообществ, выявленная в этом исследовании, отличается от описанной другими методами. Так, достаточно небольшие доли имеют филум Firmicutes, в том числе род Bacillus, роды Arthrobacter, Cellulomonas, Rhodococcus, Nocardia, Streptomyces и другие группы, которые считаются широко распространенными обитателями почв. Эти расхождения могут быть связаны с особенностями методов, основанных на анализе тотальной ДНК, так как вместе с генетическим материалом активных и покоящихся форм прокариот из почвы выделяют экзоцеллюлярную ДНК и ДНК отмерших клеток. Несмотря на то, что при используемом методическом подходе могут несколько искажаться соотношения между разными группами микроорганизмов, несомненно, основное его достоинство в изучении прокариотных сообществ – выявление групп, недоступных для обнаружения другими методами, но способных играть важную роль в функционировании экосистем.

Мерой разнообразия прокариотных сообществ почвы являются различные индексы. По данным сравнительного анализа наиболее подходящим для оценки филогенетического разнообразия прокариот стоит считать индекс Шеннона ([Чернов и др. 2015](#)), достаточно информативный при использовании на разных

таксономических уровнях, мало зависящий от объема выборки и обладающий хорошей воспроизводимостью.

Дерново-подзолистая почва, в которой эллювиально-иллювиальный процесс выражен более ярко, чем в темно-серой почве, отличается большей дифференцированностью профиля по химическим, физическим и морфологическим показателям. По общему филогенетическому разнообразию прокариотных биомов также наблюдается большая дифференцированность профиля дерново-подзолистой почвы и большая сглаженность изменений в профиле темно-серой почвы. Так, индекс Шеннона для прокариотных сообществ горизонтов дерново-подзолистой почвы варьирует в пределах 4.6–8.4, а для горизонтов темно-серой почвы – 5.8–7.7 (табл. 2). Текстурные (BT) горизонты обеих почв характеризуются более высоким биоразнообразием по индексу Шеннона, количеству ОТЕ и индексу Chao1, чем выше- и нижележащие, что может быть объяснено благоприятными условиями для прокариотного сообщества или механическим переносом клеток прокариот и внеклеточной ДНК вниз по профилю вследствие их сорбции на илистых и пылеватых частицах или напрямую с током воды. Изменение структуры и разнообразия прокариотных сообществ по профилям дерново-подзолистой и темно-серой почв, вероятно, обусловлено их генетическими особенностями – эллювиально-иллювиальной дифференциацией.

Оценка альфа-разнообразия прокариотных сообществ чернозема не показала однозначного изменения по профилю индексов Шеннона, количества обнаруженных ОТЕ и индекса Chao1. Индекс Шеннона для всех горизонтов варьирует в нешироких пределах от 6 до 7.2, причем в горизонте ВСА_{ms} наблюдается более высокое значение, чем в гумусовой части профиля. Схожее распределение индексов альфа-разнообразия наблюдалось в коричневой почве, где в одном из минеральных горизонтов (ВМг_{o2}) было выявлено более высокое биоразнообразие, чем в верхнем высокогумусированном горизонте АU. Особенностью строения горизонта ВМг_{o2} является большое количество контрастных микролокусов, служащих местобитаниями микроорганизмов с разной экологической спецификацией.

Таблица 2. Индексы биоразнообразия прокариотных сообществ изученных почв

Горизонт	Индекс Шеннона	Число ОТЕ	Индекс Chaol
Дерново-подзолистая почва			
AУpa	8.4	448	693
AУel,f	8.2	431	710
ELf	7.9	404	709
BEL	6.5	285	492
BT	7.3	384	695
BCg	5.3	176	286
C	5.4	201	328
D	4.6	147	219
Темно-серая почва			
AU1	7.7	401	711
AU2	7.1	364	642
AU3	7.1	353	616
BEL	6.2	283	531
BT1	6.9	342	612
BT2	6.1	253	394
BT3	5.8	259	446
BC	5.8	222	394
Чернозем типичный			
AU1	6.8	254	509
AУpa	6.2	201	387
AU2	6.0	181	328
AU3	6.0	184	343
AUBCAzoo	6.5	211	380
BCAmc	7.2	238	419
BCAmc,q	6.1	201	359
Коричневая почва			
AU	8.0	486	616
ABM	7.0	352	500
BMro1	7.4	395	547
BMro2	8.4	612	749
BMca,ro	6.0	316	407
BCca	6.1	333	461
Лугово-каштановая почва			
AU1	7.3	337	547
AU2e	7.3	324	621
AUBMK	7.2	304	578
BMK	7.4	324	561

Горизонт	Индекс Шеннона	Число ОТЕ	Индекс Chao1
CAT	7.3	306	490
CATg	7.0	282	451
Солонец			
AJEL	7.4	343	526
BSN	7.2	347	674
BSNbc	5.1	146	248
BSNs,bc	5.8	164	254
BCAs	5.5	150	243
BCs	3.6	69	138
BC	3.1	38	58

Разнообразие прокариотного сообщества, согласно количеству обнаруженных ОТЕ, индексов Шеннона и Chao1, в поверхностных горизонтах солонца и лугово-каштановой почвы практически одинаково, несмотря на существенные различия их химических свойств. Однако изменение индексов разнообразия по профилю этих почв различно, что подчеркивает важность полнопрофильного анализа для нахождения различий в микробиоте почв разных типов. В нижних горизонтах профиля солонца биоразнообразие значительно снижается, низким альфа-разнообразием также характеризуется солонцовый горизонт BSNbc (14–24 см), который обладает высокой плотностью, тяжелым гранулометрическим составом, и наибольшим содержанием обменного натрия. Лугово-каштановая почва, напротив, по всему профилю характеризуется практически неизменным биоразнообразием прокариот.

Во многих работах по изучению таксономической структуры прокариотных сообществ почв встречаются выводы о том, что биоразнообразие определяется в первую очередь такими показателями, как pH среды и содержание углерода ([Drenovsky et al., 2004](#); [Lauber et al., 2009](#); [Bru et al., 2011](#)). Однако в данном исследовании подобной связи не обнаружено. По-видимому, pH и содержание углерода хорошо коррелируют с микробным разнообразием при анализе однородных субстратов, например, почв одного типа. Различия между прокариотными сообществами почв разных биоклиматических зон обусловлены совокупностью факторов: разницей в химических и физических свойствах почв, различиями водного и температурного режимов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Филогенетическая структура прокариотного сообщества определяется сочетанием экологических условий в почве. Проведенное исследование позволило выявить связь структуры и разнообразия прокариотного сообщества с особенностями генезиса почвы и свойствами различных генетических горизонтов. Выявлены тренды изменения представленности филумов в почвах зонального ряда от северных до южных: уменьшение доли *Acidobacteria* и увеличение доли *Actinobacteria* в верхних горизонтах. Специфические особенности изменений разнообразия прокариотных сообществ связаны со свойствами отдельных генетических горизонтов и почв в целом.

Таким образом, сочетание современных молекулярно-биологических методов высокопроизводительного секвенирования с классическим подходом генетического почвоведения является многообещающим способом решения глобальных вопросов экологии почвенных микроорганизмов, касающихся взаимосвязи таксономической структуры прокариотных сообществ и свойств почвы.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ № 17-76-30016.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андронов Е.Е., Пинаев А.Г., Першина Е.В., Чижевская Е.П. Выделение ДНК из образцов почвы (методические указания). СПб.: ВНИИСХМ РАСХН, 2011. 27 с.
2. Аbruкова В.В., Акульшина Е.А., Афанасьева Т.В., Белан В.С. и др. Почвенно-агрономическая характеристика АБС Чашниково. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1986. 95 с.
3. Воробьева Л.А. Химический анализ почв. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1998. 272 с.
4. Добровольская Т.Г. Структура бактериальных сообществ почв. М.: ИКЦ Академкнига, 2002. 282 с.
5. Железова А.Д., Кутовая О.В., Дмитренко В.Н., Тхакахова А.К., Хохлов С.Ф. Оценка количества ДНК разных групп микроорганизмов в генетических горизонтах темно-серой почвы // Бюл. Почв. ин-та им. В.В. Докучаева. 2015. 87–98.
6. Звягинцев Д.Г., Зенова Г.М. Экология актиномицетов. М.: ГЕОС, 2001. 256 с.

7. Классификация и диагностика почв России. Смоленск: Ойкумена, 2004. 342 с.
8. Классификация и диагностика почв СССР. М.: Колос, 1977. 223 с.
9. Манучарова Н.А. Молекулярно-биологические аспекты исследований в экологии и микробиологии. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2010. 47 с.
10. Марфенина О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов. М.: Медицина для всех, 2005. 195 с.
11. Роде А.А., Польский М.Н. Почвы Джаныбекского стационара, их морфологическое строение, механический и химический состав и физические свойства // Тр. Почв. ин-та им. В.В. Докучаева. 1961. Т. 56. С. 3–214.
12. Панкратов Т.А. Ацидобактерии в микробных сообществах болотных и тундровых лишайников // Микробиология. 2012. Т. 81. № 1. С. 56–63
13. Сапанов М.К. Синхронность изменения уровней Каспийского моря и грунтовых вод в Северном Прикаспии во второй половине XX в. // Известия РАН. Сер. географическая. 2007. № 5. С. 82–87.
14. Хитров Н.Б., Понизовский А.А. Руководство по лабораторным методам исследования ионно-солевого состава нейтральных и щелочных минеральных вод. М.: Почв. ин-т им. В.В. Докучаева, 1990. 236 с.
15. Чевеердин Ю.И. Изменения свойств почв юго-востока Центрального Черноземья под влиянием антропогенного воздействия. Каменная Степь: Истоки, 2013. 335 с.
16. Чернов Т.И., Тхакахова А.К., Кутюва О.В. Оценка различных индексов разнообразия для характеристики почвенного прокариотного сообщества по данным метагеномного анализа // Почвоведение. 2015. № 4. С. 462–468.
17. Чирак Е.Л., Першина Е.В., Дольник А.С., Кутюва О.В. и др. Таксономическая структура микробных сообществ в почвах различных типов по данным высокопроизводительного секвенирования библиотек гена 16S рРНК // Сельскохозяйственная биология. 2013. № 3. С. 100–109.
18. Basak B.B., Biswas D.R. Co-inoculation of potassium solubilizing and ni-trogen fixing bacteria on solubilization of waste mica and their effect on growth promotion and nutrient acquisition by a forage crop // Biology and Fertility of Soils. 2010. V. 46. № 6. P. 641–648.
19. Bates S.D. Berg-Lyons J.G. Caporaso W.A., et al Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soil // The ISME Journal. 2011. V. 5. P. 908–917
20. Blume E., Bischoff M., Reichert J.M., Moorman T. et al Surface and subsurface microbial biomass, community structure and metabolic activity as a function of soil depth and season. // Appl. Soil Ecol. 2002. V. 20. P. 171–181.
21. Bru D., Ramette A., Saby N.P., Dequiedt S. Determinants of the distribution of nitrogen-cycling microbial communities at the landscape scale // ISME Journal. 2011. V. 5 P. 532–542.

22. *Caporaso J.G., Kuczynski J., Stombaugh J. et al.* QIIME allows analysis of high throughput community sequencing data // *Nature methods*. 2010. V. 7. No. 5. P. 335–336
23. *Daniel R.* The metagenomics of soil // *Nature Reviews Microbiology*. 2005. V. 3. P. 470–478.
24. *Dedysh S.N., Sinnighe Damsté J.S.*, Acidobacteria // *eLS* 2018. P. 1–10. doi:10.1002/9780470015902.a0027685
25. *Drenovsky R.E., Vo D., Graham K.J., Scow K.M.* Soil water content and organic carbon availability are major determinants of soil microbial community composition // *Microbial Ecology*. 2004. V. 48. P. 424–430.
26. *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.
27. *Fierer N., Jackson J. A., Vilgalys R., Jackson R.B.* Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays // *Appl. Environ. Microbiol.* 2005. V. 71 P. 4117–4120.
28. *Fierer N., Schimela J.P., Holden P.A.* Variations in microbial community composition through two soil depth profiles // *Soil Biol. Biochem.* 2003. P.167–176.
29. *Jones R.T., Robeson M.S., Lauber C.L., Hamady M.A* comprehensive survey of soil acidobacterial diversity using pyrosequencing and clone library analyses // *The ISME J.* 2009. V. 4. P. 442–453.
30. *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 // *Applied and Environmental Microbiology*. 2009. V. 75. No. 15. P. 5111–5120.
31. *Leininger S., Urich T., Schloter M., Schwark L.* Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils // *Nature*. 2006. V. 442. P. 806–809.
32. *Semenov M.V., Chernov T.I., Tkhakakhova A.K., Zhelezova A.D. et al.* Distribution of prokaryotic communities throughout the Chernozem profiles under different land uses for over a century // *Appl. Soil Ecol.* 2018 I. 127. P. 8–18.
33. *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.
34. *Wardle D.A.* *Communities and Ecosystems: Linking the Aboveground and Belowground Components* / Princeton, New Jersey, USA: Princeton University Press, 2002. 408 p
35. *Zehnder G.W., Murphy J.F., Sikora E.J., Kloepper J.W.* Application of Rhizobacteria for induced resistance // *European Journal of Plant Pathology*. 2001. V. 107. № 1. P. 39–50.

Бюллетень Почвенного института им. В.В. Докучаева. 2018. Вып. 95.
Dokuchaev Soil Bulletin, 2018, 95

36. IUSS Working Group WRB. World Reference Base for Soil Resources 2014. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports No. 106. FAO, Rome. 2014. 181 p.

TAXONOMIC STRUCTURE OF PROKARYOTIC COMMUNITIES IN SOILS OF DIFFERENT BIOCLIMATIC ZONES

**I. A. Tikhonovich^{1,*}, T.I. Chernov², A. D. Zhelezova², A. K.
Tkhakhova², E. E. Andronov^{1,2}, O. V. Kutovaya^{2,#}**

¹All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology,
Russia, 196608, Sankt-Peterburg, Pushkin-8, shosse Podbel'skogo, 3

²V.V. Dokuchaev Soil Science Institute,
Russia, 119017, Moscow, Pyzhevskii, 7

*e-mail: arriam2008@yandex.ru, chern-off@mail.ru[#] <https://orcid.org/0000-0002-7977-2358>

Received 07.12.2018, Revised 13.12.2018, Accepted 15.12. 2018

Using high-throughput sequencing, we performed a full-profile analysis of the taxonomic structure and diversity of prokaryotic communities of zonal soil series: sod-podzolic, dark gray, typical chernozem, brown soil, meadow-chestnut soil and solonets. Phyla Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Chloroflexi, Firmicutes, Gemmatimonadetes, Planctomycetes, Proteobacteria and Verrucomicrobia formed up to 95% of prokaryotic communities in all studied soil horizons. Phyla Proteobacteria and Actinobacteria and archaeal phylum Thaumarchaeota dominated in all soils. We revealed the trends of changes in the representation of bacterial phyla in the soils of the zonal range from taiga to dry-steppe: a decrease of Acidobacteria and an increase of Actinobacteria in the upper horizons. The diversity indices of the prokaryotic communities of different genetic horizons of the studied soils were evaluated. In all soils, a decrease in diversity indices with the depth of the horizon was revealed. In all soils, a decrease in diversity indices with depth of the horizon was found, with a rare and slight increase in some lower horizons: structural metamorphic (BM), textural (BT) or accumulative carbonate (BCA) horizons. When examining the prokaryotic communities of soils with different genesis, no determining influence of pH and organic matter contents on the diversity indices was found. Differences in the taxonomic structure and diversity of prokaryotic communities of soils of different bioclimatic zones were presented due to a combination of factors: the difference in chemical and physical properties of soils, as well as in water and temperature conditions.

Keywords: next-generation sequencing, profile distribution of microorganisms, Bacteria, Archaea, sod-podzolic soil, dark gray soil, chernozem, brown soil, chestnut soil, solonets

REFERENCES

1. Andronov E.E., Pinaev A.G., Pershina E.V., Chizhevskaya E.P. *Solution of DNA from soil samples (guidelines)*, St. Petersburg, 2011, 27 p. (in Russian)
2. Abrukova V.V., Akul'shina E.A., Afanas'eva T.V., Belan B.C. et al. *Soil and agronomical characteristics of Chashnikovo research station*, Moscow, 1986, 95 p. (in Russian)
3. Vorob'eva L.A. *Soil chemical analysis*, Moscow, 1998, 272 p. (in Russian)
4. Dobrovolskaja T.G. *The structure of soil bacterial communities*, Moscow, 2002, 282 p. (in Russian)
5. Zhelezova A.D., Kutovaya O.V., Dmitrenko V.N., Tkhakakhova A.K., Khokhlov S.F. Estimation of DNA quantity in different groups of microorganisms within genetic horizons of the dark-gray soil, *Dokuchaev Soil Bulletin*, 2015, V.78, pp. 87–98.
6. Zvjaginцев D.G., Zenova G.M. *Ecology of actinomycetes*, Moscow, 2001, 256 p. (in Russian)
7. *Classification and diagnostics of soil Russia*. Smolensk, 2004, 342 p. (in Russian)
8. *Classification and diagnostics of USSR soils*, Moscow, 1977, 223 p. (in Russian)
9. Manucharova N.A. *Molecular biological aspects of research in ecology and microbiology*, Moscow, 2010. 47 p. (in Russian)
10. Marfenina O.E. *Anthropogenic ecology of soil fungi*, Moscow, 2005, 195 p. (in Russian)
11. Rode A.A., Pol'skij M.N. Soils of Dzhanybek research station, their morphology, physical and chemical contents and properties, *Trudy Pochvennogo instituta im. V.V. Dokuchaeva*, Moscow, 1961, V. 56, pp. 3–214.
12. Pankratov T.A. Acidobacteria in microbial communities of the bog and tundra lichens, *Microbiology*, 2012, V. 81, № 1, P. 51–58
13. Sapanov M.K. Synchronism of changes in the levels of the Caspian Sea and groundwater in the Northern Caspian in the second half of the 20th century, *Izvestija RAN. Serija geograficheskaja*, 2007, № 5, pp. 82–87 (in Russian)
14. Khitrov N.B., Ponizovskij A.A. *Guidelines for laboratory methods for estimation of salt and ion contents in neutral and alkaline mineral waters*, Moscow, 1990, 236 p. (in Russian)

15. Cheverdin J.I. *Changes of soil properties in the East-South of Central Chernozem Region under anthropogenic influence*, Kamennaja Step', 2013, 335 p. (in Russian)
16. Chernov T.I., Tkhakakhova A.K., Kutovaya O.V. Assessment of diversity indices for the characterization of the soil prokaryotic community by metagenomic analysis, *Eurasian Soil Science*, 2015, V. 48, No. 4, pp. 410–415.
17. Chirak E.L., Pershina E.V., Dol'nik A.S., Kutovaya O.V. et al. Taxonomic structure of microbial association in different soils investigated by high throughput sequencing of 16S rRNA gene libraries, *Sel'skohozjajstvennaja biologija*, 2013, No. 3, pp. 100–109 (in Russian)
18. Basak B.B., Biswas D.R. Co-inoculation of potassium solubilizing and nitrogen fixing bacteria on solubilization of waste mica and their effect on growth promotion and nutrient acquisition by a forage crop, *Biology and Fertility of Soils*, 2010, V. 46, No. 6, pp. 641–648.
19. Bates S.T., Berg-Lyons D., Caporaso J.G., Walters W.A. et al. Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soil, *The ISME Journal*, 2011, V. 5, pp. 908–917
20. Blume E., Bischoff M., Reichert J.M., Moorman T. et al. Surface and sub-surface microbial biomass, community structure and metabolic activity as a function of soil depth and season, *Appl. Soil Ecol.*, 2002, 20, pp.171–181.
21. Bru D., Ramette A., Saby N. P., Dequiedt S. Determinants of the distribution of nitrogen-cycling microbial communities at the landscape scale, *The ISME Journal*, 2011, V. 5, pp. 532–542.
22. Caporaso J.G., Kuczynski J., Stombaugh J. et al. QIIME allows analysis of high throughput community sequencing data, *Nature methods*, 2010, V. 7, No. 5, pp. 335–336
23. Daniel R. The metagenomics of soil, *Nature Reviews Microbiology*, 2005, V. 3, pp. 470–478.
24. Dedysh S.N., Sinninghe Damsté J.S., Acidobacteria, *eLS*, 2018. pp. 1–10. doi:10.1002/9780470015902.a0027685
25. Drenovsky R.E., Vo D., Graham K.J., Scow K.M. Soil water content and organic carbon availability are major determinants of soil microbial community composition, *Microbial Ecology*, 2004, V. 48, pp. 424–430.
26. 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, pp. 58–65.
27. Fierer N., Jackson J.A., Vilgalys R., Jackson R.B. Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays, *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, V. 71, pp. 4117–4120.

28. Fierer N., Schimela J.P., Holden P.A. Variations in microbial community composition through two soil depth profiles, *Soil Biol. Biochem.*, 2003, pp.167–176.
29. Jones R.T., Robeson M.S., Lauber C.L., Hamady M. A comprehensive survey of soil acidobacterial diversity using pyrosequencing and clone library analyses, *The ISME Journal*, 2009., V. 4, pp. 442–453.
30. 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, *Applied and Environmental Microbiology*. 2009. V. 75. No. 15. pp. 5111–5120.
31. Leininger S., Urich T., Schloter M., Schwark L. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils, *Nature*. 2006. V. 442. pp. 806–809.
32. Semenov M.V., Chernov T.I., Tkhakakhova A.K., Zhelezova A.D. et al. Distribution of prokaryotic communities throughout the Chernozem profiles under different land uses for over a century, *Appl. Soil Ecol.* 2018. No. 127. pp. 8–18.
33. Torsvik V., Øvreås L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems, *Current Opinion in Microbiology*. 2002. V. 5. No. 3. pp. 240–245.
34. Wardle D.A. *Communities and Ecosystems: Linking the Aboveground and Belowground Components* / Princeton, New Jersey, USA: Princeton University Press, 2002. 408 p.
35. Zehnder G.W., Murphy J.F., Sikora E.J., Kloepper J.W. Application of Rhizobacteria for induced resistance, *European Journal of Plant Pathology*, 2001, V. 107, No. 1, pp. 39–50.
36. *IUSS Working Group WRB. World Reference Base for Soil Resources 2014.* International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports No. 106. FAO, Rome. 2014. 181 p.

Ссылки для цитирования

Тихонович И. А., Чернов Т. И., Железова А. Д., Тхакахова А. К., Андронов Е. Е., Кутовая О. В. Таксономическая структура прокариотных сообществ почв разных биоклиматических зон // Бюл. Почв. ин-та им. В.В. Докучаева. 2018. Вып. 95. С. 125-153. doi: 10.19047/0136-1694-2018-95-125-153

For citation:

Tikhonovich I.A., Chernov T.I., Zhelezova A.D., Tkhakakhova A.K., Andronov E.E., Kutovaya O.V. Taxonomic structure of prokaryotic communities in soils of different bioclimatic zones, *Dokuchaev Soil Bulletin*, 2018, V. 95, pp. 125-153. doi:10.19047/0136-1694-2018-95-125-153