

СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ И МИКОЛОГИЯ / AGRICULTURAL MICROBIOLOGY AND MYCOLOGY

<https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.6.989-998>
УДК 574.472



Бактериальное сообщество сельскохозяйственных почв, используемых для возделывания картофеля в Свердловской области

© 2023. Е. П. Шанина, Г. А. Лиходеевский ✉

ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр
Уральского отделения Российской академии наук», г. Екатеринбург, Российская
Федерация

На урожайность картофеля и других сельскохозяйственных культур оказывает влияние множество факторов, один из главнейших – комплексное состояние почвы. В исследованиях почв чаще делают акцент на определение ее физико-химических свойств, но редко учитывают бактериальное сообщество и его разнообразие. В работе проведена оценка бактериальной микробиоты почв, на которых возделывается картофель. С помощью метабаркодирования и полнофрагментного секвенирования участка 16S рРНК, методом нанопорового секвенирования в 2022 г. был проведён первичный скрининг бактериального сообщества полей в трёх административных районах Свердловской области: город Екатеринбург, Белоярский и Сысертский районы. В результате до уровня вида была определена 2371 операционная таксономическая единица (ОТЕ). Более половины относительного бактериального обилия занимал филум *Proteobacteria*. Более трети всего бактериального сообщества приходилось на три порядка: *Burkholderiales*, *Hyphomicrobiales* и *Acidobacteriales*. Наиболее распространены в обрабатываемых сельскохозяйственных почвах Свердловской области рода бактерий: *Bradyrhizobium*, *Massilia*, *Gaiella*, *Sphingomonas*, *Lysobacter* и *Gemmatimonas*. Полученные результаты анализа альфа- и бета-разнообразия позволили заключить, что, несмотря на статистически значимую разницу в численности обнаруженных ОТЕ между некоторыми полями, различие в их разнообразии по объектам исследования в административных районах Свердловской области отсутствует.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum* L., микробиота, почва, биоразнообразие, секвенирование

Благодарности: работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках выполнения подпрограммы КПНИ «Селекция и семеноводство картофеля».

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку данной работы.

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Шанина Е. П., Лиходеевский Г. А. Бактериальное сообщество сельскохозяйственных почв, используемых для возделывания картофеля в Свердловской области. Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2023;24(6):989-998. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.6.989-998>

Поступила: 03.07.2023

Принята к публикации: 09.11.2023

Опубликована онлайн: 20.12.2023

Bacterial community of agricultural soils used for potato cultivation in Sverdlovsk region

© 2023. Elena P. Shanina, Georgiy A. Lihodeevskiy ✉

Ural Federal Agrarian Scientific Research Centre, Ural Branch of the Russian Academy
of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

The yield of potatoes and other crops is influenced by many factors, one of the most important is the complex condition of the soil. Soil research more often focuses on the determination of its physical and chemical properties, but rarely takes into account the bacterial community and its diversity. In this work, the bacterial microbiota of soils cultivated with potato was evaluated. Using metabarcoding and full-fragment sequencing of the 16S rRNA site, by nanopore sequencing, primary screening of the bacterial community of fields in three administrative districts of the Sverdlovsk region: the city of Yekaterinburg, Beloyarsky and Sysertsky districts was carried out in 2022. As a result, 2371 operational taxonomic units (OTUs) were identified to the species level. More than half of the relative bacterial abundance is occupied by the phylum *Proteobacteria*. Three orders represent more than one-third of the total bacterial community: *Burkholderiales*, *Hyphomicrobiales*, and *Acidobacteriales*. The most common bacterial genera in cultivated agricultural soils of the Sverdlovsk region are *Bradyrhizobium*, *Massilia*, *Gaiella*, *Sphingomonas*, *Lysobacter* and *Gemmatimonas*. The obtained results of alpha- and beta-diversity analysis allow us to conclude that, despite the statistically significant difference in the number of detected OTUs between some fields, there is no difference in their diversity by study objects in the administrative districts of the Sverdlovsk region.

Keywords: *Solanum tuberosum* L., microbiota, soil, biodiversity, sequencing

Acknowledgements: the work was carried out with the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation as part of the implementation of the CSRP subprogram "Breeding and seed production of potatoes".

The authors thank the reviewers for their contribution to the expert evaluation of this work.

Conflict of interest: the authors stated that there was no conflict of interest.

For citation: Shanina E. P., Lihodeevsky G. A. Bacterial community of agricultural soils used for potato cultivation in Sverdlovsk region. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2023;24(6):989-998. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.6.989-998>

Received: 03.07.2023

Accepted for publication: 09.11.2023

Published online: 20.12.2023

Трудно найти такую же важную экосистему для сельского хозяйства, как почва, значительная доля всего разнообразия агроэкосистем заключена в ней. Почвенная микробиота, представленная бактериями и грибами, играет чрезвычайно важную роль в круговороте питательных веществ и жизненно важных элементов, оказывает прямое и косвенное влияние на растения, продуктивность почв [1, 2]. Бактерии и грибы вносят значительный вклад в эффективность использования воды и питательных веществ, что в конечном итоге отражается на продуктивности растений [3]. При этом изменение биоразнообразия микроорганизмов может служить индикатором нарушений в землепользовании. Качественное и количественное описание микробиологических сообществ почв вызывает большой интерес во всём мире как потенциальный инструмент для оценки состояния почвы [4, 5]. Отмечено влияние микробиоты и на проявление биотических стрессов у растений, в частности на способность предотвращать [6, 7] или, наоборот, благоприятствовать развитию мягкой гнили картофеля [8].

Комиссией EFSA по средствам защиты растений подчёркивается комплексность и недостаточная изученность микробиологического разнообразия, в то же время указывается на необходимость его сохранения [9].

Работы, связанные с изучением влияния бактериальных сообществ на рост и развитие картофеля, показали видовую специфичность бактерий в отношении последнего (по сравнению с другими культурами) и изменение видового состава микробиоты в зависимости от стадии роста растений [10]. Другие исследователи отмечают влияние самой культуры на микробиоту; так, от сортовой принадлежности картофеля зависит сложность и устойчивость микробиологического сообщества [11]. Помимо этого, бактерии, ассоциированные с поверхностью клубней, представляют особый интерес как возможный фактор, определяющий урожай картофеля и его хранение [12]. К тому же видовой состав таких бактериальных сообществ изменяется от вида внесённых в почву удобрений [13].

Применение в технологии возделывания картофеля мульчирования почв полиэтиленовыми плёнками, позволяющими удерживать влагу, оказывает положительное влияние на состав и разнообразие микробиоты, что, в свою очередь, ведёт к увеличению урожайности по сравнению с немulчированными почвами. Контроль качества микробиоты также важен, поскольку спровоцированные некоторыми грибами болезни картофеля, такие как фитофтороз и сухая гниль, имеют более высокую частоту встречаемости в условиях непрерывного земледелия [14].

Цель исследований – изучить разнообразие бактериальных сообществ сельскохозяйственных земель Свердловской области, используемых для культивирования картофеля.

Новизна исследований – впервые проведена работа по описанию бактериального разнообразия сельскохозяйственных угодий Свердловской области, занятых посадками картофеля, и сделан первый шаг к изучению метаболома сельскохозяйственных почв на Урале.

Материал и методы. *Отбор почвенного материала.* Отбор образцов проводили с восьми полей, расположенных в трёх административных районах Свердловской области (табл. 1). Почва на данных полях обрабатывается под пропашные культуры (картофель) традиционными способами, включая осеннюю вспашку и весеннюю культивацию. На всех полях используется четырёхпольный севооборот: в Белоярском районе – кукуруза, пшеница, пшеница, картофель; в Екатеринбурге – пшеница с подсевом клевера, клевер второго года пользования, чистый пар, картофель; Сысертский район: овёс с подсевом клевера, клевер второго года пользования, однолетние травы, картофель. Почва на исследованных полях относится к подтипу дерново-подзолистых, разновидностей суглинистых средних. Для отбора образцов использовали метод конверта, площадки закладывали на расстоянии 10 метров от краёв поля. Из-за разницы размеров площадей исследуемых полей они были разбиты на две группы – до 10 га и более 10 га,

размеры сторон квадратных площадок составляли 25 и 150 метров соответственно. Отбор образцов проводили во время вегетации картофеля – через два месяца с даты посадки. С каждой площадки отбирали по пять точечных проб почвы в стерильные банки для медицинских анализов с помощью стерильных шпа-

телей на глубине 5-10 см от поверхности. Содержание гумуса (ГОСТ 26213-2021) и реакцию почвенной среды ($pH_{\text{сол}}$, ГОСТ 26483-85) определяли в объединённой пробе, сложенной из отобранных точечных образцов. Анализ проводили в аналитической лаборатории Уральского НИИСХ.

Таблица 1 – Расположение и площадь полей, на которых проводился отбор почвенных образцов / Table 1 – Location and area of fields where soil samples were taken

Поле / Field	Район / District	Площадь, га / Area, ha
Б1 / B1	Белоярский район / Beloyarsky District	19,8
Б2 / B2	Белоярский район / Beloyarsky District	26,2
Е1	г. Екатеринбург / Yekaterinburg	15,6
Е2	г. Екатеринбург / Yekaterinburg	0,46
Е3	г. Екатеринбург / Yekaterinburg	4,1
Е4	г. Екатеринбург / Yekaterinburg	4,8
Е5	г. Екатеринбург / Yekaterinburg	3,5
С1 / S1	Сысертский район / Sysertsky District	24,1

Подготовка библиотеки и секвенирование образцов. Для выделения микробной ДНК из почвенных образцов использовали набор «innuSPEEDSoil DNA Kit» компании AnalytikJena (Германия). Масса навески составила 200 мг. Для всех образцов потребовалась дополнительная очистка на магнитных частицах AMPureXP в соответствии с рекомендуемым протоколом. Качество выделения и концентрацию ДНК проводили спектрофотометрическим методом на приборе Nano 200.

Для пробоподготовки секвенирования фрагментов 16S рРНК использовали набор реагентов для метабаркодирования бактериального метагенома «16S BarcodingKit 1-24» SQK-16S024 компании Oxford Nanopore Technologies. В данный набор для метабаркодирования включены праймеры 27F и 1492R с экстра-последовательностями на 5'-конце (баркодами). Для проведения ПЦР использовали Tersus набор от Евроген (Россия): 10X Tersus-буфер – 5 мкл; дНТФ – 1,5 мкл; Tersus-pol – 1 мкл; раствор праймеров с баркодами из набора SQK-16S024 – 10 мкл; вода – 22,5; матрица 10 мкл суммарный объём реакционной смеси 50 мкл. Протокол амплификации: 95 °C – 3 минуты; 29 циклов 95 °C – 20 секунд;

55 °C – 20 секунд; 72 °C – 1,5 минуты; 72 °C – 5 минут.

ПЦР-продукты очищали с помощью реагента AMPureXP в соответствии с рекомендуемым протоколом. Измерение концентрации и чистоты ампликонов проводили спектрофотометрически. В соответствии с полученными результатами проверки концентрации, образцы пулировали в общую библиотеку секвенирования, которое проводили на приборе MinION Mk1C, используя проточную ячейку для нанопорового секвенирования R9.4.1.

Биоинформатический анализ. Полученные файлы в формате fast5 переводили в fastq с помощью программного обеспечения Guppy v6.0¹. Для получения операционных таксономических единиц (ОТЕ) использовали облачный инструмент Epi2Me с программой анализа Fastq 16S, где чтения сравниваются с последовательностями 16S базы данных NCBI², и таксономическая принадлежность определяется методом присвоения. Анализ Fastq 16S запускали со следующими параметрами: минимальная длина чтения 500 нуклеотидных пар; максимальная длина чтения 2000 н.п.; минимальное покрытие 50 %; минимальный коэффициент идентичности ≥ 97 .

¹Программное обеспечение Guppy v6.0. [Электронный ресурс].

URL: <https://community.nanoporetech.com/posts/guppy-v6-0-1-patch-release> (дата обращения: 24.06.2022).

²NCBI RefSeq Targeted Loci Project. [Электронный ресурс].

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/targetedloci/> (дата обращения: 26.06.2023).

Дальнейшую работу проводили в среде статистической обработки данных R³. С помощью пакета OTUtable [15] осуществляли фильтрацию по обилию ОТЕ ($\geq 0,01$).

Оценку альфа- и бета-разнообразия проводили с помощью пакетов phyloseq [16] и vegan⁴, результаты считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Таблица 2 – Гумусированность и кислотность дерново-подзолистого почвенного профиля в исследуемых образцах / Table 2 – Humus content and acidity of sod-podzolic soil in the studied samples

Поле / Field	Содержание гумуса, % / Humus content, %	pH / pH	Характеристика почвы / Soil characteristics	Район / District
Б1 / B1	4,9	5,36	Сильногумусная слабокислая / Highly humus Sub-acid	Белоярский район / Beloyarsky District
Б2 / B2	5,1	6,26	Сильногумусная нейтральная / Highly humus Neutral	
Е1	4,54	4,62	Сильногумусная среднекислая / Highly humus Medium acid	г. Екатеринбург / Yekaterinburg
Е2	2,91	5,73	Среднегумусная слабокислая / Medium humus Sub-acid	
Е3	4,45	4,95	Сильногумусная среднекислая / Highly humus Medium acid	
Е4	4,14	4,29	Сильногумусная сильнокислая / Highly humus Highly acid	
Е5	4,40	4,32		
С1 / S1	5,46	5,65	Сильногумусная слабокислая / Highly humus Sub-acid	Сысертский район / Sysertsy District

К сожалению, из-за малого объёма выборок, затруднительно корректно оценить различия в доле гумуса и кислотности между почвами изучаемых полей. Однако оценка различий почв полей города Екатеринбурга и Белоярского района по этим показателям с помощью U-критерия Манна-Уитни демонстрирует, что значимая разница между ними отсутствует ($p > 0,05$).

Отличительной особенностью высокопроизводительного нанопорового секвенирования от существующих технологий второго поколения, например Illumina, является возможность получения чтений (сиквенсов) неограниченной длины. В то время как используя технологию коротких чтений для целей мета-баркодирования бактериальных сообществ, исследователи ограничены V3-V4 регионом гена 16S, нанопоровое секвенирование позволяет получать чтения полного 16S гена.

Результаты и их обсуждение. По результатам определения содержания гумуса, можно заключить, что почвы на всех полях, кроме поля Е2, относятся к сильногумусным ($> 4\%$) (табл. 2). По уровню кислотности выделяются сильнокислые (диапазон 4,0-4,5), среднекислые (4,5-5,0), слабокислые (5,0-6,0) и нейтральные (6,0-7,5) почвы.

Это делает доступным проведение таксономических определений до уровня вида, несмотря на ограничения, связанные с качеством секвенирования [17, 18]. В нашей работе, по результатам нанопорового секвенирования было получено 4453738 нуклеотидных чтений со средней длиной 1508 пар нуклеотидов и со средним показателем качества 13,4. По итогам анализа Fastq 16S 656713 чтений или около 16417±9817 на пробу было идентифицировано до видового уровня (коэффициент идентичности ≥ 97). Дополнительно проводили фильтрацию по обилию ОТЕ, соотнесённых с 2371 видом (1868±330 ОТЕ на образец). Чтения, не определённые до видового уровня, а соотнесённые только с более высокими таксономическими рангами, были удалены из дальнейшего анализа. Суммарно для дальнейшей работы было доступно 614532 чтения или 15363±9194 чтения на образец (табл. 3).

³R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2021. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.R-project.org/> (дата обращения: 27.06.2023).

⁴Oksanen J., Simpson G. L., Blanchet F. G., Kindt R., Legendre P., Minchin P. R., et. al. Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.6-2. 2022. [Электронный ресурс]. URL: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan> (дата обращения: 29.06.2023).

Таблица 3 – Результат определения ОТЕ методом таксономического присвоения /
Table 3 – Result of OTU determination by taxonomic assignment

Поле / Field	Количество классифицированных чтений / Number of classified reads	Количество ОТЕ видового уровня и соответствующие им более высокие таксономические ранги / Number of OTUs of species level and corresponding higher taxonomic ranks				Район / District
		виды / species	рода / genera	порядки / orders	филюмы / phyla	
Б1 / B1	53212	1817	479	34	12	Белоярский район / Beloyarsky District
Б2 / B2	64443	1978	507	37	14	
Е1	104312	2031	498	33	12	г. Екатеринбург / Yekaterinburg
Е2	15298	1112	378	30	13	
Е3	132561	2170	525	33	13	
Е4	54051	1821	481	35	14	
Е5	139908	2106	517	35	14	
С1 / S1	50747	1910	496	37	14	Сысертьский район / Sysertsy District
Все поля/ All fields	614532	2371	565	58	15	Все районы / All Districts

Стоит отдельно отметить, что помимо трудностей, связанных с массой навески [19, 20] и смещениями, возникающих при амплификации, в определении истинного разнообразия играет роль и различие в числе копий гена 16S у разных таксонов [21]. Коррекция метагеномных данных по числу копий остаётся нерешённой проблемой [22], а базы данных, например rncdb [23], хоть и насчитывают 1452 рода бактерий с известной вариативностью числа копий гена 16S⁵, но предоставляют лишь обобщённые данные по видам. Отсутствие более полных данных является существенным препятствием, а разработанные сегодня подходы к нормализации по числу копий 16S не улучшают результаты анализа в метатаксономических исследованиях [24]. Также нормализация по числу копий не всегда оправдана, поскольку имеет ограниченное влияние на результат исследования бета-разнообразия [25].

В ходе нашей работы мы определили, что более половины бактериального сообщества составляют представители филума *Proteobacteria* – 62,9 %; из них самый многочисленный порядок в исследованных образцах *Burkholderiales*, который занимает от 13,1 до 28,2 % разнообразия сообщества (рис. 1). Порядку принадлежат бактерии, населяющие почву, в том числе встречаются патогены растений, например род *Ralstonia* [26], представители этого порядка также способны вызвать серьёзные заболевания человека [27]. Следующие по распространённости порядки бактерий: *Hyphomicrobiales* (филум *Proteobacteria*) и *Acido-*

bacteriales (филум *Acidobacteria*) с максимальными частотами в образцах 27,1 и 17,1 % соответственно. Порядок *Rhizobiales* (*Hyphomicrobiales*) включает азотфиксирующие клубеньковые бактерии, например семейства *Nitrobacteraceae*, *Hyphomicrobiaceae*, *Phyllobacteriaceae* и *Rhizobiaceae*, а также род *Agrobacterium*, представители которого способны к горизонтальному переносу своих генов в растения и вызывают у последних опухоли [28]; *Acidobacteriales* и родственные им виды филума *Acidobacteria* широко представлены по всему миру во множестве различных субстратов [29]. Наиболее многочисленными, составляющими более 5 % от общего числа обнаруженных родов, являются: *Bradyrhizobium*, *Massilia*, *Gaiella*, *Sphingomonas*, *Lyso-*
bacter и *Gemmatimonas*. Род *Lyso-*
bacter включает виды, подавляющие почвенные нематоды и грибок *Rhizoctonia*, вызывающий ризоктониоз картофеля [30, 31]. Виды родов *Bradyrhizobium* (азотфиксирующие бактерии [32, 33]) и *Gemmatimonas* (почвенные бактерии, накапливающие полифосфаты [34]), представители рода *Massilia* – это ризосферные эндофитные бактерии [35]. Род *Sphingomonas* содержит бактерии, которые могут: разлагать полициклические ароматические углеводороды [36]; разлагать некоторые гербициды [37]; образовывать симбиозы с бобовыми [38]. Род *Gaiella* включает единственный вид *Gaiellaocculta*, который встречается во множестве почвенных образцов [39, 40, 41].

⁵База данных rncdb. [Электронный ресурс]. URL: <https://rncdb.umms.med.umich.edu/static/download/> (дата обращения: 30.06.2023).

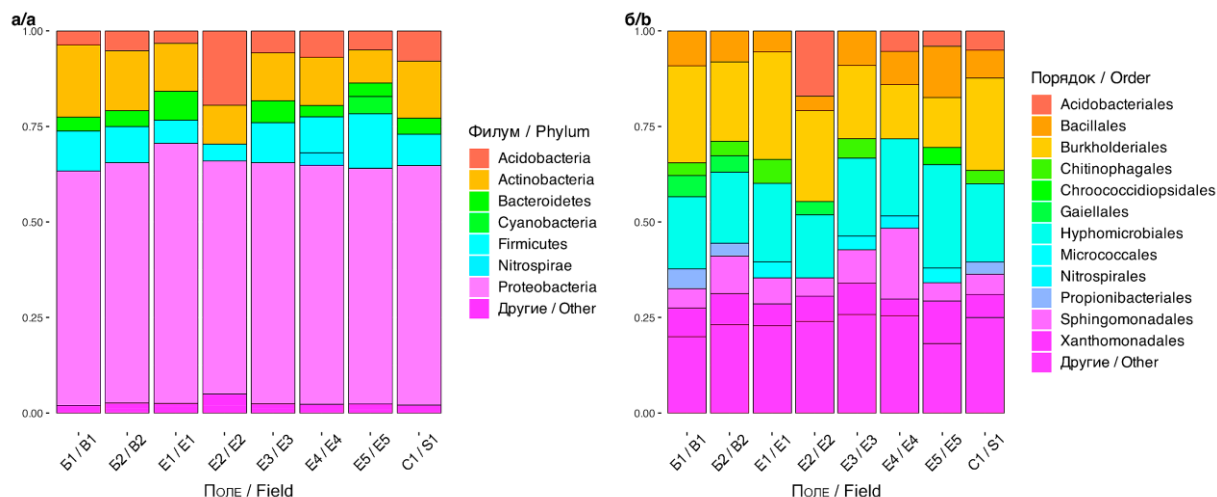


Рис. 1. Относительное обилие таксономических групп бактериального сообщества сельскохозяйственных полей Свердловской области: а – филум; б – порядок /

Fig. 1. Relative abundance of taxonomic groups of the bacterial community of agricultural fields in the Sverdlovsk region: a – Phylum; b – Order

Перед проведением оценки биологического разнообразия проводили нормализацию данных и фильтрацию по количеству обнаруженных ОТЕ в поле. В результате фильтрации из анализа было исключено поле E2 (<50000 чтений). Нормализацию проводили методом «случайной подвыборки» и на выходе получили более сбалансированные данные обилий ОТЕ: в среднем 51284 ОТЕ по каждому полю

или 10256±982 на образец. Из анализа исключили 53 ОТЕ (вида), обилие которых после нормализации оказалось ниже заданного порога (>0,01). Альфа-разнообразие оценивали в количестве ОТЕ на видовом уровне. Наблюдаемое альфа-разнообразие между полями в целом было однородно за исключением пар полей: E3-B1, E3-E5 (рис. 2); альфа-разнообразие между полями значительно различалось ($p<0,05$).

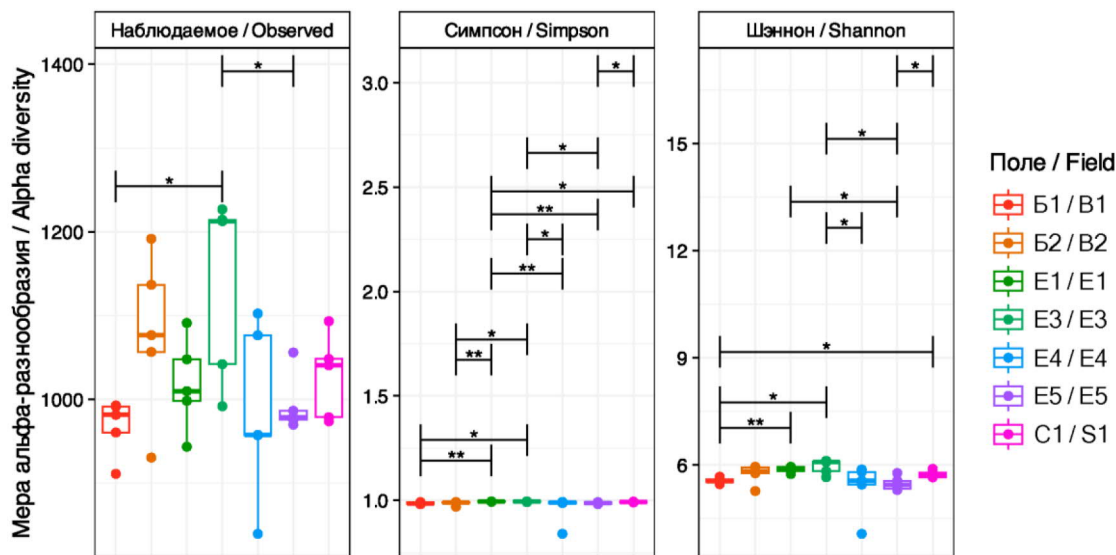


Рис. 2. Альфа-разнообразие бактериального сообщества исследованных полей Свердловской области, наблюдаемое и оцененное по Шэннону и Симпсону. Прямоугольники представляют нижний и верхний квартили, утолщённые горизонтальные линии внутри прямоугольников представляют медиану, вертикальные линии, проходящие от прямоугольника к наименьшим и наибольшим значениям, отдельные точки – выбросы. Горизонтальные отрезки над прямоугольниками представляют попарные сравнения: * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$ /

Fig. 2. Alpha diversity of the bacterial community of the studied fields in the Sverdlovsk region observed and estimated by Shannon and Simpson. Rectangles represent the lower and upper quartiles, thick horizontal lines, inside the rectangles, represent the median, vertical lines running from the rectangle to the lowest and highest values, individual points are outliers. Horizontal segments above the rectangles represent pairwise comparisons: * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$

По причине малого количества образцов на поле ($n = 5$) для проверки равенства медиан использовали критерий Краскела-Уоллиса. Оценки индексов Симпсона и Шеннона демонстрируют больше достоверных различий в численности видов ($p < 0,05$) между парами полей разных районов Свердловской области и внутри района г. Екатеринбурга.

По причине малого числа и разного количества образцов в районе, для оценки бета-разнообразия использовали непараметрические методы. Оценку бета-разнообразия проводили с помощью NMDS – неметрическое

многомерное масштабирование и ANOSIM – анализ сходства. Оба метода показывают однородность бактериальных сообществ трёх исследованных районов. Наблюдается равномерное распределение точек между районами, а кластеры разных районов пересекаются и формируют общее облако точек (рис. 3). По результатам анализа сходства, статистически значимая разница в видовом разнообразии микробных сообществ между районами отсутствует ($p > 0,05$). Проведённая попарная оценка сходства между районами также не показала достоверных различий (табл. 4).

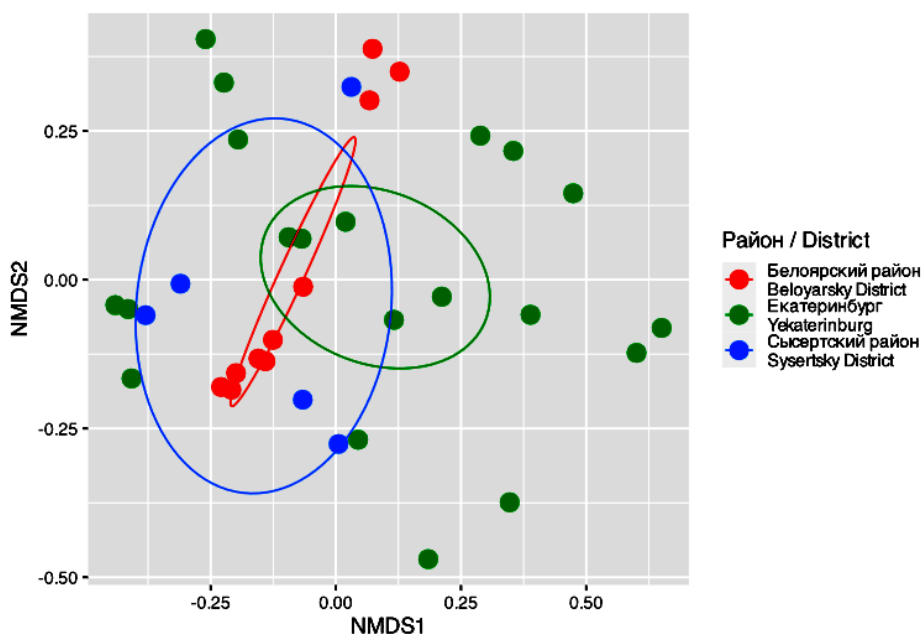


Рис. 3. Бета-разнообразие бактериальных сообществ исследованных районов Свердловской области методом NMDS. Эллипсы вокруг барицентров районов отражают 95%-ный доверительный интервал /

Fig. 3. Beta diversity of bacterial communities of the studied districts of the Sverdlovsk region by NMDS method. Ellipses show 95% confidence interval around barycentres of Districts

Таблица 4 – Результат попарных оценок ANOSIM исследованных районов /

Table 4 – Result of pairwise ANOSIM scores of the investigated districts

Район 1 / District 1	Район 2 / District 2	p-значение / p-value
Белоярский район / Beloyarsky District	Екатеринбург / Yekaterinburg	0,180
Белоярский район / Beloyarsky District	Сысертский район / Sysertsy District	0,068
Екатеринбург / Yekaterinburg	Сысертский район / Sysertsy District	0,656

Закключение. Впервые для сельскохозяйственных угодий Свердловской области, занятых посадками картофеля, было проведено определение филогенетического разнообразия почвенных бактерий методом метабаркодирования.

По содержанию гумуса и уровню кислотности между почвами полей из разных админи-

стративных районов не обнаружено значимых различий. В результате нанопорового секвенирования полного 16S бактериального фрагмента и последующего установления таксономической принадлежности свыше 600 тысяч чтений были определены до 2371 операционной таксономической единицы на видовом уровне.

Наиболее многочисленным филумом в обрабатываемых сельскохозяйственных почвах разных полей Свердловской области выделился филум *Proteobacteria* и порядок *Burkholderiales*. Наиболее многочисленными и обнаруженными во всех исследованных полях оказались ОТЕ, относящиеся к родам: *Bradyrhizobium*, *Massilia*, *Gaiella*, *Sphingomonas*, *Lysobacter* и *Gemmatimonas*.

Анализ альфа-разнообразия ОТЕ на уровне вида между полями показал, что в целом наблюдаемая численность видов значимо не различается, за исключением поля ЕЗ, численность обнаруженных ОТЕ внутри которого

значимо выше по сравнению с полями Б1 и Е5. Оценки разнообразия, проведенные с помощью индексов Симпсона и Шеннона, выявляют больше значимых различий между полями, принадлежащими разным или одному административным районам Свердловской области. Несмотря на наблюдаемые различия в альфа-разнообразии между отдельными полями, бета-разнообразие демонстрирует однородность таксономического состава бактериальных сообществ. В ходе исследования не обнаружено значимых различий как в целом по всем исследованным районам, так и в попарных сравнениях.

References

1. Young I. M., Crawford J. W. Interactions and self-organization in the soil-microbe complex. *Science*. 2004;304(5677):1634-1637. DOI: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1097394>
2. Roger-Estrade J., Christel A., Bertrand M., Richard G. Tillage and soil ecology: Partners for sustainable agriculture. *Soil and Tillage Research*. 2010;111(1):33-40. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.still.2010.08.010>
3. Brussaard L., Ruiter P., Brown G. Soil biodiversity for agricultural sustainability. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 2007;121(3):233-244. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.12.013>
4. Zelles L. Fatty acids patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. *Biology and Fertility of Soils*. 1999;29:111-129. DOI: <https://doi.org/10.1007/s003740050533>
5. Zornoza R., Guerrero C., Mataix-Solera J., Scow K. M., Arcenegui V., Mataix-Beneyto J. Changes in soil microbial community structure following the abandonment of agricultural terraces in mountainous areas of Eastern Spain. *Appl Soil Ecol*. 2009;42(3):315-323. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2009.05.011>
6. Fűrnkranz M., Lukesch B., Müller H., Huss H., Grube M., Berg G. Microbial diversity inside pumpkins: Microhabitat-specific communities display a high antagonistic potential against phytopathogens. *Microbial Ecology*. 2012;63:418-428. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9942-4>
7. Glassner H., Zchori-Fein E., Compant S., Sessitsch A., Katzir N., Portnoy V., Yaron S. Characterization of endophytic bacteria from cucurbit fruits with potential benefits to agriculture in melons (*Cucumis melo* L.). *FEMS Microbiology Ecology*. 2015;91(7):fiv074. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiv074>
8. Kõiv V., Roosaare M., Vedler E., Ann Kivistik P., Toppi K., Schryer D. W., Remm M., Tenson T., Mäe A. Microbial population dynamics in response to *Pectobacterium atrosepticum* infection in potato tubers. *SciRep*. 2015;5:11606. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep11606>
9. EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR), Ockleford C., Adriaanse P., Berny P., Brock T., Duquesne S., Grilli S., Hernandez-Jerez A. F., Bennekou S. H., Klein M., Kuhl M., Laskowski R., Mache-ra K., Pelkonen O., Pieper S., Stemmer M., Sundh I., Teodorovic I., Tiktak A., Topping C. J., Wolterink G., Craig P., de Jong F., Manachini B., Sousa P., Swarowsky K., Auteri D., Arena M., Rob S. Scientific Opinion addressing the state of the science on risk assessment of plant protection products for in-soil organisms. *EFSA Journal*. 2017;15(2):e04690. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4690>
10. Inceoglu Ö., van Overbeek L. S., Falcão Salles J., van Elsas J. D. Normal operating range of bacterial communities in soil used for potato cropping. *Applied and Environmental Microbiology*. 2013;79(4):1160-1170. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.02811-12>
11. Gu S., Xiong X., Tan L., Deng Y., Du X., Yang X., Hu Q. Soil microbial community assembly and stability are associated with potato (*Solanum tuberosum* L.) fitness under continuous cropping regime. *Front Plant Sci*. 2022;13:1000045. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1000045>
12. Buchholz F., Antonielli L., Kostić T., Sessitsch A., Mitter B. The bacterial community in potato is recruited from soil and partly inherited across generations. *PLoS One*. 2019;14(11):e0223691. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223691>
13. Kracmarova M., Karpiskova J., Uhlik O., Strejcek M., Szakova J., Balik J., Demnerova K., Stiborova H. Microbial communities in soils and endosphere of *Solanum tuberosum* L. and their response to long-term fertilization. *Microorganisms*. 2020;8(9):1377. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091377>

14. Qin S., Yeboah S., Xu X., Liu Y., Yu B. Analysis on fungal diversity in rhizosphere soil of continuous cropping potato subjected to different furrow-ridge mulching managements. *Frontiers in Microbiology*. 2017;(8):845. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00845>
15. Linz A. M., Crary B. C., Shade A., Owens S., Gilbert J. A., Knight R., McMahon K. D. Bacterial community composition and dynamics spanning five years in freshwater bog lakes. *ASM Journals. MSphere*. 2017;2(3):e00169. DOI: <https://doi.org/doi:10.1128/mSphere.00169-17>
16. McMurdie P. J., Holmes S. Phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLoS One*. 2013;8(4):e61217. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
17. Shin J., Lee S., Go M. J., Lee S. Y., Kim S. C., Lee C. H., Cho B. K. Analysis of the mouse gut microbiome using full-length 16S rRNA amplicon sequencing. *Scientific Reports*. 2016;6:29681. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep29681>
18. Johnson J. S., Spakowicz D. J., Hong B. Y., Petersen L. M., Demkowicz P., Chen L., Leopold S. R., Hanson B. M., Agresta H. O., Gerstein M., Sodergren E., Weinstock G. M. Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nature Communications*. 2019;10(1):5029. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13036-1>
19. Penton C. R., Gupta V. V., Yu J., Tiedje J. M. Size matters: assessing optimum soil sample size for fungal and bacterial community structure analyses using high throughput sequencing of rRNA gene amplicons. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7:824. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00824>
20. Morita H., Akao S. The effect of soil sample size, for practical DNA extraction, on soil microbial diversity in different taxonomic ranks. *PLoS One*. 2021;16(11):e0260121. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260121>
21. Větrovský T., Baldrian P. The variability of the 16S rRNA gene in bacterial genomes and its consequences for bacterial community analyses. *PLoS One*. 2013;8(2):e57923. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057923>
22. Louca S., Doebeli M., Parfrey L. W. Correcting for 16S rRNA gene copy numbers in microbiome surveys remains an unsolved problem. *Microbiome* 2018;6:41. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0420-9>
23. Klappenbach J. A., Saxman P. R., Cole J. R., Schmidt T. M. Rndb: the ribosomal RNA operon copy number database. *Nucleic Acids Research*. 2001;29(1):181-184. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/29.1.181>
24. Starke R., Pylro V. S., Morais D. K. 16S rRNA gene copy number normalization does not provide more reliable conclusions in metataxonomic surveys. *Microbial Ecology*. 2021;81:535-539. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00248-020-01586-7>
25. Gao Y., Wu M. Accounting for 16S rRNA copy number prediction uncertainty and its implications in bacterial diversity analyses. *ISME Communications*. 2023;3(1):59. DOI: <https://doi.org/10.1038/s43705-023-00266-0>
26. Charkowski A., Sharma K., Parker M. L., Secor G. A., Elphinstone J. Bacterial diseases of potato. In: Campos H., Ortiz O. (eds) *The Potato Crop*. Springer, Cham. 2020. pp. 351-388. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5_10
27. Voronina O. L., Kunda M. S., Ryzhova N. N., Aksenova E. I., Semenov A. N., Lasareva A. V., Amelina E. L., Chuchalin A. G., Lunin V. G., Gintsburg A. L. The variability of the order *Burkholderiales* representatives in the healthcare units. *BioMed Research International*. 2015;2015:680210. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/680210>
28. Volpiano C. G., Sant'Anna F. H., Ambrosini A., de São José J. F. B., Beneduzi A., Whitman W. B., de Souza E. M., Lisboa B. B., Vargas L. K., Passaglia L. M. P. Genomic metrics applied to *Rhizobiales* (*Hyphomicrobiales*): species reclassification, identification of unauthentic genomes and false type strains. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12:614957. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.614957>
29. Quaiser A., Ochsenreiter T., Lanz C., Schuster S. C., Treusch A. H., Eck J., Schleper C. *Acidobacteria* form a coherent but highly diverse group within the bacterial domain: evidence from environmental genomics. *Molecular Microbiology*. 2003;50(2):563-575. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03707.x>
30. Tian B., Yang J., Zhang K. Q. Bacteria used in the biological control of plant-parasitic nematodes: populations, mechanisms of action, and future prospects. *FEMS Microbiology Ecology*. 2007;61(2):197-213. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00349.x>
31. Postma J., Schilder M. T., Bloem J., Van Leeuwen-Haagsma W. K. Soil suppressiveness and functional diversity of the soil microflora in organic farming systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008;40(9):2394-2406. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.05.023>
32. Duran D., Rey L., Navarro A., Busquets A., Imperial J., Ruiz-Argüeso T. *Bradyrhizobiumvalentinum* sp. nov., isolated from effective nodules of *Lupinus mariae-josephae*, a lupine endemic of basic-lime soils in Eastern Spain. *Systematic and Applied Microbiology*. 2014;37(5):336-341. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2014.05.002>
33. Helene L. C. F., Delamuta J. R. M., Ribeiro R. A., Hungria M. *Bradyrhizobiummercantei* sp. nov., a nitrogen-fixing symbiont isolated from nodules of *Degueliacostata* (syn. *Lonchocarpuscostatus*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2017;67(6):1827-1834. DOI: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001870>

34. Zhang H., Sekiguchi Y., Hanada S., Hugenholtz P., Kim H., Kamagata Y., Nakamura K. *Gemmatimonas aurantiaca* gen. nov., sp. nov., a gram-negative, aerobic, polyphosphate-accumulating micro-organism, the first cultured representative of the new bacterial phylum *Gemmatimonadetes* phyl. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2003;53(4):1155-1163. DOI: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02520-0>
35. Ofek M., Hadar Y., Minz D. Ecology of root colonizing *Massilia* (*Oxalobacteraceae*). *PLoS One*. 2012;7(7):e40117. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040117>
36. Macchi M., Martinez M., NemeTaul R. M., Valacco M. P., Morelli I. S., Coppotell B. M. Insights into the genome and proteome of *Sphingomonas paucimobilis* strain 20006FA involved in the regulation of polycyclic aromatic hydrocarbon degradation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2017;34(1):7. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2391-6>
37. Li R., Dörfner U., Munch J. C., Schroll R. Enhanced degradation of isoproturon in an agricultural soil by a *Sphingomonas* sp. strain and a microbial consortium. *Chemosphere*. 2017;168:1169-1176. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.084>
38. Mazoyon C., Hirel B., Pecourt A., Catterou M., Gutierrez L., Sarazin V., Dubois F., Duclercq J. *Sphingomonas dimincola* is an end osymbiotic bacterium able to induce the formation of root nodules in pea (*Pisum sativum* L.) And to enhance plant biomass production. *Microorganisms*. 2023;11(1):199. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010199>
39. Ahn J. H., Lee S. A., Kim J. M., Kim M. S., Song J., Weon H. Y. Dynamics of bacterial communities in rice field soils as affected by different long-term fertilization practices. *Journal of Microbiology*. 2016;54(11):724-731. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12275-016-6463-3>
40. Cordero J., de Freitas J. R., Germida J. J. Bacterial microbiome associated with the rhizosphere and root interior of crops in Saskatchewan, Canada. *Canadian Journal of Microbiology*. 2020;66(1):71-85. DOI: <https://doi.org/10.1139/cjm-2019-0330>
41. Kim H., Park Y. H., Yang J. E., Kim H. S., Kim S. C., Oh E. J., Moon J., Cho W., Shin W., Yu C. Analysis of major bacteria and diversity of surface soil to discover biomarkers related to soil health. *Toxics*. 2022;10(3):117. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxics10030117>

Сведения об авторах

Шанина Елена Петровна, доктор с.-х. наук, главный научный сотрудник, Уральский НИИСХ – филиал ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», д. 21, ул. Главная, г. Екатеринбург, Российская Федерация 620061, e-mail: uralniishoz@list.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-5818-3813>

✉ **Лиходеевский Георгий Александрович**, младший научный сотрудник, Уральский НИИСХ – филиал ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», д. 21, ул. Главная, г. Екатеринбург, Российская Федерация, 620061, e-mail: uralniishoz@list.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2616-2166>, e-mail: georglihodey@gmail.com

Information about the authors

Elena P. Shanina, DSc in Agricultural Science, chief researcher, Ural Research Institute of Agriculture, Ural Federal Agrarian Scientific Research Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 21, Glavnaya St., Yekaterinburg Russian Federation, 620061, e-mail: uralniishoz@list.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-5818-3813>

✉ **Georgiy A. Lihodeevskiy**, junior researcher, Ural Research Institute of Agriculture, Ural Federal Agrarian Scientific Research Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 21, Glavnaya St., Yekaterinburg, Russian Federation, 620061, e-mail: uralniishoz@list.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2616-2166>, e-mail: georglihodey@gmail.com

✉ – Для контактов / Corresponding author