

ОЦЕНКА ДЛИТЕЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ БЕССМЕННОГО ВЫРАЩИВАНИЯ  
РАЗЛИЧНЫХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР  
НА МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА ПОЧВЫН. АЛЬСАЕД<sup>1</sup>, О.В. СЕЛИЦКАЯ<sup>1</sup>, Л.А. ПОЗДНЯКОВ<sup>2</sup>,  
И.А. ЗАВЕРТКИН<sup>1</sup>, Е.А. ШУБИНА<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева;  
<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова)

*Проведены исследования почвенных микробных сообществ под разными сельскохозяйственными растениями (лен, клевер, ячмень, картофель, озимая рожь), выращиваемыми в бессменных посевах и севообороте. Изучено влияние бессменного посева и севооборота на таксономический профиль прокариотической и грибной составляющих почвенного микробиома. Произведена оценка влияния бессменного выращивания культур и севооборота на фоне без внесения минеральных и органических удобрений на интенсивность метаболизма и устойчивость почвенной биоты. Объектом исследований служил Длительный опыт Российского государственного аграрного университета – МСХА имени К.А. Тимирязева, заложенный в 1912 г. профессором А.Г. Дояренко. Показано, что у грибов наибольшее значение операционной таксономической единицы (ОТЕ) было в почве под паром и севооборотом. Для прокариот, напротив, количество ОТЕ было самым низким в варианте севооборота. Установлено, что аскомицеты являются доминирующим таксоном грибов во всех исследованных образцах. У прокариот доминировали Proteobacteria и Acidobacteriota, далее – Actinobacteriota и Firmicutes, и в меньшей степени представлены Chloroflexi. Среди архей преобладал филум Crenarcheota. Показано, что бессменное выращивание культур в целом негативно сказывается на функционировании микробного сообщества. При оптимальном значении метаболического коэффициента 0,2 при монокультуре они достигали 0,6. Устойчивость микробного сообщества почвы снижена в результате бессменного выращивания картофеля, льна и клевера на фоне без внесения органических и минеральных удобрений, а также в варианте «вечного пара». Особенно неблагоприятные условия были отмечены при монокультуре картофеля. Бессменное выращивание зерновых, особенно озимой ржи, не ведет к существенному снижению активности почвенной биоты и устойчивости микробных сообществ почв. Севооборот позволяет оптимизировать микробиологические процессы в почве и повысить устойчивость микробного сообщества.*

**Ключевые слова:** Биологическое разнообразие, монокультура, бессменные посевы, севооборот, почва, грибы, прокариоты, дыхание, устойчивость

### Введение

Сельское хозяйство является одним из наиболее значимых видов антропогенной деятельности, влияющих на физические, химические и биологические свойства почв, а следовательно, и на функционирование почвенной биоты [37]. Биоразнообразие повышает стабильность и продуктивность экосистем. Это предположение было широко подтверждено для растительных сообществ [23]. По сравнению с экологией растений микробной

экологии все еще не хватает демонстрации взаимосвязи между биоразнообразием и функцией [19, 41], хотя широко признано, что микроорганизмы играют решающую роль во многих ключевых экосистемных функциях, связанных с плодородием почвы и качеством окружающей среды [6, 51]. Микроорганизмы являются компонентами почв и очень чувствительными к изменениям окружающей среды, в том числе к действиям человека и методам ведения сельского хозяйства [2, 12]. Особенности почвенного микробиома могут послужить универсальным и очень чувствительным индикатором состояния почвы, в том числе при оптимизации и биологизации систем земледелия [16]. Растительный покров является мощным фактором жизнедеятельности микроорганизмов. Видовые особенности растений в значительной степени определяют количественный и качественный состав почвенной биоты. Растения создают и формируют микробные ценозы и сообщества, воздействуя на микробное сообщество как корневой системой, так и пожнивными остатками. В свою очередь, видовой состав микроорганизмов ризосферы оказывает явное и существенное влияние на рост и развитие растений, а значит, и на их продуктивность [1, 10].

В последние годы получено достаточное количество данных, доказывающих влияние растений на формирование микробных сообществ ризосферы [3, 29, 32, 55]. Так, доказано, что микробное сообщество ризосферы видоспецифично для разных растений, поскольку корневые экссудаты разных видов и даже разных сортов одних и тех же растений различаются, и это вызывает различия в микробных сообществах ризосферы [35, 36]. Длительные стационарные полевые опыты, когда почва десятилетиями подвергается различным воздействиям, представляют собой уникальные модельные объекты для изучения влияния разнообразных приемов на микробные сообщества почвы. Большинство исследований на базе длительных опытов касаются таких приемов, как обработка почвы, внесение минеральных и органических удобрений, известкование, в то время как влияние бессменного выращивания различных культур часто остается вне поля зрения исследователей. Особенно это касается влияния на разнообразие и активность почвенной биоты.

Стационарный опыт РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева представляет собой уникальную площадку для проведения таких исследований. Ранее оценка длительного воздействия агротехнических приемов и сельскохозяйственных культур на базе длительного опыта проводилась В.А. Думновой и др. (2013) и О.И. Ковриго с соавт. (2016) [8, 9], однако она касалась только прокариотической части микробиома почвы и не затрагивала грибную составляющую. Надо отметить, что в целом информация о разнообразии грибов в почвах сельскохозяйственного использования складывается в основном на основании данных классических исследований по культивированию, и только в последние годы стали широко использоваться методы, независимые от культивирования [7, 27]. Оценка биологической активности биоты в целом на основании респирометрических показателей в рамках длительного опыта ранее не производилась. В то же время именно интенсивность почвенного дыхания служит основным интегральным показателем активности биологических процессов и экологического состояния почв [2].

**Цель исследований:** сравнительное изучение состава и активности прокариотического и грибного компонент микробных сообществ почвы, сформировавшихся под сельскохозяйственными растениями, выращиваемыми в бессменных посевах и севообороте.

### **Материал и методы исследований**

Для анализа были отобраны образцы почв Длительного полевого опыта РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, заложенного в 1912 г. А.Г. Дояренко.

На рисунке 1 представлен схематический план размещения сельскохозяйственных культур и вариантов внесения удобрений Длительного опыта МСХА. Исследуемые

образцы почв с бессменным выращиванием культур (лен, клевер, ячмень, картофель, озимая рожь), с бессменным паром и севооборотом во времени отбирали с фона без внесения извести и применения удобрений (на схеме они обозначены символом О).

Образцы почвы отбирали из междурядий с глубины 0–25 см с использованием почвенного бура. Отбор почвы был произведен 26 ноября 2021 г. До проведения анализа образцы хранились в замороженном состоянии при –18°C.

Земельный участок опыта площадью 1,5 га с уклоном на запад и северо-запад в 1,5–1,8 м расположен на южной окраине Клинско-Дмитровской возвышенности, представленной моренной равниной. Превышение над водным зеркалом р. Москвы составляет 60 м, а над уровнем моря (Балтийского) – 162 м.

Почва – дерново-средне- и слабоподзолистая, старопахотная, кислая и заплывающая [7]. Согласно классификации ФАО почва относится к Epistagnic Cutanic Albeluvisol.

Выделение ДНК из образцов почвы производили с помощью набора DNeasy Power Soil Kit (Qiagen, Германия) согласно протоколу производителя. Для проведения полимеразной цепной реакции V3-V4 региона гена 16S рРНК прокариот и ITS86F/ITS4R грибов для каждого из исследуемых образцов были использованы следующие пары праймеров [27, 52]:

1. 341F CCTACGGGNBGCASCAG  
806R GGACTACNVGGGTWTCTAATC
2. ITS86F GTGAATCATCGAATCTTTGAA  
ITS4R TCCTCCGCTTATTGATATGC

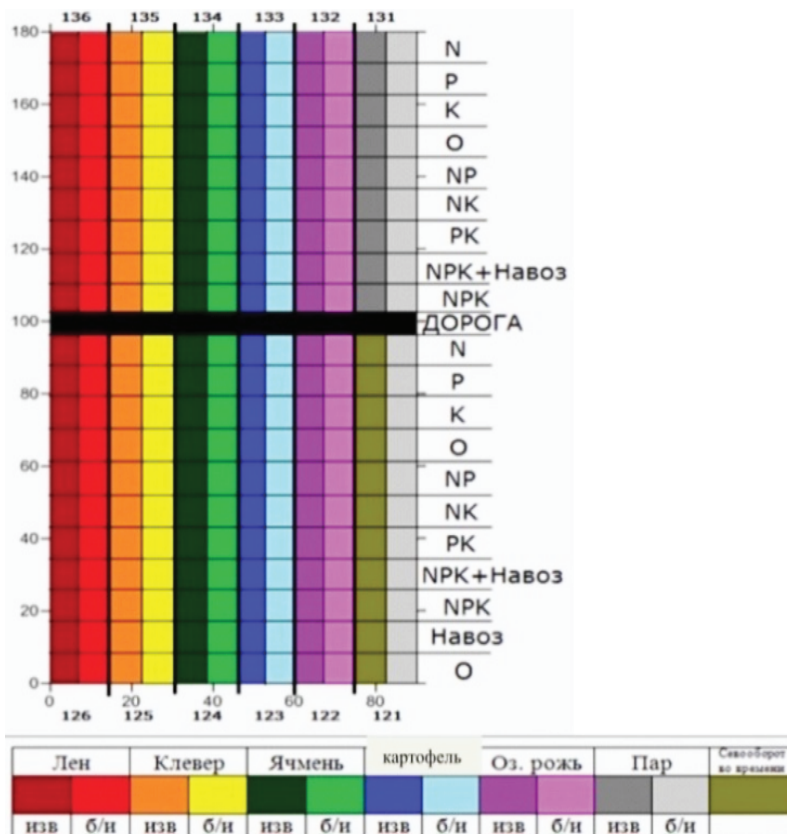


Рис. 1. Схематический план размещения культур и вариантов удобрений Длительного полевого опыта МСХА

К полученным ПЦР-фрагментам присоединяли специальные адаптеры, необходимые для дальнейшего баркодирования ПЦР-фрагментов, что позволило их секвенировать одновременно. Для этого ставили реамплификацию с праймерами:

```
341F_ILTCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCAGCCTACGGGNBGCASCAG
806R_ILGTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACNVGGGTWTCTAATCC
ITS86F_IL
TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGGTGAATCATCGAATCTTTGAA
ITS4R_IL
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG TCCTCCGCTTATTGATATGC
```

Нуклеотидная последовательность полученных ПЦР-фрагментов определена с помощью высокопроизводительного секвенатора MiSeq (Illumina, США). Проведено секвенирование V3-V4 переменных фрагментов гена 16S рРНК и ампликона ITS86F/ITS4R7 образцов. Для каждого образца определено не менее 10000 последовательностей фрагментов гена 16S рРНК.

Анализ проведен на базе Федерального исследовательского центра, ЦКП «Биоинженерия» Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН.

*Биоинформатика.* Парные пересекающиеся чтения объединяли с помощью программы Flash [33]. Затем были удалены низкокачественные чтения и выполнена кластеризация всех полученных последовательностей вместе программой Usearch, во время кластеризации алгоритмом Usearch так же удаляются химеры и синглтоны. Для определения размера кластеров (оперативных таксономических единиц – ОТЕ) в каждом образце все исходные объединенные чтения, включая синглтоны и низкокачественные прочтения, накладывались на репрезентативные последовательности ОТЕ с минимальной 97%-ной идентичностью на всей длине с помощью Usearch [24]. Для оценки альфа-разнообразия рассчитывали индекс ОТЕ, индекс Шенонна и индекс Чао1. Таксономическую классификацию полученных ОТЕ проводили по базе последовательностей 16S рРНК RDP database [54]. Индексы альфа-разнообразия рассчитывали с помощью программы USEARCH v.11 с использованием команды «alpha\_div» [24, 34].

Дыхание почвы определяли методом газовой хроматографии [1].

Перед анализом образцы почвы были просеяны через сито с размером ячеек 1 мм. Для определения базального дыхания в стеклянные флакончики в трехкратной повторности помещали 3 г почвы, добавляли 0,75 мл воды, герметично закрывали и инкубировали в течение 4 дней при температуре +25°C. Примерно за сутки до измерения концентрации CO<sub>2</sub> во флаконах было произведено проветривание. После этого флаконы герметизировали и инкубировали еще в течение 24 ч, а затем измеряли концентрацию CO<sub>2</sub> с помощью газового хроматографа Кристалл 5000. Далее определяли субстрат-индуцированное дыхание (СИД), для чего добавили во флаконы субстрат (глюкозу) из расчета 2,5 г/на 1 г почвы. Флаконы герметизировали и инкубировали в термостате при температуре +25 °C в течение 3 ч. Время инкубации почвы с глюкозой строго фиксировали. Скорость СИД (мкл CO<sub>2</sub>/ (г\*ч)) рассчитывали с учетом концентрации CO<sub>2</sub>, объема газовой фазы флакона, навески почвенного образца и времени его инкубации.

Базальное дыхание (БД) и субстрат-индуцированное дыхание (СИД) рассчитывали по формуле:

$$\text{дыхание} = \frac{12 \cdot 0,000041605460 \cdot (\text{конц}CO_2 \text{ ppm} - 400) \cdot (15 - V_{\text{п}} - V_{\text{в}})}{m_{\text{п}} \cdot t_{\text{и}}},$$

где V<sub>п</sub> – объем почвы; V<sub>в</sub> – объем воды; m<sub>п</sub> – масса почвы; t<sub>и</sub> – время инкубации.

Углерод микробной биомассы ( $C_{\text{мик}}$ ) почвы рассчитывали по формуле [11]:

$$C_{\text{мик}} \text{ (мкг С г-1 почвы)} = \text{СИД (мкл CO}_2 \text{ г-1 почвы ч-1)} \times 40,04 + 0,37.$$

Для оценки биологической активности рассчитывали метаболический коэффициент, который представляет собой отношение базального дыхания к субстрат-индуцированному дыханию [17].

Статистическая достоверность результатов исследований рассчитывалась с помощью программы Microsoft Office Excel 2019.

### Результаты и их обсуждение

*Анализ альфа-разнообразия прокариотических и грибных сообществ исследованных почв длительного полевого опыта.* Альфа-разнообразие включает в себя разнообразие внутри сообщества микроорганизмов, которое состоит из двух компонентов: количества видов и их обилия [15]. Для оценки биологического разнообразия необходимо использовать определенные показатели, среди которых наиболее часто применяются коэффициенты и показатели альфа-разнообразия. Альфа-разнообразие – это термин, используемый для описания разнообразия «внутри выборки». Это мера того, насколько разнообразен один образец, обычно с учетом количества наблюдаемых различных видов. Показатели альфа-разнообразия также часто анализируют по численности отдельных таксонов. В почвенной метагеномике для альфа-разнообразия используется показатель ОТЕ. ОТЕ – это последовательности, сгруппированные по сходству более чем на 97%. Индекс Шеннона позволяет судить об относительном распределении количества каждого вида в образце, и более высокое его значение указывает на большее разнообразие сообщества [34].

Индекс Чао1 – мера богатства микробных видов в исследуемом образце.

Показатели, характеризующие биоразнообразие прокариот и грибов в почве при монокультуре различных сельскохозяйственных растений и в севообороте, представлены в таблице 1.

Таблица 1

#### Индексы разнообразия прокариотической и грибной компонент микробиома дерново-подзолистой почвы Длительного полевого опыта РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева

Варианты опыта	Прокариоты			Грибы		
	ОТЕ	Индекс Шеннона	Индекс Чао1	ОТЕ	Индекс Шеннона	Индекс Чао1
Бессменный пар	7373	7.33	6731.1	89276	4.71	489.2
Монокультура льна	5741	7.52	6713.3	57546	4.39	419.7
Монокультура картофеля	10882	7.73	10888.3	61869	3.10	460.3
Монокультура озимой ржи	14820	7.34	10323.8	71117	4.57	471.2
Монокультура клевера	6859	6.92	4836.4	43926	4.58	394.7
Монокультура ячменя	5572	7.17	5044.6	65544	4.06	461.7
Севооборот во времени	4339	7.53	5773.6	75164	4.56	511.7

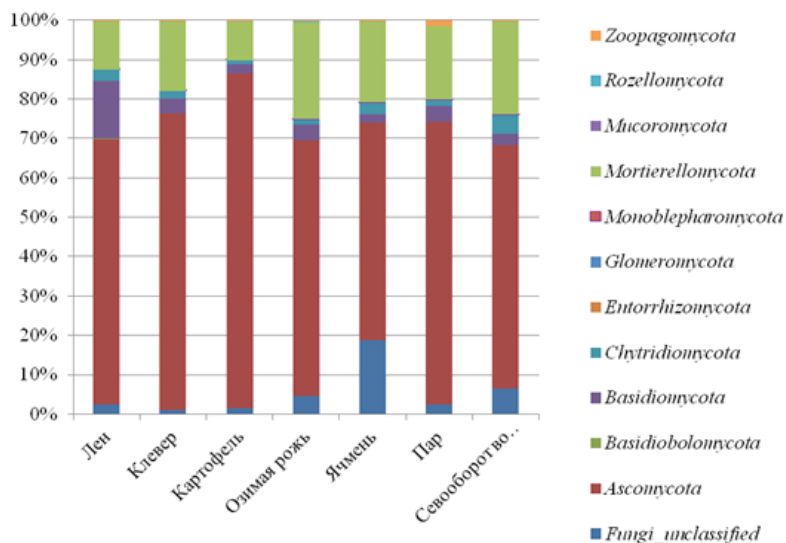
В целом количество ОТЕ прокариот было выше при монокультуре по сравнению с севооборотом во времени. Самые высокие значения были выявлены в почве под озимой рожью (14820), а самый бедный микробиом по количеству таксонов оказался в почве, где осуществлялся севооборот (4339). Известно, что севооборот оказывает сильное селективное влияние на структуру микробиома почвы [47]. Севообороты со временем увеличивают разнообразие растений, и как следствие – неоднородность имеющихся ниш в виде разнообразных ресурсов субстрата [48]. Растения выделяют в ризосферу первичные метаболиты (например, сахара, гормоны, ферменты) и биологически активные вторичные метаболиты, которые влияют на корневой микробиом [29, 32, 51, 55]. В то же время следует учитывать, что вспашка и другие приемы обработки гомогенизируют пахотный горизонт, активизируют процессы минерализации. Это приводит к снижению содержания органического вещества почвы и служит причиной уменьшения количества и сложности микробных ниш в агроземах [20, 28]. Также достаточно низкие значения ОТЕ прокариот были выявлены при бессменном выращивании таких растений, как ячмень и лен.

Самое высокое значение ОТЕ грибов было отмечено в почве под паром (89276), на втором месте – вариант с севооборотом (75164) в отличие от прокариот, для которых выявлено самое низкое значение в варианте «Севооборот во времени».

Биологическое разнообразие грибной компоненты микробиома, согласно индексу Шеннона, было самым высоким в почве под паром (4.71), а самым низким – в варианте монокультуры картофеля (3.10). Для прокариотической компоненты, напротив, индекс Шеннона был самым высоким именно в варианте с бессменным выращиванием картофеля. Что касается индекса Чао1 (индекса богатства), то наибольшее значение было в севообороте (511.7), а наименьшее – в почве под клевером (394.7).

Таким образом, монокультура и севооборот изменяют структуру и состав микробных сообществ в почве, а различия в микробном разнообразии и богатстве связаны не только с методами агротехники и внесением удобрений, но и с видом растений.

*Сравнение обилия грибов на уровне филума по исследованным образцам.* На основании таксономии последовательностей генов ITS наиболее распространенными филумами грибов в почве всех вариантов были *Ascomycota*, *Mortierellomycota* и *Basidiomycota* [50] (рис. 2).



**Рис. 2.** Графическое сравнение обилия грибов на уровне филума по исследованным образцам

Во всех исследованных образцах доминировали *Ascomycota*, которые составляли от 55 до 85% всех грибов микробиома. Преобладание представителей этого филума в составе грибной компоненты микробных сообществ почв разных типов было выявлено и другими исследователями [26, 31, 47].

Относительная численность *Ascomycota* была значительно выше в почве под картофелем и составила 85,03%. Самая низкая численность (55%) была зафиксирована при монокультуре ячменя. Большая часть сумчатых грибов является сапротрофами и участвует в разложении растительной биомассы, играя ключевую роль в круговоротах углерода и азота в экосистемах.

Некоторые представители могут образовывать симбиотические ассоциации с макро- и микроорганизмам или быть патогенами [22]. Наиболее заметными заболеваниями, вызываемыми аскомицетами, являются спорынья ржи и пшеницы, а также мучнистая роса. Важной частью микобиоты большинства наземных экосистем являются энтомопатогенные аскомицеты, которые регулируют естественные популяции членистоногих вредителей [40]. Доминирование сумчатых грибов в пахотных почвах можно связать с тем, что эти грибы достаточно устойчивы к стрессам. Сравнение генома доминирующего таксона *Ascomycota* с другими филумами грибов указывает на значительно большее количество генов, связанных с устойчивостью к стрессам и потреблением ресурсов у доминирующих грибов. Это позволяет предположить, что они способны заселять широкий спектр сред обитания [25].

Представители *Mortierellomycota* также были выявлены во всех вариантах. Известно, что *Mortierellomycota* обитают в основном в ризосфере [21]. Самые низкие значения были зафиксированы в вариантах монокультуры картофеля (9,71%) и льна (12,23%). Самый высокий процент грибов этого филума (24,67%) отмечен в составе микробиома, сформировавшегося при бессменном выращивании озимой ржи. Второе место по количеству занимает вариант «Севооборот во времени» (23,66%). При монокультуре ячменя количество представителей этого таксона также было значительным – 20,44%.

*Basidiomycota* занимали третье место по количеству на основании анализа последовательностей генов ITS и составляли от 2,03 до 14,86% от общего количества на уровне филума. Наибольшее обилие представителей филума *Basidiomycota* отмечено в почве подо льном – 14,86%. В остальных почвенных пробах существенные различия в обилии представителей этого филума не наблюдались: количество *Basidiomycota* составляло в среднем около 3% микробиома. Эти грибы считаются наиболее эволюционно продвинутыми. Некоторые виды *Basidiomycota* являются патогенами растений. Другие образуют симбиотические ассоциации с корнями сосудистых растений, помогая растениям поглощать элементы питания из почвы (в первую очередь – фосфор и калий), взамен получая сахара, произведенные в результате фотосинтеза. Однако отметим, что сумчатые и базидиальные грибы образуют эктомикоризы с древесно-кустарниковыми, а не с травянистыми растениями [49].

Что же касается грибов других выявленных филумов, то они присутствовали в очень малых количествах. В то же время отметим, что по данным ряда исследователей, именно минорные таксоны могут быть индикаторами отклика почвенной биоты на те или иные воздействия. Есть данные, что многие предполагаемые полезные для растений грибы по-разному реагировали на агротехническую практику, причем наиболее отчетливые реакции были выявлены среди *Glomeromycota* (арбускулярные микоризные грибы) [47].

*Glomeromycota* – это монофилетическая группа почвенных грибов, которые образуют микоризные ассоциации почти с 80% наземных растений. *Glomeromycota* признаны наиболее распространенными арбускулярными микоризными грибами [21].

Арбускулярные микоризные грибы являются облигатными симбионтами, которые не могут быть культивированы в чистом виде и не могут расти без живого растения-хозяина. Они образуют мутуалистические ассоциации с корнями 80–90% наземных видов растений и могут составлять до 50% общей микробной биомассы почвы [39]. В почве Длительного полевого опыта представители этого филума были выявлены только в трех вариантах: монокультура озимой ржи, «вечный пар» и «севооборот во времени». Полученные данные о том, что грибы-микоризообразователи обнаружены в почве «вечного пара», подтверждают, что в почве постоянно сохраняется пул микроорганизмов, который служит источником изменения микробного сообщества [8].

*Entorrhizomycota* выявлены только при монокультуре льна и клевера, причем *Glomeromycota* именно в этих вариантах не были обнаружены.

Большинство видов, относящихся к филуму *Zoopagomycota*, – паразиты или хищники микроскопических животных, таких, как амёбы, нематоды, личинки насекомых [38]. Самое большое количество *Zoopagomycota* было выявлено в варианте «Вечный пар».

*Chytridiomycota* присутствовали во всех вариантах в количестве 1–3%. Самые низкие значения (0,94%) зафиксированы в варианте бессменного выращивания картофеля, а самое высокое значение (4,82%) – в почве, где соблюдался севооборот.

Значительное количество грибов (от 1,07% до 18,75%) во всех исследованных образцах не было классифицировано и отнесено к *Fungi unclassified*. Следует отметить, что из всех вариантов выделялся «севооборот во времени», где были отмечены самые высокие значения. Аналогичную картину наблюдали и другие исследователи, которые отмечали, что многие дифференциально представленные OTU во всех исследованных условиях представляли собой неопознанные виды или OTU, совпадающие на высоком уровне таксонов [38]. В целом использование молекулярных методов для анализа микробиома говорит о том, что подавляющее большинство грибов (более 93%) в настоящее время неизвестно. Это позволяет предположить, что количество видов грибов может составлять от 2,2 до 3,8 млн [30].

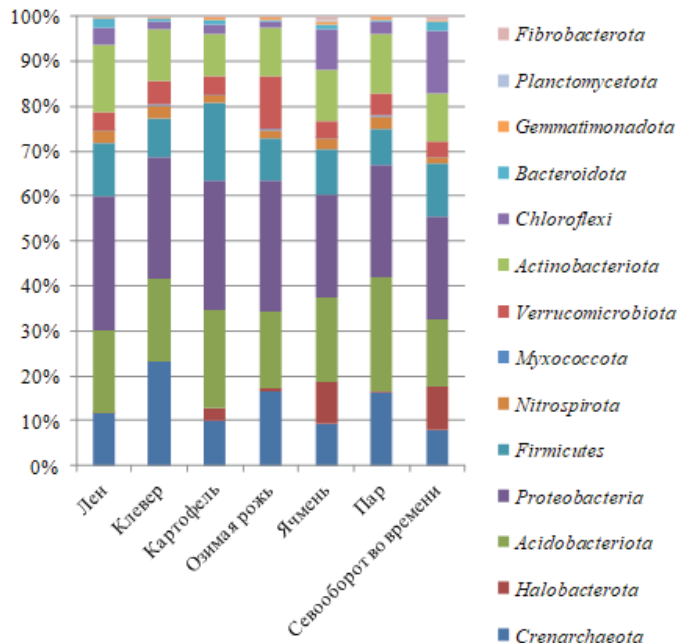
Таким образом, вид растения и его характеристики играют существенную роль в формировании микробных сообществ почв.

*Сравнение обилия прокариот на уровне филума по исследованным образцам.* Если грибная компонента микробиома почвы Длительного полевого опыта РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева методом высокопроизводительного секвенирования нами была исследована впервые, то прокариотическая составляющая исследовалась ранее [8, 9].

Результаты сравнения обилия представителей прокариотической составляющей микробиома по сгруппированным операционным таксономическим единицам представлены на рисунке 3. Археи представлены двумя филумами: *Crenarchaeota* и *Halobacterota*, бактерии же более разнообразны. При анализе было выявлено 11 филумов: *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Fibrobacteres*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Nitrospirota*, *Planctomycetota*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*. Аналогичные данные при анализе микробиома почвы Длительного полевого опыта были получены ранее [8].

Археи присутствовали во всех вариантах опыта. Более 95% архей были отнесены к филумам *Crenarchaeota* и *Halobacterota*. Доминирующими археями являются представители филума *Crenarchaeota*, которые составляют от 7,95 до 22,91% в зависимости от варианта. Обычно на долю архей приходится значительная часть (примерно 20%) микроорганизмов почвы [5]. Археи могут существовать в условиях анаэробно-озиса. На основании анализа таксономического распределения диссимиляционных генов сульфатредукции показано, что *Halobacterota* и *Crenarchaeota* играют важную роль в диссимиляционной сульфатредукции [45].





**Рис. 3.** Таксономический профиль сообщества прокариот на уровне филума по исследованным образцам

Установлено, что количество *Crenarchaeota* было выше при монокультуре по сравнению с севооборотом, особенно при монокультуре клевера. Тот факт, что максимальная численность представителей этого филума была зафиксирована в варианте монокультуры клевера, согласуется с данными о том, что *Crenarchaeota* являются наиболее распространенными организмами, окисляющими аммиак в почвах [5]. *Halobacterota*, напротив, не были выявлены при монокультуре льна и клевера, но были обнаружены при монокультуре озимой ржи и картофеля, а также в варианте «вечного пара». Исключение составил вариант монокультуры ячменя, где была выявлена более высокая численность представителей этого таксона, сопоставимая с вариантом «Севооборот во времени». Почти все археи ассоциируются с экстремальными условиями, хотя встречаются повсеместно. По данным некоторых исследований, они тесно связаны с корнями растений [46].

Доминирующими бактериальными филумами являются *Proteobacteria* и *Acidobacteriota*, за которыми следуют *Actinobacteriota* и *Firmicutes*, а затем *Chloroflexi*.

*Proteobacteria* – самый многочисленный таксон бактерий с вкладом в сообщество порядка 20%. Относительное количество протеобактерий было выше в почве подо льном, где относительная численность достигла 29,30%. Наши результаты подтвердили данные, полученные при анализе микробиома почвы Длительного полевого опыта Ковриго с соавт. [9].

Наибольшая численность *Actinobacteriota* отмечена также в почве варианта с бессменным выращиванием льна (17,78%), затем – в почве под паром (13,09%). В остальных почвенных образцах существенные различия в их относительном обилии не выявлены. Бактерии *Actinobacteriota* участвуют в трансформации органического вещества и минерализации, оказывая влияние на доступность элементов питания для растений [43].

Наибольшая численность представителей филума *Firmicutes* отмечена в варианте с монокультурой картофеля (17,10%), затем – в почве участка, где наблюдали

севооборот (11,88%), и в почве варианта бессменного выращивания льна (11,66%). Эти бактерии могут хорошо адаптироваться к различным средам обитания, в том числе к дефициту питательных веществ и низким значениям pH [44]. Некоторые представители этого филума относятся к возбудителям болезней растений.

Что касается *Acidobacteriota*, то наибольшая их численность была в почве под паром, потому что монокультура и севооборот не способствовали повышению относительной численности этого таксона, так как наименьшая относительная численность отмечена в севообороте. *Acidobacteriota*, преимущественно олиготрофы, так же, как и *Firmicutes*, хорошо адаптированы не только к дефициту доступных субстратов, но и к кислой среде. При исследовании влияния удобрений и известкования на формирование микробного сообщества почвы было установлено, что наименьшее значение численности филы *Acidobacteriota* наблюдалось на участках, где вносили полный набор органических и минеральных удобрений, а самое высокое – на делянках без удобрений [9].

Филум *Chloroflexi* составляет 4,3% почвенных бактерий. Самые низкие значения были выявлены в вариантах с бессменным выращиванием всех культур опыта, за исключением ячменя, в то время как при соблюдении севооборота обилие представителей этого филума достигало 13,98%.

*Verrucomicrobiota* присутствовали во всех вариантах опыта в количестве от 3–4% до 10–12% в зависимости от варианта. Количество веррукомикробий в почве возрастало по вариантам в ряду: монокультура льна – монокультура ячменя – монокультура картофеля – «вечный пар» – монокультура клевера – севооборот во времени – монокультура озимой ржи. Известно, что эти бактерии обычно приурочены к верхним горизонтам почвы, богатым органическим веществом, и чувствительны к дефициту органических субстратов [55]. Полученные данные соотносятся с показателями углерода микробной биомассы (табл. 2).

*Fibrobacterota* присутствуют во всех образцах, но в незначительных количествах (менее 1%). Несмотря на это в образцах (ячмень) и (севооборот) обнаруживается значительное превышение в сравнении с остальными образцами. В варианте монокультуры льна не обнаружены представители филума *Fibrobacterota*, а в вариантах «Севооборот во времени» и «Вечный пар» не выявлен филум *Planctomycetota*.

Таким образом, результаты исследований подтвердили предположение [9] о том, что вид возделываемого растения является ключевым фактором в формировании микробных сообществ почвы в рамках определенной почвенной разности. При монокультуре сообщество адаптируется к существующим условиям и стабилизируется на определенном уровне.

*Дыхание почвы и метаболические коэффициенты по исследованным образцам.* Известно, что микробная биомасса почвы и ее дыхательная активность служат чувствительными индикаторами изменений в почве при разных воздействиях и включены в программы экологического мониторинга в некоторых европейских странах [4, 41, 42].

Показатели биологической активности почвы по вариантам опыта представлены в таблице 2.

Базальное дыхание отражает реакцию микробного сообщества, возникающую в результате поступления доступных субстратов в почву, и интенсивность минерализации органических веществ. Наиболее высокая интенсивность минерализации органического вещества отмечена в варианте «Севооборот во времени», а самая низкая – в варианте «Вечный пар». Известно, что вспашка почвы сопровождается усилением процессов окисления ее органического вещества. Вспашка чистого пара способствовала активизации минерализационных процессов и более интенсивному кратковременному поступлению углерода в атмосферу (почти 88 г CO<sub>2</sub>/(м<sup>2</sup> сут.) [13, 18].

**Содержание углерода микробной биомассы (Смик),  
скорость базального дыхания (БД), субстрат индуцированного дыхания (СИД)  
и значения микробного метаболического коэффициента в образцах почвы**

Варианты	Углерод микробной биомассы (Смик), мкг С/г почвы	Базальное дыхание, мкг С.СО <sub>2</sub> /гч	Метаболические коэффициенты	Субстрат индуцированное дыхание, мкг С.СО <sub>2</sub> /гч
Лен	20.07±3.13	0.15±0.07	0.31±0.19	0.49±0.07
Клевер	65.97±2.69	0.51±0.09	0.31±0.04	1.64±0.07
Картофель	20.60±0.65	0.25±0.13	0.50±0.28	0.50±0.02
Озимая рожь	59.47±1.34	0.23±0.08	0.16±0.05	1.48±0.03
Ячмень	28.62±7.30	0.41±0.05	0.59±0.07	0.71±0.18
Пар	42.40±6.88	0.11±0.04	0.11±0.04	1.05±0.17
Севооборот во времени	136.67±7.88	1.26±0.12	0.31±0.03	4.08±0.20

Полученные результаты базального дыхания свидетельствуют о том, что в почве под озимой рожью наблюдается стабильная деятельность почвенных микроорганизмов. Что касается почвы под паром, то в ней наблюдается неустойчивая деятельность микробного сообщества, поскольку микроорганизмы испытывают дефицит доступных органических субстратов. Микробное сообщество, сформировавшееся в почве при длительной монокультуре льна, картофеля и ячменя на фоне отсутствия удобрений, также функционирует неустойчиво.

Оценка биологической активности почв дается по метаболическому коэффициенту (отношение базального дыхания к субстрат-индуцированному дыханию) [14].

Диапазон коэффициента, при котором можно свидетельствовать об устойчивой активности почвенной биоты, лежит в пределах 0,15–0,25. Отклонение от оптимума в меньшую сторону говорит о том, что микробное сообщество подавлено и голодает, а отклонение в большую сторону – о том, что оно функционирует напряженно и неустойчиво. Согласно этому только в варианте монокультуры озимой ржи показатели базального дыхания приближаются к оптимальным. Однако высказано предположение [14] о том, что базальное дыхание и метаболический коэффициент имеют меньшую индикационную ценность по сравнению с показателями микробной биомассы. Содержание микробной биомассы в пробах почвы колебалось от 20,07±3,13 до 136,67±7,88 мкг С/г почвы.

Минимальные значения микробной биомассы были зафиксированы в вариантах бессменного выращивания льна и картофеля. В почве под паром микробная биомасса была вдвое выше, чем в почве подо льном и картофелем. Самые высокие значения микробной биомассы наблюдались в почве участка, где соблюдался севооборот, на втором месте – вариант монокультуры клевера. Эти результаты подтверждают, что бессменное выращивание культур является мощным стрессовым фактором. Наиболее сильное негативное воздействие оказывает монокультура таких растений, как лен и картофель.

## Выводы

1. Установлено, что монокультура и севооборот влияют на биологическое разнообразие почвенной биоты. Количество ОТЕ прокариот было выше при монокультуре по сравнению с севооборотом во времени. Самые высокие значения ОТЕ были выявлены в почве под озимой рожью (14820), а самый бедный микробиом по количеству таксонов оказался в почве, где осуществлялся севооборот (4339). Самое высокое значение ОТЕ грибов было отмечено в почве под паром (89276), на втором месте – вариант с севооборотом (75164).

Биологическое разнообразие грибной компоненты микробиома, согласно индексу Шеннона, было самым высоким в почве под паром (4.71), а самым низким – в варианте монокультуры картофеля (3.10). Для прокариотической компоненты, напротив, индекс Шеннона был самым высоким именно в варианте с бессменным выращиванием картофеля. Что касается индекса Чао1 (индекса богатства), то наибольшее его значение было в севообороте (511.7), а наименьшее – в почве под клевером (394.7).

2. Из всех обнаруженных филумов прокариот доминируют *Proteobacteria* (22–30%). Самые высокие значения были отмечены при монокультуре льна, картофеля и озимой ржи, а самые низкие – в варианте «Вечный пар». Второе место по численности занимают представители *Acidobacteriota* (14–25%). Следует отметить, что ниже всего была численность представителей этого филума в варианте «Севооборот во времени» и при монокультуре озимой ржи, когда *Actinobacteria* составляли от 9 до 17% прокариот микробиома. Наибольшая численность отмечена в почве варианта с бессменным выращиванием льна (17,78%), затем – в почве под паром (13,09%), а самая низкая – при монокультуре картофеля. *Firmicutes* составляли 7–18%, и больше всего представителей этого филума отмечено в варианте бессменного выращивания картофеля.

Количество веррукомикробий в почве возрастало по вариантам в ряду: монокультура льна – монокультура ячменя – монокультура картофеля – «вечный пар» – монокультура клевера – севооборот во времени – монокультура озимой ржи. Полученные данные соотносятся с показателями углерода микробной биомассы.

Филум *Chloroflexi* составляет 4,3% почвенных бактерий. Самые низкие его значения были выявлены в вариантах с бессменным выращиванием всех культур опыта, за исключением ячменя, в то время как при соблюдении севооборота обилие представителей этого филума достигало 13,98%.

Среди грибов преобладали филумы *Ascomycota*, *Mortierellomycota* и *Basidiomycota* соответственно, и они присутствовали во всех образцах почвы. Доминировали представители филума *Ascomycota*. Самые низкие значения численности *Mortierellomycota* были зафиксированы в вариантах монокультуры картофеля (9,71%) и льна (12,23%). Самый высокий процент грибов этого филума (24,67%) отмечен в составе микробиома, сформировавшегося при бессменном выращивании озимой ржи. *Basidiomycota* занимали третье место по количеству на основании анализа последовательностей генов ITS и составляли 2,03–14,86% от общего количества на уровне филума. Наибольшее обилие представителей филума *Basidiomycota* отмечено в почве подо льном – 14,86%.

3. Показано, что бессменное выращивание культур в целом негативно сказывается на функционировании микробного сообщества. При оптимальном значении метаболического коэффициента 0,2 при монокультуре они достигали 0,6. Устойчивость микробного сообщества почвы снижена в результате бессменного выращивания картофеля, льна и клевера на фоне без внесения органических и минеральных

удобрений, а также в варианте «вечного пара». Особенно неблагоприятные условия были отмечены при монокультуре картофеля. Бессменное выращивание зерновых, особенно озимой ржи, не ведет к существенному снижению активности почвенной биоты и устойчивости микробных сообществ почв. Севооборот позволяет оптимизировать микробиологические процессы в почве и повысить устойчивость микробного сообщества.

### Библиографический список

1. Аллелопатия растений и почвоутомление: Избранные труды / А.М. Гродзинский; Редкол.: В.Д. Романенко (отв. ред.) и др. / АН УССР. Центральный республиканский ботанический сад. – Киев: Наукова думка, 1991. – 432 с.
2. *Ананьева Н.Д.* Микробиологические аспекты самоочищения и устойчивости почв: монография. – М.: Наука, 2003. – 223 с.
3. *Антонов А.А., Баранова Е.Н., Гулевич А.А., Куренина Л.В., Ванькова А.А., Ралдугина Г.Н.* Модификация микробного сообщества ризосферы трансгенных растений томата с геном синтеза глицинбетаина // Известия ТСХА. – 2020. – № 5. – С. 18–29.
4. *Благodatская Е.В., Ананьева Н.Д.* Оценка устойчивости микробных сообществ в процессе разложения поллютантов в почве // Почвоведение. – 1996. – № 11. – С. 1341–1346.
5. *Воробьева Л.И.* Археи: учеб. пособие. – М.: Академкнига, 2007. – 447 с.
6. Добровольский Г.В. Экологическая роль почвы в биосфере и в жизни человека // Доклады по экологическому почвоведению. – 2007. – Т. 2, № 6. – С. 1–16.
7. *Доспехов Б.А., Кирюшин Б.Д.* Плодородие почвы в условиях севооборота и бессменных культур // Сельское хозяйство за рубежом. – 1979. – № 11. – С. 2–7.
8. *Думова В.А., Першина Е.В., Мерзлякова Я.В., Круглов Ю.В., Андронов Е.Е.* Основные тенденции в формировании почвенного микробного сообщества в условиях стационарного полевого опыта по данным высокопроизводительного секвенирования библиотек гена 16S-rРНК // Сельскохозяйственная биология. – 2013. – Т. 48, № 5. – С. 85–92.
9. *Корвиго И.О., Першина 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.
10. *Красильников А.К.* Микроорганизмы почв и высшие растения. – М.: Изд-во АН СССР, 1958. – 466 с.
11. *Роговая С.В., Елсукова Е.Ю., Ананьева Н.Д.* Микробный компонент почв и его дыхательная активность в хвойных лесах северо-западного Приладожья // Вестник Санкт-Петербургского университета. Науки о Земле. – 2016. – № 3. – С. 129–137.
12. *Сорокин Н.Д.* Микробиологический мониторинг нарушенных наземных экосистем Сибири // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2009. – № 6. – С. 728–733.
13. *Сушко С.В., Ананьева Н.Д., Иващенко К.В., Кудяров В.Н.* Эмиссия CO<sub>2</sub>, микробная биомасса и базальное дыхание чернозема при различном землепользовании // Почвоведение. – 2019. – № 9. – С. 1081–1091.
14. *Терехова В.А., Прудникова Е.В., Кулачкова С.А., Горленко М.В., Учанов П.В., Сушко С.В., Ананьева Н.Д.* Микробиологические показатели агродерново-подзолистых почв разной гумусированности при внесении тяжелых металлов и углеродсодержащих препаратов // Почвоведение. – 2021. – № 3. – С. 372–384.

15. Чернов Т.И., Тхакахова А.К., Лебедева М.П., Железова А.Д., Бгажба Н.А., Кутовая О.В. и др. Микробиомы контрастных по засолению почв солонцового комплекса Волго-Уральского междуречья // Почвоведение. – 2018. – № 9. – С. 1115–1124.
16. Чирак Е.Л., Першина Е.В., Дольник А.С., Кутовая О.В., Василенко Е.С., Козут Б.М., Мерзлякова Я.В., Андронов Е.Е. Таксономическая структура микробных сообществ в почвах различных типов по данным высокопроизводительного секвенирования библиотек гена 16S-rРНК // Сельскохозяйственная биология. – 2013. – Т. 48, № 3. – С. 100–109.
17. Шумилова Л.П., Куимова Н.Г. Изучение микробного сообщества городских почв методом газовой хроматографии масс-спектрометрии // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2013. – № 50. – С. 121–125.
18. Alvarez R., Alvarez R., Alvarez C.R., Lorenzo G. Carbon dioxide fluxes following tillage from a mollisol in the Argentine Rolling Pampa // Eur. J. Soil Biol. – 2001. – Т. 37. – С. 161–166. [https://doi.org/10.1016/S1164-5563\(01\)01085-8](https://doi.org/10.1016/S1164-5563(01)01085-8).
19. Balvanera P., Pfisterer A.B., Buchmann N., He J.S., Nakashizuka T., Raffaelli D., Schmid B. Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services // Ecology letters. – 2006. – Т. 9, № 10. – С. 1146–1156.
20. Bay G., Lee C., Chen C., Mahal N.K., Castellano M.J., Hofmockel K.S., Halverson L.J. Agricultural management affects the active rhizosphere bacterial community composition and nitrification // Msystems. 2021. – Т. 6, № 5. – С. e00651–21. Doi: 10.1128/mSystems.00651–21.
21. Bonfante P., Venice F. Mucoromycota: going to the roots of plant-interacting fungi // Fungal Biology Reviews. – 2020. – Т. 34, № 2. – С. 100–113.
22. Challacombe J.F., Hesse C.N., Bramer L.M., McCue L.A., Lipton M., Purvine S., Nicora C., Gallegos-Graves L.V., Porras-Alfaro A., Kuske C.R. Genomes and secretomes of Ascomycota fungi reveal diverse functions in plant biomass decomposition and pathogenesis // BMC genomics. – 2019. – Т. 20, № 1. – С. 1–27.
23. Delgado-Baquerizo M. Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems // Nature communications. – 2016. – Т. 7, № 1. – С. 10541.
24. Edgar R.C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST // Bioinformatics. – 2010. – Т. 26, № 19. – С. 2460–2461.
25. Egidi E., Delgado-Baquerizo M., Plett J.M., Wang J., Eldridge D.J., Bardgett R.D., Maestre F.T., Singh B.K. A few Ascomycota taxa dominate soil fungal communities worldwide // Nature communications. – 2019. – Т. 10, № 1. – С. 2369.
26. Frąc M., Hannula S.E., Belka M., Jędrzycka M. Fungal biodiversity and their role in soil health // Front. Microbiol. – 2018. – Т. 9. – С. 707. Doi: 10.3389/fmicb.2018.00707.
27. Frey B., Rime T., Phillips M., Stierli B., Hajdas I., Widmer F. Microbial M. diversity in European alpine permafrost and active layers // FEMS microbiology ecology. – 2016. – Т. 92, № 3. – С. fiw018.
28. Graham E.B. et al. Microbes as Engines of Ecosystem Function: When Does Community Structure Enhance Predictions of Ecosystem Processes / E.B. Graham, J.E. Knelman, A. Schindlbacher, S. Siciliano, M. Breulmann, A. Yannare, J.M. Beman, G. Abe, L. Philippot, J. Prosser, A. Foulquier, J.C. Yuste, H.C. Glanville, D.L. Jones, R. Angel, J. Salminen, R.J. Newton, H. Bürgmann, L.J. Ingram, U. Hamer H.M.P. Siljanen K. Peltoniemi, K. Potthast, L. Bañeras, M. Hartmann, S. Banerjee, R. Yu, G. Nogaró, A. Richter, M. Koranda, S.C. Castle, M. Goberna, B. Song, A. Chatterjee, O.C. Nunes, A.R. Lopes, Y. Cao, A. Kaisermann, S. Hallin, M.S. Strickland, J. Garcia-Pausas J. Barba, H. Kang, K. Isobe, S. Papaspyrou, R. Pastorelli, A. Lagomarsino, E.S. Lindström, N. Basiliko, D.R. Nemergut // Front. Microbiol. Sec. Terrestrial Microbiology. – 2016. – 24 February. – Т. 7. – С. 214. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00214>.

29. Hartmann A., Schmid M., Van Tuinen D., Berg G. Plant-driven selection of microbes // *Plant and Soil*. – 2009. – T. 321. – Pp. 235–257.
30. Hawksworth D.L., Lücking R. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species // *Microbiology spectrum*. – 2017. – T. 5, № 4. – C. 10–1128.
31. Klaubauf S., Inselsbacher E., Zechmeister-Boltenstern S., Wanek W., Gottsberger R., Strauss J. Molecular diversity of fungal communities in agricultural soils from lower Austria // *Fungal Div.* – 2010. – T. 44. – C. 65–75. Doi: 10.1007/s13225-010-0053-1.
32. Ling N., Wang T., Kuzyakov Y. Rhizosphere bacteriome structure and functions // *Nature Communications*. – 2022. – T. 13, № 1. – C. 836.
33. Magoč T., Salzberg S.L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies // *Bioinformatics*. – 2011. – T. 27, № 21. – C. 2957–2963.
34. Magurran A.E. Measuring biological diversity // *Current Biology*. – 2021. – T. 31, № 19. – C. R1174-R1177.
35. Marschner P., Yang C.H., Lieberei R., Crowley D.E. Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere // *Soil biology and biochemistry*. – 2001. – T. 33, № 11. – C. 1437–1445.
36. Morgan J.A., Bending G.D., White P.J. Biological costs and benefits to plant – microbe interactions in the rhizosphere // *Journal of experimental botany*. – 2005. – T. 56, № 417. – C. 1729–1739.
37. Navarro-Noya Y.E., Gómez-Acata S., Rojas-Valdez N. Relative impacts of tillage, residue management and crop-rotation on soil bacterial communities in a semi-arid agroecosystem // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2013. – T. 65. – C. 86–95.
38. Orrù L., Canfora L., Trinchera A., Migliore M., Pennelli B., Marcucci A., Farina R., Pinzari F. How tillage and crop rotation change the distribution pattern of fungi // *Frontiers in Microbiology*. – 2021. – C. 1469.
39. Prasad P.V., Bheemanahalli R., Jagadish S.K. Field crops and the fear of heat stress – opportunities, challenges and future directions // *Field Crops Research*. – 2017. – T. 200. – C. 114–121.
40. Quesada-Moraga E., Garrido-Jurado I., González-Mas N., Yousef-Yousef M. Ecosystem services of entomopathogenic ascomycetes // *Journal of Invertebrate Pathology*. – 2023. – T. 201. – C. 108015.
41. Reed H.E., Martiny J.B.H. Testing the functional significance of microbial composition in natural communities // *FEMS microbiology ecology*. – 2007. – T. 62, № 2. – C. 161–170.
42. Ritz K., Black H.I.J., Campbell C.D., Harris J.A., Wood C. Selecting biological indicators for monitoring soils: A framework for balancing scientific and technical opinion to assist policy development // *Ecological Indicators*. – 2009. – Vol. 9. – Pp. 1212–1221. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2009.02.009>.
43. Servin J.A., Herbold C.W., Skophammer R.G., Lake J.A. Evidence excluding the root of the tree of life from the actinobacteria // *Molecular biology and evolution*. – 2008. – T. 25, № 1. – C. 1–4.
44. Shu X., Zhang K., Zhang Q., Wang W. Changes in the composition of rhizosphere bacterial communities in response to soil types and acid rain // *Journal of Environmental Management*. – 2023. – T. 325. – C. 116493.
45. Shuming Mo. *et al.* Impacts of Crenarchaeota and Halobacterota on sulfate reduction in the subtropical mangrove ecosystem as revealed by SMDB analysis / Mo. Shuming Li. Jinhui, Li. Bin Yu. Ran, Nie. Shiqing, Zhang. Zufan, Kashif. Muhammad He. Sheng, Liao. Jianping, Jiang. Qiong, Shen. Peihong, Yan. Bing, Jiang. Chengjian // *BioRxiv*. – 2020. – C. 8. Doi: <https://doi.org/10.1101/2020.08.16.252635>.

46. Simon H.M., Jahn C.E., Bergerud L.T., Sliwinski M.K., Weimer P.J., Willis D.K., Goodman R.M. Cultivation of mesophilic soil crenarchaeotes in enrichment cultures from plant roots // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2005. – T. 71, № 8. – C. 4751–4760.
47. Sommermann L., Geistlinger J., Wibberg D., Deubel A., Zwanzig J., Babin D., Schlüter A., Schellenberg I. Fungal community profiles in agricultural soils of a long-term field trial under different tillage, fertilization and crop rotation conditions analyzed by high-throughput ITS-amplicon sequencing // *PLOS ONE*. – 2018. – T. 13, № 4. – C. e0195345.
48. Stromberger M. Fire vs. Metal: A Laboratory Study Demonstrating Microbial Responses to Soil Disturbances // *Journal of Natural Resources and Life Sciences Education*. – 2005. – T. 34, № 1. – C. 1–7. <https://doi.org/10.2134/jnrlse.2005.0001>.
49. Tedersoo L., Smith M.E. Lineages of ectomycorrhizal fungi revisited: Foraging strategies and novel lineages revealed by sequences from belowground // *Fungal Biology Reviews*. – 2013. – T. 27, № 3–4. – C. 83–99.
50. Tedersoo L., Mikryukov V., Anslan S., Bahram M., Khalid A.N., Adriana Corrales A. The Global Soil Mycobiome consortium dataset for boosting fungal diversity research // *Fungal Diversity*. – 2021. – T. 111. – C. 573–588. <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00493-7>.
51. Van Der Heijden M.G.A., Bardgett R.D., Van Straalen N.M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems // *Ecology letters*. – 2008. – T. 11, № 3. – C. 296–310.
52. Vancov T., Keen B. Amplification of soil fungal community DNA using the ITS86F and ITS4 primers // *FEMS microbiology letters*. – 2009. – T. 296, № 1. – C. 91–96.
53. Vega F.E., Meyling N.V., Luangsa-ard J.J., Blackwell M. Fungal Entomopathogens // *Insect Pathology (Second Edition)*. – 2012. – C. 171–220.
54. Wang Q., Garrity G.M., Tiedje J.M., Cole J.R. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy // *Applied and environmental microbiology*. – 2007. – T. 73, № 16. – C. 5261–5267.
55. Zharkova E.K. et al. Bacterial communities of Lamiaceae L. medical plants: structural features and rhizosphere effect / A.A. Vankova, O.V. Selitskaya, E.L. Malankina, N.V. Drenova, A.D. Zhelezova, Khlyustov V.K. S.L. Belopukhov, A.V. Zhevnerov, L.A. Sviridova, T.N. Fomina, A.V. Kozlov // *Microorganisms*. – 2023. – T. 11, № 1. – C. 197.

## EVALUATION OF THE LONG-TERM EFFECTS OF THE PERMANENT CROPPING ON SOIL MICROBIAL COMMUNITIES

ALSAYED NOUR<sup>1</sup>, O.V. SELITSKAYA<sup>1</sup>, L.A. POZDNYAKOV<sup>2</sup>,  
I.A. ZAVERTKIN<sup>1</sup>, E.A. SHUBINA<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy;

<sup>2</sup>Lomonosov Moscow State University)

*The study of soil microbial communities under different agricultural crops (flax, clover, barley, potato, winter rye) grown in permanent cropping and crop rotation was carried out. The effect of permanent cropping and crop rotation on the taxonomic profile of the prokaryotic and fungal components of the soil microbiome was studied. The effect of permanent cropping and crop rotation on the metabolic intensity and stability of soil biota in the absence of mineral and organic fertilisers was assessed. The subject of the research was the long-term experience established in 1912 by Professor A.G. Doyarenko at the Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, founded in 1912 by Professor A.G. Doyarenko. It was shown that the highest OUT (operational taxonomic units) values for fungi were found in soils under fallow and crop rotation. For prokaryotes, however, the crop rotation variant had the lowest number of OTUs. Ascomycetes were found*



to be the dominant fungal taxon in all samples studied. Prokaryotes were dominated by Proteobacteria and Acidobacteriota, followed by Actinobacteriota and Firmicutes, and Chloroflexi were represented to a lesser extent. Among the archaea, the Crenarcheota phylum was dominant. It was shown that continuous cultivation of crops generally has a negative effect on the functioning of the microbial community. With an optimal metabolic coefficient of 0.2 in monoculture, they reached 0.6. The sustainability of the soil microbial community is reduced by the continuous cultivation of potatoes, flax and clover without organic and mineral fertilizers, as well as by the “perpetual fallow” option. Particularly unfavorable conditions were found in potato monoculture. Continuous cultivation of cereals, especially winter rye, does not lead to a significant decrease in the activity of soil biota and the stability of soil microbial communities. Crop rotation makes it possible to optimize microbiological processes in the soil and to increase the stability of the soil microbial community.

**Keywords:** biodiversity, monoculture, permanent crops, crop rotation, soil, fungi, prokaryotes, respiration, sustainability.

## References

1. Grodzinskiy A.M. *Plant allelopathy and soil fatigue: selectas*. Ed. by V.D. Romanenko (chief editor) et al. Academy of Sciences of the Ukrainian SSR. Central Republican Botanical Garden. Kiev, Ukrain: Nauk. dumka, 1991:432. (In Russ.)
2. Anan'eva N.D. *Microbiological aspects of self-purification and soil stability*. Moscow, Russia: Nauka, 2003:223. (In Russ.)
3. Antonov A.A., Baranova E.N., Gulevich A.A., Kurenina L.V. et al. Modified composition of microbial community in the rhizosphere of transgenic tomato plants with a glycine betaine syntesis gene. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy (TAA)*. 2020;(5):18–29. (In Russ.)
4. Blagodatskaya E.V., Anan'eva N.D. Assessment of the resistance of soil microbial communities to pollutants. *Eurasian Soil Science*. 1996;11:1341–1346. (In Russ.)
5. Vorob'eva L.I. *Archaea*. Moscow, Russia: Akademkniga, 2007:447. (In Russ.)
6. Dobrovolskiy G.V. Ecological role of soil in the biosphere and in human life. *Doklady po ekologicheskomu pochvovedeniyu*. 2007;2(6):1–16. (In Russ.)
7. Dospheov B.A., Kiryushin B.D. Soil fertility in conditions of crop rotation and permanent crops. *S. kh. za rubezhom*. 1979;11:2–7. (In Russ.)
8. Dumova V.A., Pershina E.V., Merzlyakova Ya.V., Kruglov Yu.V., Andronov E.E. The main trends in dynamics of soil microbiom during a long-term field experiment as indicated by high throughput sequencing 16S-rRNA gene libraries. *Agricultural Biology*. 2013;48(5):85–92. (In Russ.)
9. Corvigo I.O., Pershina E.V., Ivanova E.A., Chirak E.L. et al. Effect of long-term application of agrotechnical techniques and crops on soil microbial communities. *Microbiology*. 2016;85(2):199–210. (In Russ.)
10. Krasilnikov A.K. *Soil microorganisms and higher plants*. Moscow, USSR: Publishing House of the USSR Academy of Sciences, 1958:466. (In Russ.)
11. Rogovaia S.V., Elsukova E.Yu., Ananyeva N.D. Soil microbial component and its respiratory activity in coniferous forests of the Northwest Priladozhje area. *Vestnik of Saint Petersburg University. Earth Sciences*. 2016;3:129–137. (In Russ.)
12. Sorokin N.D. Microbiological monitoring of disturbed ground ecosystems of Siberia. *Proceedings of the Russian Academy of Sciences. Biological Series*. 2009;6:728–733. (In Russ.)
13. Sushko S.V., Anan'eva N.D., Ivashchenko K.V., Kudayarov V.N. CO<sub>2</sub> emission, microbial biomass and basal respiration of chernozem under different land uses. *Eurasian Soil Science*. 2019;9:1081–1091. (In Russ.)

14. Terekhova V.A., Prudnikova E.V., Kulachkova S.A., Gorlenko M.V. et al. Microbiological indicators of heavy metals and carbon-containing preparations to agrosoddy-podzolic soils differing in humus content. *Eurasian Soil Science*. 2021;3:372–384. (In Russ.)
15. Chernov T.I., Tkhakakhova A.K., Lebedeva M.P., Zhelezova A.D. et al. Microbiomes of the soils of solonchic complex with contrasting salinization on the Volga–Ural interfluvium. *Eurasian Soil Science*. 2018;9:1115–1124. (In Russ.)
16. 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 library. *Agricultural Biology*. 2013;48(3):100–109. (In Russ.)
17. Shumilova L.P., Kuimova N.G. The study of microbial association in city soils by the gas chromatography-mass spectrometry method. *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*. 2013;(50):121–125. (In Russ.)
18. Alvarez R., Alvarez C.R., Lorenzo G. Carbon dioxide fluxes following tillage from a mollisol in the Argentine Rolling Pampa. *Eur. J. Soil Biol.* 2001;37:161–166. [https://doi.org/10.1016/S1164-5563\(01\)01085-8](https://doi.org/10.1016/S1164-5563(01)01085-8)
19. Balvanera P., Pfisterer A.B., Buchmann N., He J.S. et al. Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services. *Ecology Letters*. 2006;9(10):1146–1156.
20. Bay G., Lee C., Chen C., Mahal N.K. et al. Agricultural management affects the active rhizosphere bacterial community composition and nitrification. *Msystems*. 2021;6(5): e00651–21. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00651-21>
21. Bonfante P., Venice F. Mucoromycota: going to the roots of plant-interacting fungi. *Biology Reviews*. 2020;34(2):100–113.
22. Challacombe J.F., Hesse C.N., Bramer L.M., McCue L.A. et al. Genomes and secretomes of Ascomycota fungi reveal diverse functions in plant biomass decomposition and pathogenesis. *BMC Genomics*. 2019;20(1):1–27.
23. Delgado-Baquerizo M. Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems. *Nature Communications*. 2016;7(1):10541.
24. Edgar R.C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*. 2010;26(19):2460–2461.
25. Egidi E., Delgado-Baquerizo M., Plett J.M., Wang J. et al. A few Ascomycota taxa dominate soil fungal communities worldwide. *Nature Communications*. 2019;10(1):2369.
26. Frąc M., Hannula S.E., Bełka M., Jędrzycka M. Fungal biodiversity and their role in soil health. *Front. Microbiol.* 2018;9:707. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00707>
27. Frey B., Rime T., Phillips M., Stierli B. et al. Microbial diversity in European alpine permafrost and active layers. *FEMS Microbiology Ecology*. 2016;92(3): fiw018.
28. Graham E.B., Knelman J.E., Schindlbacher A., Siciliano S. et al. Microbes as Engines of Ecosystem Function: When Does Community Structure Enhance Predictions of Ecosystem Processes? *Front. Microbiol.*, 24 February 2016: Sec. Terrestrial Microbiology. 2016;7:214. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00214>
29. Hartmann A., Schmid M., Van D. Tuinen, Berg G. Plant-driven selection of microbes. *Plant and Soil*. 2009;321:235–257
30. Hawksworth D.L., Lücking R. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. *Microbiology Spectrum*. 2017;5(4):10–1128.
31. Klaubauf S., Inselsbacher E., Zechmeister-Boltenstern S., Wanek W. et al. Molecular diversity of fungal communities in agricultural soils from lower Austria. *Fungal Div*. 2010;44:65–75. <https://doi.org/10.1007/s13225-010-0053-1>
32. Ling N., Wang T., Kuzyakov Y. Rhizosphere bacteriome structure and functions. *Nature Communications*. 2022;13(1):836.

33. Magoč T., Salzberg S.L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*. 2011;27(21):2957–2963.
34. Magurran A.E. Measuring biological diversity. *Current Biology*. 2021;31(19):R1174-R1177.
35. Marschner P., Yang C.H., Lieberei R., Crowley D.E. Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*. 2001;33(11):1437–1445
36. Morgan J.A., Bending G.D., White P.J. Biological costs and benefits to plant–microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*. 2005;56(417):1729–1739.
37. Navarro-Noya Y.E., Gómez-Acata S., Rojas-Valdez N. Relative impacts of tillage, residue management and crop-rotation on soil bacterial communities in a semi-arid agroecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*. 2013;65:86–95.
38. Orrù L., Canfora L., Trinchera A., Migliore M. et al. How tillage and crop rotation change the distribution pattern of fungi. *Frontiers in Microbiology*. 2021:1469.
39. Prasad P.V., Bheemanahalli R., Jagadish S.K. Field crops and the fear of heat stress—opportunities, challenges and future directions. *Field Crops Research*. 2017;200:114–121.
40. Quesada-Moraga E., Garrido-Jurado I., González-Mas N., Yousef-Yousef M. Ecosystem services of entomopathogenic ascomycetes. *Journal of Invertebrate Pathology*. 2023;201:108015.
41. Reed H.E., Martiny J.B.H. Testing the functional significance of microbial composition in natural communities. *FEMS Microbiology Ecology*. 2007;62(2):161–170.
42. Ritz K., Black H.I.J., Campbell C.D., Harris J.A., Wood C. Selecting biological indicators for monitoring soils: A framework for balancing scientific and technical opinion to assist policy development. *Ecological Indicators*. 2009;9:1212–1221. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2009.02.009>
43. Servin J.A., Herbold C.W., Skophammer R.G., Lake J.A. Evidence excluding the root of the tree of life from the actinobacteria. *Molecular Biology and Evolution*. 2008;25(1):1–4.
44. Shu X., Zhang K., Zhang Q., Wang W. Changes in the composition of rhizosphere bacterial communities in response to soil types and acid rain. *Journal of Environmental Management*. 2023;325:116493.
45. Shuming Mo, Jinhui Li, Bin Li, Ran Yu et al. Impacts of Crenarchaeota and Halobacterota on sulfate reduction in the subtropical mangrove ecosystem as revealed by SMDDB analysis. *BioRxiv*. 2020:08. <https://doi.org/10.1101/2020.08.16.252635>
46. Simon H.M., Jahn C.E., Bergerud L.T., Sliwinski M.K. et al. Cultivation of mesophilic soil crenarchaeotes in enrichment cultures from plant roots. *Applied and Environmental Microbiology*. 2005;71(8):4751–4760.
47. Sommermann L., Geistlinger J., Wibberg D., Deubel A. et al. Fungal community profiles in agricultural soils of a long-term field trial under different tillage, fertilization and crop rotation conditions analyzed by high-throughput ITS-amplicon sequencing. *PLOS ONE*. 2018;13(4): e0195345.
48. Stromberger M. Fire vs. Metal: A Laboratory Study Demonstrating Microbial Responses to Soil Disturbances. *Journal of Natural Resources and Life Sciences Education*. 2005;34(1):1–7. <https://doi.org/10.2134/jnrlse.2005.0001>
49. Tedersoo L., Smith M.E. Lineages of ectomycorrhizal fungi revisited: Foraging strategies and novel lineages revealed by sequences from belowground. *Fungal Biology Reviews*. 2013;27(3–4):83–99.
50. Tedersoo L., Mikryukov V., Anslan S., Bahram M. et al. The Global Soil Mycobiome consortium dataset for boosting fungal diversity research. *Fungal Diversity*. 2021;111:573–588. <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00493-7>

51. Van Der Heijden M.G.A., Bardgett R.D., Van Straalen N.M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*. 2008;11(3):296–310.
52. Vancov T., Keen B. Amplification of soil fungal community DNA using the ITS86F and ITS4 primers. *FEMS Microbiology Letters*. 2009;296(1):91–96.
53. Vega F.E., Meyling N.V., Luangsa-ard J.J., Blackwell M. Fungal Entomopathogens. *Insect Pathology (Second Edition)*. 2012:171–220.
54. Wang Q., Garrity G.M., Tiedje J.M., Cole J.R. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology*. 2007;73(16):5261–5267.
55. Zharkova E.K., Vankova A.A., Selitskaya O.V., Malankina E.L. et al. Bacterial communities of Lamiacea L. medical plants: structural features and rhizosphere effect. *Microorganisms*. 2023;11(1):197.

### Сведения об авторах

**Альсаед Нур**, соискатель кафедры микробиологии и иммунологии, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева; e-mail: nooranooranooa92@gmail.com

**Селицкая Ольга Валентиновна**, канд. биол. наук, доцент, доцент кафедры микробиологии и иммунологии, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева; e-mail: oselitskaya@rgau-msha.ru

**Поздняков Лев Анатольевич**, канд. биол. наук, доцент, доцент кафедры биологии почв МГУ имени М.В. Ломоносова; e-mail: apl-223@mail.ru

**Заверткин Игорь Анатольевич**, канд. с.-х. наук, доцент, и.о. заведующего кафедрой земледелия и методики опытного дела, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева; e-mail: izavyortkin@rgau-msha.ru

**Шубина Екатерина Александровна**, студент, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева; e-mail: ketshu@mail.ru

### Information about the authors

**Nour Alsayed**, Applicant at the Department of Microbiology and Immunology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127550, Russian Federation; e-mail: nooranooranooa92@gmail.com)

**Olga V. Selitskaya**, CSc (Bio), Associate Professor, Associate Professor at the Department of Microbiology and Immunology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127550, Russian Federation; e-mail: oselitskaya@rgau-msha.ru)

**Lev A. Pozdnyakov**, CSc (Bio), Associate Professor, Associate Professor at the Department of Soil Biology, Lomonosov Moscow State University (1 Leninskie gory, Moscow, 119991, Russian Federation; e-mail: apl-223@mail.ru)

**Igor A. Zavertkin**, CSc (Agr), Associate Professor, Acting Head of the Department of Agriculture and Experimental Methodology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127550, Russian Federation; e-mail: izavyortkin@rgau-msha.ru)

**Ekaterina A. Shubina**, Student, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127550, Russian Federation; e-mail: ketshu@mail.ru)