

**БИОРАЗНООБРАЗИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ АНСАМБЛЕЙ В БУРОЗЁМЕ  
ЭЛЮВИРОВАННОМ ПОД СОСНОЙ КОРЕЙСКОЙ**© 2018 Н. Б. Наумова<sup>1</sup>, Т.Ю. Аликина<sup>2</sup>, Г.В. Кузнецова<sup>3</sup>

Адрес:<sup>1</sup> ФГБУН Институт почвоведения и агрохимии СО РАН, пр. Ак. Лаврентьева, 8/2, г.Новосибирск, 630090, Россия. E-mail: [naumova@issa-siberia.ru](mailto:naumova@issa-siberia.ru)

<sup>2</sup>ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Ак. Лаврентьева, 8, г.Новосибирск, 630090, Россия. E-mail: [alikina@niboch.nsc.ru](mailto:alikina@niboch.nsc.ru)

<sup>3</sup>ФГБУН Институт леса им. В.Н. Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН, Академгородок, 50, стр. 28, Красноярск, 660036, Россия, E-mail: [galva@ksn.krasn.ru](mailto:galva@ksn.krasn.ru)

**Цель исследования:** Целью работы было изучение генетического разнообразия и структуры бактериальных ансамблей бурозема элювированного и выявление их взаимосвязи с почвенно-химическими и почвенно-микробиологическими свойствами.

**Место и время проведения.** Образцы валовой и ризосферной части бурозёма элювированного отобрали осенью 2014 года из слоя 0-20 см (сразу под подстилкой) с делянок длительного полевого опыта с сосной корейской в Хабаровском крае.

**Методология.** Отбирали образцы валовой почвы, а также почвы ризосферы корней сосны путем осторожного встряхивания корней и сбора оставшейся на них почвы. В отобранных образцах почвы определяли химические (рН, содержание органического вещества, обменных форм питательных элементов) и микробиологические (содержание биомассы почвенных микроорганизмов, базальное и субстрат-индуцированное дыхание почвы) свойства, а также экстрагировали метагеномную ДНК. Эту ДНК использовали в качестве матрицы для амплификации гипервариабельных районов (V3-V4) генов 16S рРНК с помощью универсальных бактериальных праймеров; ампликоны секвенировали с помощью Illumina MiSeq. Полученные последовательности идентифицировали до индивидуальных операционных таксономических единиц (ОТЕ) на уровне сходства 97%. Далее матрицы данных с обилием ОТЕ анализировали с помощью методов анализа главных компонент, многомерного шкалирования и дисперсионного анализа. Также рассчитывали индексы  $\alpha$ - и  $\beta$ -разнообразия.

**Основные результаты.** В бактериальных ансамблях бурозёма элювированного под сосной корейской в естественных для нее условиях было выявлено 400 ОТЕ, из которых 42 являлись доминантными, т.е. имели вклад  $\geq 1\%$  в общее число последовательностей. Основными типами являлись *Acidobacteria* (34% общего числа последовательностей), *Proteobacteria* (25%) и *Actinobacteria* (9%). При этом видовое богатство бактериальных ансамблей было определено первым доминирующим типом, а выравненность – вторым доминирующим типом. Основными классами оказались *Alphaproteobacteria* (21%), группа 1 *Acidobacteria* (13%) и *Ktedonobacteria* (12%). Среди первых 5 доминантных ОТЕ две ОТЕ встречались во всех образцах, и это были ОТЕ, относящиеся к *Rhizobiales*, т.е. азотфиксирующим бактериям. Индексы  $\alpha$ -разнообразия не отличались между образцами, а индекс  $\beta$ -разнообразия были больше для образцов с разных делянок, чем для образцов валовой и ризосферной почвы.

**Заключение.** Впервые выявлен состав бактериальных ансамблей бурозёма элювированного под сосной корейской в искусственном моновидовом фитоценозе, но в естественных для этого вида условиях окружающей среды. Доминирование азотфиксирующих организмов в почве под сосной корейской свидетельствует об особой важности азотфиксации для роста и развития этого высокопродуктивного вида. Впервые выявленная положительная связь видового разнообразия ансамблей почвенных бактерий с содержанием микробиального углерода в органическом веществе почвы важна для расширения диапазона значимости этого показателя как стандартного индикатора качества почвы.

**Ключевые слова:** сосна корейская; *Pinus koraeensis* Siebold et Zucc.; бурозём элювированный; Harpic Cambisol; 16S рДНК; метагеномные исследования; ризосфера

**Цитирование:** Наумова Н.Б., Аликина Т.Ю., Кузнецова Г.В. Биоразнообразие бактериальных ансамблей бурозёма элювированного под сосной корейской // Почвы и окружающая среда. 2018. № 1(3). С.151 – 169.

## ВВЕДЕНИЕ

Леса являются высокопродуктивными экосистемами, занимающими большую часть территории России, которая составляет пятую часть лесов мира (FAO, 2003). Для понимания динамики лесных экосистем необходимо изучение состава и структуры микробных сообществ различных местообитаний в пределах экосистемы, или же так называемого лесного микробиома (Baldrian, 2017), т.е. совокупности геномов микроорганизмов всех компонентов экосистемы. Среди таковых почва является одним из основных, и населяющие ее микроорганизмы, т.е. организмы объемом не более 5000 мкм<sup>3</sup> (Coleman, 1988), обеспечивают важные экосистемные процессы и сервисы (Stavi et al., 2016). Эти процессы зависят от состава и структуры, т.е. биоразнообразия, микробных сообществ почвы, и потому их изучение давно привлекает внимание исследователей.

Перепись микробного населения, проводимая современными метагеномными методами, является необходимым начальным этапом для интегрированных и хорошо сфокусированных системно-экологических исследований и обобщений (Baldrian, 2017). Почвы лесных экосистем нашей страны в плане каталогизации биоразнообразия микробных сообществ изучены недостаточно.

Одними из основных лесообразующих пород являются хвойные, в частности, сосны, имеющие огромное значение для экономики страны. Сосна корейская имеет обширный ареал распространения на востоке страны, в основном в Приморском и Хабаровском краях (Выводцев в соавт., 2012). Этот высокопродуктивный и декоративный вид уже давно пытаются интродуцировать в других регионах страны (Роров, 2010), в связи с чем изучают механизмы его адаптации к отличающимся от привычных почвенно-экологическим условиям произрастания (Кузнецова, 2010; Naumova et al., 2014).

Состав микробных сообществ лесных почв определяется видом доминантной лесообразующей породы (Urbanová et al., 2015), при этом корни деревьев являются основным интерфейсом взаимодействия наземной и подземной частей лесной экосистемы путем корневых выделений и корневого опада (Augusto et al., 2015), формируя специфичное для ризосферной почвы сообщество. В длительных полевых опытах с различными лесообразующими породами, заложенных по всей территории страны в 70-80-е годы прошлого века, сформированы зрелые монодоминантные искусственные фитоценозы, предоставляющие возможность изучить почвенные микроорганизмы при поступлении моновидового растительного материала, как в случае с сосной корейской.

Целью работы было изучение генетического разнообразия и структуры бактериальных сообществ бурозёма элювирированного и выявление их взаимосвязи с общей биомассой и активностью почвенных микроорганизмов и почвенно-химическими свойствами под сосной корейской в естественных для нее условиях в длительном полевом опыте в Хабаровском крае.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Полевой опыт** с географическими культурами (климатипами) кедровых сосен был заложен в 1974 г в Хехцирском лесничестве (48°16' N, 135°02' E, 224 m a.s.l.) Хабаровского края на берозёме элювирированном (Классификация и диагностика почв России, 2004; Полевой определитель ..., 2008), или *Narlic Cambisol* (по международной классификации, WRB, 2014). Лесоводственные особенности опыта описаны ранее (Ирошников, 1977). Сеянцы сосны корейской были высажены из расчета 10 тыс. растений на 1 га с размещением рядов через 1,5 м и деревьев в ряду через 0,7 м. Делянки имеют размер около 30 м на 180 м. Перед закладкой опытов почву распахивали, т.е. почва опытных участков является антропогенно-трансформированной.

Таблица 1

Некоторые показатели роста и развития деревьев сосны корейской  
(среднее ± стандартное отклонение)

Показатель	Делянка 1	Делянка 2
Высота, м	9,9 ± 1,4	9,7 ± 1,8
Диаметр ствола, см	13,2 ± 2,7	12,2 ± 2,2
Годовой прирост высоты, см	21,9 ± 2,9	21,7 ± 0,5
Диаметр кроны, м	3,3 ± 1,0	3,1 ± 0,1
Число побегов в мутовке, шт	9,7 ± 0,5	10,6 ± 0,6

**Отбор образцов почвы** проводили в конце сентября 2014 года из верхнего слоя толщиной 20 см (сразу под подстилкой, с максимальной густотой корней) на расстоянии 60 см от ряда, что

получалось в пределах подкороновой зоны (Weber, Bardgett, 2011). Один смешанный образец почвы составляли из шести индивидуальных почвенных монолитов, отобранных случайным образом по делянке. Ризосферную почву отбирали после осторожного встряхивания корней до 3 мм толщиной и сбора оставшейся на корнях почвы (Zhao et al., 2010).

**Химические анализы.** Содержание  $C_{орг}$  и  $C_{неорг}$  определяли путем оценки потери массы аликвоты почвенного образца при ступенчатом прокаливании (Wang et al., 2011): по потерям при прокаливании в течение 12 часов при 500 °С оценивали содержание  $C_{орг}$ , умножая на 0,58, а по потерям веса при последующем прокаливании в течение 12 часов при 800 °С оценивали содержание  $C_{неорг}$ . Суммированием  $C_{орг}$  и  $C_{неорг}$  получали  $C_{общ}$ .

Определение содержания общего азота в почве проводили по Кьельдалю; содержание подвижных форм питательных элементов ( $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $NH_4^+$ ,  $P_2O_5$ ), водорастворимого углерода ( $C_{вод}$ ) и pH ( $H_2O$ ) измеряли стандартными методами (Soil Sampling..., 2008). Все анализы выполняли в трехкратной повторности.

Содержание азота и углерода микробной биомассы определяли методом фумигации-экстракции (Brooks et al., 1985; Vance et al., 1987). Влажную почву фумигировали очищенным от этанола хлороформом  $CHCl_3$  в течение 24 ч. при 25°С. Навески контрольной и фумигированной почвы экстрагировали 0,5 М раствором  $K_2SO_4$  в соотношении почва : экстрагирующий раствор 1:4, суспензии фильтровали через очищенные от аммиака фильтры. Полученные экстракты анализировали на содержание общего азота и углерода по Кьельдалю и бихроматным сжиганием, соответственно. Содержание углерода микробальной биомассы ( $C_{мик}$ ) рассчитывали как разницу концентрации  $C_{орг}$  в экстрактах фумигированной и контрольной почвы, деленную на 0,35 (Vance et al., 1987), а содержание азота микробальной биомассы ( $N_{мик}$ ) рассчитывали как соответствующую разницу в концентрации  $N_{общ}$ , деленную на 0,54 (Brooks et al., 1985).

Базальное дыхание почвы ( $CO_2$ ) определяли путем измерения выделения  $CO_2$  почвой после стабилизации и без каких-либо добавок (Pell et al., 2006). Субстрат-индуцированное дыхание определяли путем измерения выделения  $CO_2$  после добавления глюкозо-минеральной (СИДг) или гистидин-минеральной (СИДгис) смеси (800 мкг С на 1 г сухой почвы). По соотношению базального и субстрат-индуцированного дыхания рассчитывали дыхательный коэффициент ( $R_g$  и  $R_{гис}$ , соответственно) (Vlagodatskaya, Kuzyakov, 2013), а по соотношению базального дыхания и биомассы микроорганизмов оценивали метаболический коэффициент ( $Q_{мет}$ ; Insam, Haselwandter, 1989).

Все значения рассчитаны на абсолютно-сухую почву и представлены в табл.2.

**Таблица 2**

Некоторые химические и микробиологические свойства бурозёма элювиированного под сосной корейской (среднее ± стандартное отклонение)

Свойство	Почва			
	Валовая	Ризосферная	Делянка № 1	Делянка № 2
pH	6,04 ± 0,00	6,11 ± 0,04	6,09±0,07	6,06±0,03
$C_{орг}$ *, %	7,5 ± 3,4	10,4 ± 1,0	10,5±0,9	7,3±3,2
$C_{неорг}$ , %	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,1
$N_{орг}$ , %	0,42 ± 0,07	0,49 ± 0,14	0,53±0,09	0,38±0,02
$(C/N)_{орг}$	17,5 ± 5,1	21,7 ± 4,2	19,9 ± 1,6	19,3 ± 7,7
$NO_3^-$ , мг N·кг <sup>-1</sup> почвы	9,1 ± 1,7	4,7 ± 0,1	7,6±3,9	6,3±2,3
$NH_4^+$ , мг N·кг <sup>-1</sup> почвы	1,1 ± 0,6 <b>a*</b>	2,9 ± 0,7 <b>b</b>	1,5±1,2	2,5±1,3
Подвижный $P_2O_5$ , мг·кг <sup>-1</sup> почвы	0,3 ± 0,0 <b>a</b>	0,7 ± 0,1 <b>b</b>	0,5±0,2	0,5±0,3
$C_{мик}$ , мкг С · г <sup>-1</sup> почвы	1417 ± 492 <b>a</b>	2537 ± 506 <b>b</b>	2330 ± 798 <b>b</b>	1624 ± 784 <b>a</b>
$C_{мик}/C_{орг}$	1,9 ± 0,2	2,3 ± 0,2	2,1±0,5	2,1±0,2
$N_{мик}$ , мкг N · г <sup>-1</sup> почвы	95 ± 37 <b>a</b>	274 ± 11 <b>b</b>	202±113	168±140
$N_{мик}/N_{орг}$	2,2 ± 0,5	5,8 ± 1,5	3,7±1,5	4,3±3,4
$C_{мик}/N_{мик}$	17,5 ± 0,7	10,7 ± 1,7	14,4±3,5	13,9±6,1
$CO_2$ , мкл · час <sup>-1</sup> · г <sup>-1</sup> почвы	4,0 ± 1,7	6,0 ± 0,4	4,2±2,1	5,7±0,8
СИД <sub>глю</sub> , мкл $CO_2$ · час <sup>-1</sup> · г <sup>-1</sup>	15,1 ± 0,1 <b>b</b>	14,1 ± 0,0 <b>a</b>	14,6 ± 0,7	14,5 ± 0,7
СИД <sub>гис</sub> , мкл $CO_2$ · час <sup>-1</sup> · г <sup>-1</sup>	6,0 ± 1,8	6,1 ± 1,5	6,0 ± 1,7	6,2 ± 1,6
$R_{глю}$	0,26 ± 0,11	0,43 ± 0,03	0,29 ± 0,16	0,40 ± 0,07
$R_{гис}$	0,64 ± 0,09	1,00 ± 0,32	0,68 ± 0,16	0,98 ± 0,38
$Q_{мет}$ , мкг С- $CO_2$ · мг $C_{мик}$ <sup>-1</sup> · час <sup>-1</sup>	3,2 ± 2,3	2,4 ± 0,6	1,8±0,3	3,9±1,4

\* Разные буквы в строках обозначают статистически значимое (на уровне  $P \leq 0,05$ ) различие между образцами.

**Экстракция ДНК из почвы.** ДНК экстрагировали из почвы с помощью набора DNA Spin Kit for Soil™ (MO Bio Laboratories, Inc USA) в соответствии с инструкцией производителя. Для лучшего механического разрушения образца использовали TissueLyser II (Qiagen) в течение 45 с при 5000 об/мин. Дополнительной очистки извлеченной ДНК не требовалось; качество ее выделения оценивали с помощью электрофореза в 1%-ном агарозном геле.

**Аmplификация и секвенирование генов 16S рРНК.** Экстрагированную из почв метагеномную ДНК использовали в качестве матрицы для амплификации вариабельного района (V3-V4) генов 16S рРНК с помощью праймеров 343F (5'-CTCCTACGGRSGCAGCAG-3') и 806R (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3') в сочетании с адаптерными последовательностями Illumina, а также баркодами на праймерах. Полимеразную цепную реакцию проводили в трех повторностях в объеме 50 мкл (Kirillova et al., 2016). Библиотеки секвенировали с помощью 600-cycle PE kit на секвенаторе MiSeq (Illumina, США) в ЦКП «Геномика» (ИХБФМ СО РАН, г.Новосибирск). Полученные последовательности амплифицированных фрагментов генов 16S рРНК размещены в открытом доступе на сайте <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/SRP152492>.

#### Биоинформатический анализ

Полученные парные последовательности анализировали с помощью UPARSE скриптов (Edgar, 2013), используя Usearch v.10.0.240 (Edgar, 2010). Биоинформатическая обработка включала перекрывание парных ридов, фильтрацию по качеству и длине, учет одинаковых последовательностей, отбрасывание синглетонов, удаление химер и объединение в операционные таксономические единицы (ОТЕ, в метагеномных исследованиях применяется в качестве синонима понятию вида) проводили на основе 97%-ного порога сходства ОТЕ с помощью алгоритма кластеризации UNOISE (Edgar, 2016a). Таксономическую принадлежность последовательностей ОТЕ определяли с помощью SINTAX (Edgar, 2016b).

Таксономическую структуру совокупности полученных таким образом последовательностей бактериального ансамбля оценивали по отношению числа последовательностей каждого таксона к общему числу последовательностей, выраженному в процентах. Термин «ансамбль» (английский эквивалент *assemblage*), в соответствии с предложением Фота и др. (Fauth et al., 1996), использован как обозначающий филогенетически родственные группы в пределах сообщества, т.е. совокупности разных видов, встречающихся в одном месте в одно время. Заметим, что этот термин все чаще используется в работах по метагеномике почв (Nesme J. et al., 2016).

**Статистическую обработку** данных проводили методами описательной статистики, анализа главных компонент, метрического многомерного шкалирования с помощью пакета Statistica v.13.3. Кривые разрефакции строили и индексы биоразнообразия рассчитывали с помощью статистического пакета PAST 3.19 (Hammer et al., 2001).

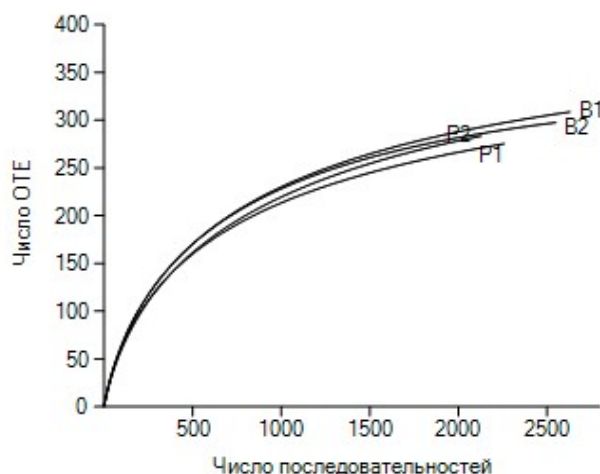
### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Таксономическое разнообразие бактериальных ансамблей.** После секвенирования гена 16S рРНК, фильтрации полученных последовательностей и удаления химер совокупность нуклеотидных последовательностей анализировали путем построения кривых разрефакции (рис.1). Число ОТЕ выходит на плато при увеличении числа последовательностей, поэтому сравнивать разнообразие бактериальных ансамблей образцов вполне корректно (Hughes, Hellmann, 2005).

Из общего числа ОТЕ, выявленных в наших образцах, всего две ОТЕ принадлежали представителям *Archaea* (неидентифицированные до более низкого уровня *Thaumarchaeota*, представленные всего несколькими последовательностями). Это согласуется с данными других авторов о том, что в кислых лесных почвах с относительно высоким содержанием аммония, достаточным для функционирования аммоний-окисляющих бактерий, аммоний-окисляющие археи (к каковым относятся многие *Thaumarchaeota*) значительно менее обильны и активны (Žifčáková et al., 2016).

Имеющиеся опубликованные данные о биоразнообразии ансамблей почвенных бактерий под сосной корейской немногочисленны. Так, в смешанных лесах из сосны корейской и широколиственных пород (Wang et al., 2014) число типов бактерий, близко к числу, выявленному в изученных нами образцах (табл.3). Последнее в точности совпадает с числом типов бактерий, выявленных в среднем в почве одной лесной экосистемы в Юго-Восточной Азии (16,4; Ito et al., 2017), однако число ОТЕ в наших образцах было значительно меньше по сравнению с 1414 ОТЕ, выявленных в среднем на образец в цитируемой выше работе и некоторых других (Wei et al.,

2017). Это, вероятнее всего, связано с бóльшим разнообразием растительного сообщества (и, как следствие, количества и качества поступающего в почву растительного вещества) субтропических и тропических лесов по сравнению с моновидовыми искусственными лесными фитоценозами нашего исследования. По-видимому, и меньшая доля синглтонов в образцах бурозёма элювиированного также связана с меньшим химическим разнообразием фитомассы.



**Рисунок 1.** Зависимость числа ОТЕ от общего числа последовательностей фрагментов 16S рДНК, амплифицированных по матрице метагеномной ДНК, экстрагированной из бурозёма элювиированного под сосной корейской. Обозначения: 1, 2 – делянки, В – валовая и Р – ризосферная почва.

**Таблица 3**

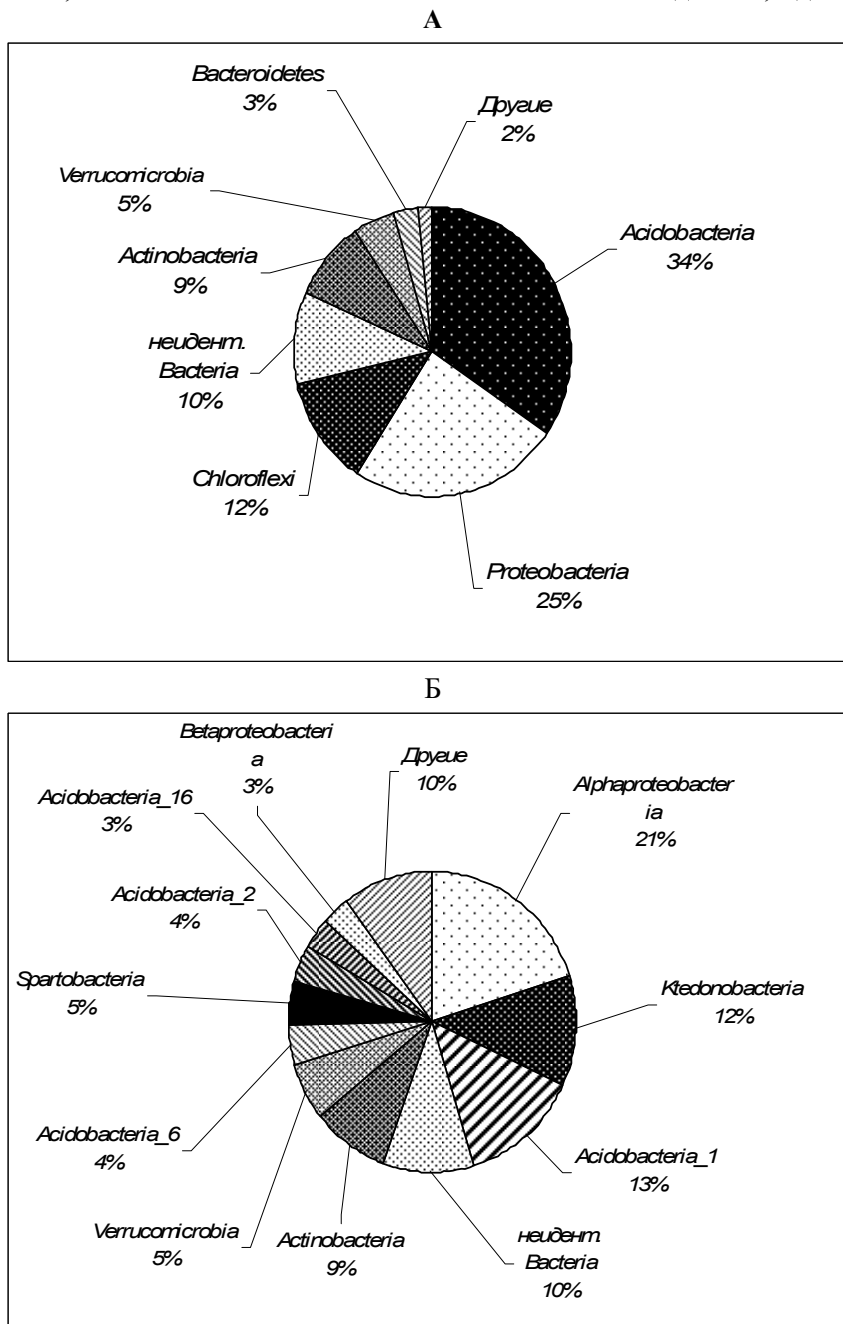
Таксономический состав ОТЕ, выделенных из образцов бурозёма элювиированного под сосной корейской

Таксон	Все ОТЕ	Доминантные ОТЕ
Надцарство ( <i>Bacteria, Archaea</i> )	2	1
Тип	16	7
Класс	36	11
Порядок	44	16
Семейство	47	19
Род	45	20
ОТЕ	400	42

Более трети всех последовательностей бактериальных ансамблей в изученных образцах бурозёма элювиированного приходилось на долю представителей типа *Acidobacteria*; представители типа *Proteobacteria* составляли четверть; далее по уровню относительного обилия шли типы *Chloroflexi* и *Actinobacteria* (рис.2, А). Такая таксономическая структура согласуется со структурой совокупности нуклеотидных последовательностей в изученных нами образцах почвы другого типа (серой лесной, *Phaeozem*) под сосной корейской (Naumova et al., 2015), а также в почвах других типов под другими видами сосны (Du et al., 2015; Kaiser et al., 2016; Zhou et al., 2017) или под другими лесообразующими породами, как смешанными с сосной корейской (Wang et al., 2014), так и нет (de Araujo et al., 2017; Lladó et al., 2017). Так, в подзолистой почве хвойного леса в Альпах почве *Acidobacteria* составляли до 40% (Siles, Margesin, 2017), а под дубовым лесом умеренного пояса доминирование *Acidobacteria* было еще выше (40-50%; López-Mondéjar et al., 2015), так же, как и в почве под буковым и еловым лесами (Nacke et al., 2016). В почвах тропических лесов Юго-Восточной Азии и под лесом умеренного пояса в Японии доля *Acidobacteria* составляла 32,3% (Miyashita et al., 2013), т.е. практически совпадала с таковой в наших образцах (34%). Выявленное нами значительное относительное обилие *Proteobacteria* также совпадает с их обилием в почвах тропических лесов (23%, Ito et al., 2017). Таким образом, сильное доминирование *Acidobacteria* еще раз подтверждает представление о том, что *Acidobacteria* является самым широко распространенным и обильным на планете типом бактерий (Kielak et al.,

2016), а совместное доминирование *Acidobacteria* и *Proteobacteria* позволяет с большой долей уверенности предположить наличие экологических связей между ними.

Заметим, что довольно большая доля бактериальных последовательностей (10%, т.е. превышающая вклад каждого из типов *Actinobacteria*, *Verucomicrobia* и *Bacteroidetes*), не была идентифицирована даже до типового уровня. Аналогичная картина, как правило, наблюдается и в других исследованиях. Это связано как с принципиальной невозможностью охватить все разнообразие прокариот на планете, так и с техническими аспектами пополнения базы данных, в данном случае RDP.



**Рисунок 2.** Таксономическая структура бактериальных ансамблей в образцах бурозёма элювиированного под сосной корейской (оцененная по вкладу таксон-специфичных 16S рДНК последовательностей в общее число последовательностей): А – на уровне типа, Б – на уровне класса. Обозначения: Неидент.*Bacteria* - последовательности, относящиеся к царству *Bacteria*, но не идентифицированные даже до уровня типа.

Сравнение относительного обилия класс-специфичных последовательностей показало, что среди *Acidobacteria* сильно лидировали представители группы 1 и 6, совместно составляя 50% от обилия представителей этого типа (рис.2, Б). Это несколько отличается от распределения *Acidobacteria* по классам в бактериальных ансамблях почв тропических лесов, где на втором месте были

представители группы 2 (Miyashita, 2015). Все известные культивируемые представители *Acidobacteria* являются гетеротрофами, при этом представители группы 1, являющейся наиболее изученной в физиологическом плане, как полагают, могут использовать разнообразные углеродные субстраты (Keilak et al., 2016). Есть данные о том, что представители группы 1 могут использовать в качестве углеродного субстрата ксилан (Pankratov et al., 2008; Eichorst et al., 2011), т.е. участвовать в разложении стенок растительных клеток. Что касается группы 6, то про физиологические и экологические особенности ее представителей информации практически нет (Kielak et al., 2010; Siles, Margesin, 2017), хотя группа 6 доминировала среди *Acidobacteria* в почве смешанного альпийского леса (Siles, Margesin, 2017). Поскольку классы *Acidobacteria*, как полагают, могут быть специфичными для почв разных экосистем (Catao et al., 2014), можно предположить наличие определенных связей между некоторыми представителями группы 6 и сосной корейской, однако более детальные экологические предположения выдвинуть трудно в связи с недостатком информации.

Подавляющее число *Proteobacteria* было представлено классом *Alphaproteobacteria* (рис.2,Б), что также совпадает с данными других авторов для лесных экосистем (Miyashita, 2015). Весь тип *Chloroflexi* был представлен одним классом *Ktedonobacteria*.

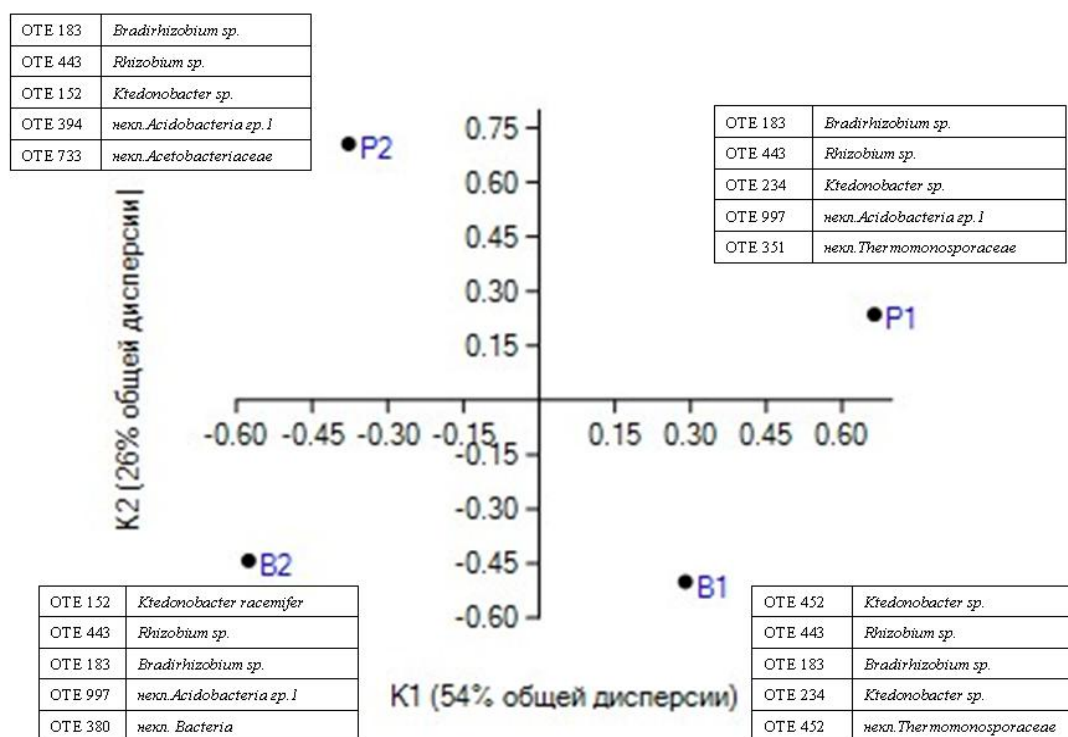
Число доминантных ОТЕ, т.е. тех, которые вносят  $\geq 1\%$  в общее число последовательностей, в среднем составило  $26 \pm 2$  ОТЕ на образец. При этом вся совокупность доминантов насчитывала 42 ОТЕ, из которых только 2 были идентифицированы до вида (*Ktedonobacter racemifer* и *Acidocella aluminidurans*). Первые пять доминантов составляли 19-26% от общего числа последовательностей в ансамблях, при этом две ОТЕ, относящиеся к порядку *Rhizobiales* (класс *Alphaproteobacteria* типа *Proteobacteria*), т.е. азотфиксирующим бактериям, с 4-5% от общего числа последовательностей, во всех образцах были среди первых трех доминантов (рис.3). Сходная ситуация, т.е. доминирование несимбиотических азотфиксаторов, была выявлена в почвах хвойных экосистем всех климатических зон Северной Америки (VanInsberghe et al., 2015). Среди наших доминантов также были ОТЕ, представляющие порядок *Ktedonobacterales* (класс *Ktedonobacteria* типа *Chloroflexi*), однако в почвенных образцах разных делянок это были разные ОТЕ. Расположение образцов почвы в плоскости первых двух главных координат, полученных в результате метрического многомерного шкалирования матрицы данных с относительным обилием всех ОТЕ для каждого образца, представлено на рис.3: все 4 образца расположены в разных квадрантах, при этом дисперсия между делянками, т.е. по первой главной компоненте, в два раза превышает дисперсию между валовой и ризосферной почвой (т.е. по второй главной компоненте). Можно предположить, что хотя бы частично такое положение обусловлено большим варьированием почвенных микроагрегатов (почвенных частиц размером  $< 250$  мкм) при отборе навесок (250 мг) валовой почвы на экстракцию ДНК (Angst et al., 2016), что может приводить к большему варьированию между образцами, так как большее биоразнообразие наблюдается именно в микроагрегатах (Vach et al., 2018).

Индексы биоразнообразия бактериальных ансамблей. Сравнительный анализ различных показателей оценки разнообразия ансамблей последовательностей фрагментов генов 16S рДНК в почвенных образцах не выявил отличий ни между делянками, ни между валовой и ризосферной почвой (табл.4). Это не удивительно, если учесть, что основным растительным материалом, поступающим в почву с момента начала опыта является фитомасса сосны, и валовая почва включает в себя и ризосферную. В целом по всем показателям биоразнообразия создается впечатление о тенденции к несколько большему доминированию, и, соответственно, меньшей выравненности и разнообразию в образцах ризосферной почвы, хотя под влиянием специфических корневых выделений и корневого опада можно было бы ожидать большей выраженности доминирования, поскольку внесение в почву даже такого универсального субстрата, как глюкоза, меняет структуру бактериального сообщества (Falcini et al., 2003). Индексы разнообразия бактериальных ансамблей, рассчитанные по нашим данным, в ряде случаев близки к имеющимся в литературе для бактериальных ансамблей почв лесных экосистем (Fierer, Jackson, 2006; Siles, Margesin, 2017), а в некоторых случаях существенно ниже (Wei et al., 2017). Отметим, что расчет такого рода индексов в настоящее время претерпевает ренессанс не только как способ компактного выражения информации о микробных ансамблях и обусловленного им удобства этих индексов при сравнении больших массивов метагеномных данных, но и для включения в различного рода экологические модели, в частности, динамики органического вещества почвы (Louis et al., 2016), так как почвенные микроорганизмы являются основными агентами его трансформации.

Таблица 4

Индексы  $\alpha$ -биоразнообразия (среднее  $\pm$  стандартное отклонение) бактериальных ансамблей в образцах бурозёма элювированного под сосной корейской

Индекс	Почва		Делянка	
	Валовая	Ризосферная	№ 1	№ 2
Число ОТЕ	304 $\pm$ 8	280 $\pm$ 6	293 $\pm$ 23	291 $\pm$ 10
Доминирование	0,01 $\pm$ 0,00	0,02 $\pm$ 0,01	0,01 $\pm$ 0,00	0,02 $\pm$ 0,01
Симпсона	0,99 $\pm$ 0,00	0,98 $\pm$ 0,01	0,99 $\pm$ 0,00	0,98 $\pm$ 0,01
Шеннона	4,9 $\pm$ 0,0	4,7 $\pm$ 0,1	4,9 $\pm$ 0,1	4,8 $\pm$ 0,1
Выравненность	0,4 $\pm$ 0,0	0,4 $\pm$ 0,0	0,4 $\pm$ 0,0	0,4 $\pm$ 0,0
Бриллуэна	4,7 $\pm$ 0,0	4,5 $\pm$ 0,1	4,7 $\pm$ 0,1	4,6 $\pm$ 0,2
Менхиника	5,9 $\pm$ 0,1	6,0 $\pm$ 0,3	5,9 $\pm$ 0,2	6,0 $\pm$ 0,2
Маргалефа	38 $\pm$ 1	36 $\pm$ 1	37 $\pm$ 2	37 $\pm$ 1
Равномерность	0,86 $\pm$ 0,00	0,84 $\pm$ 0,02	0,86 $\pm$ 0,00	0,84 $\pm$ 0,02
Фишера	89 $\pm$ 2	85 $\pm$ 4	86 $\pm$ 6	88 $\pm$ 0
Бергера-Паркера	0,06 $\pm$ 0,02	0,08 $\pm$ 0,05	0,05 $\pm$ 0,00	0,09 $\pm$ 0,03
Као-1	350 $\pm$ 20	340 $\pm$ 4	350 $\pm$ 19	339 $\pm$ 5

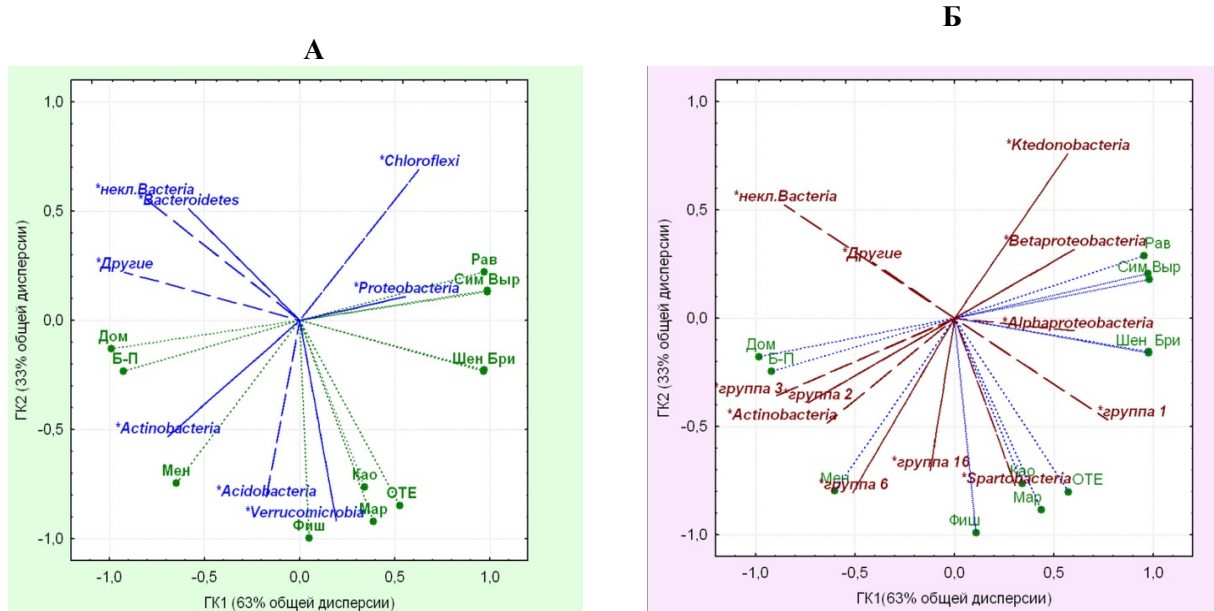


**Рисунок 3.** Расположение образцов почвы в плоскости первых двух главных координат, полученных при метрическом многомерном шкалировании матрицы данных по относительному обилию каждой выявленной ОТЕ в ансамблях валовой (В) и ризосферной (Р) бурозёма элювированного двух делянок длительного полевого опыта с сосной корейской. В таблицах приведены первые пять доминантных ОТЕ в каждом образце.

Взаимосвязь индексов биоразнообразия, рассчитанных по числу последовательностей каждой ОТЕ, с относительным обилием основных типов бактерий представлена расположением этих показателей в плоскости первых двух главных компонент, совместно отвечающих за практически всю дисперсию совокупности этих 12 индексов (рис.4, А). Ожидается, что индексы сгруппировались по преимущественному отражению 1) доминирования, 2) равномерности и 3) «видового» богатства (число ОТЕ, Као-1, Маргалефа), при этом ГК1 была связана с балансом между выравненностью и доминированием, а ГК2 была в основном определена индексами, в большей степени зависящими от общего числа ОТЕ, т.е. «видового» богатства. С последними



индексами было в значительной степени связано представительство типов *Acidobacteria* и *Verucomicrobia*; *Proteobacteria* определяли в основном показатели, связанные с выровненностью и равномерностью распределения последовательностей по разным ОТЕ, а индексы доминирования находились в одной полуплоскости с *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, другими (минорными) типами и неклассифицированными бактериями. Если провести такой же анализ, но использовать в качестве вспомогательных переменных классы, то в структуре взаимосвязей доминантные классы четче распределяются по индексам (рис.4, Б). Так, связь *Alphaproteobacteria* с индексами Шеннона и Бриллюна свидетельствует о вкладе ОТЕ этого класса в общее видовое богатство и структуру, а *Betaproteobacteria*, скорее всего, в значительной степени определяют равномерность структуры изученных ансамблей. Близость расположения индексов доминирования и групп 2, 3 *Acidobacteria*, а также *Actinobacteria*, может отражать их реакцию на наличие в образце определенных углеродных субстратов, которые они способны утилизировать, т.е. расти и развиваться, что приводит к повышению их относительного обилия в совокупности последовательностей, т.е. к изменению структуры доминирования. Связь группы 6 типа *Acidobacteria* с индексом Менхиника, а *Spartobacteria* с индексами, отражающими общее видовое богатство, может свидетельствовать о том, что изменении числа их ОТЕ и обилия последовательностей в ансамблях разных почвенных образцов вносит основной вклад в дисперсию соответствующих индексов  $\alpha$ -разнообразия.



**Рисунок 4.** Расположение индексов биоразнообразия бактериальных ансамблей (переменные анализа) и относительного обилия тип- (А) и класс (Б)-специфичных последовательностей (вспомогательные переменные) в плоскости первых двух главных компонент. Индексы: Дом – доминирования, Б-П – Бергер-Паркера, Рав – равномерность, Сим – Симпсона (1- Дом), Выр – выравненность, Шен – Шеннона, Бри – Бриллюна, ОТЕ – число операционных таксономических единиц, Као – Као-1, Мар – Маргалефа, Фиш –  $\alpha$ -Фишера, Мен – Менхиника. Группы 1, 2, 3, 6, 16 – классы типа *Acidobacteria*.

Что касается  $\beta$ -разнообразия, то индекс Харрисона, рассчитанный по ОТЕ, составлял 0,18 при сравнении ансамблей последовательностей валовой почвы с разных делянок, и 0,15-0,16 при сравнении валовой и ризосферной почвы в пределах одной делянки, что согласуется с приведенной выше структурой межгрупповой дисперсии по результатам многомерного шкалирования. Повторим, что такое соотношение  $\beta$ -биоразнообразия разных ансамблей в данном случае не удивительно, учитывая, что ризосферная почва является частью валовой почвы, а экспериментальный фитоценоз является моновидовым, т.е. подавляющее количество растительного материала поступает в почву от сосны корейской.

**Таксономическое разнообразие бактериальных ансамблей (на уровне типа и класса) и свойства почвы.** Чтобы выявить взаимосвязь бактериальных таксонов с основными почвенными свойствами, мы провели анализ данных по относительному обилию таксон-специфичных

последовательностей методом главных компонент (рис.5): относительное обилие таксон-специфичных последовательностей использовали как основные переменные анализа, а величины биомассы и активности микроорганизмов и почвенно-химические свойства – как вспомогательные.

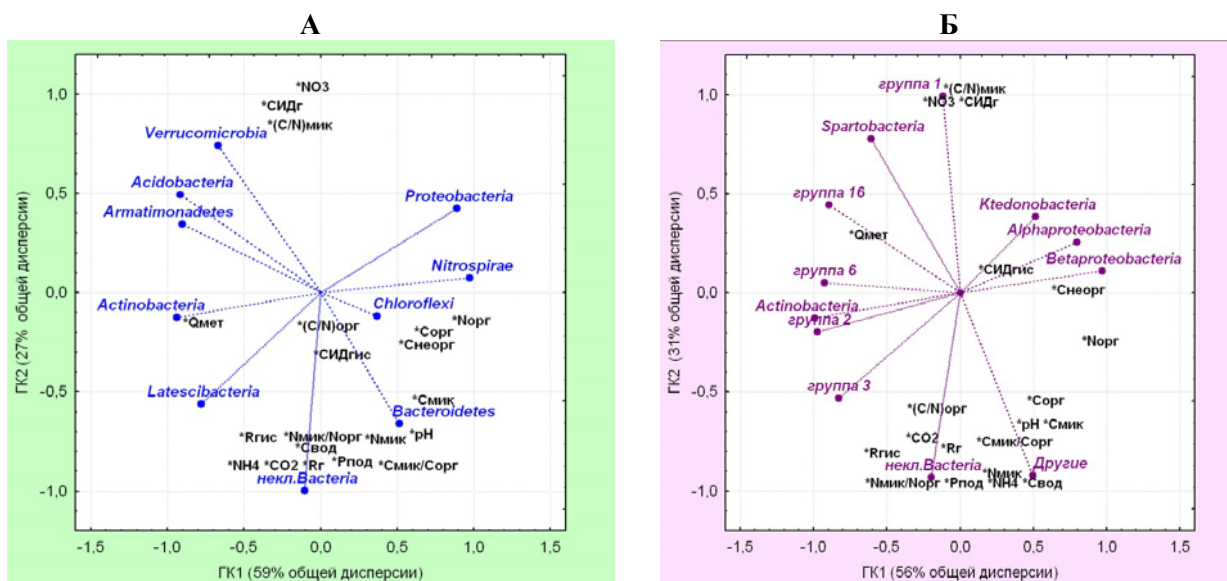
На уровне типов с содержанием органического вещества почвы было положительно связано относительное обилие представителей *Proteobacteria*, *Chloroflexi* и *Bacteroidetes*, в то время как относительное обилие *Actinobacteria*, *Acidobacteria* и *Verucomicrobia* находилось в противоположной зависимости (рис.5, А). Это согласуется с данными других авторов, в частности, о том, что *Acidobacteria* более обильны в местообитаниях с низкой доступностью углеродных субстратов (Fierer et al., 2007). При этом эти типы по второй главной компоненте лежат в полуплоскости, противоположной той, где лежат такие показатели, как выделение  $\text{CO}_2$  из почвы, содержание аммонийного азота, водорастворимого углерода и подвижного фосфора, респираторными коэффициентами и вкладом микробиальной массы в органическое вещество почвы, т.е. показателями, характеризующими подвижные формы элементов и баланс их минерализации из органического вещества почвы и иммобилизации микробиальной массой. С этими показателями ближе всего расположено обилие неклассифицированных представителей *Bacteria*: создается впечатление, что в нее входят минорные и редкие представители, которые могут быстро реагировать на изменение обстановки в плане доступности субстратов.

Как мы и ожидали, биомасса почвенных микроорганизмов оказалась значительно выше в почве ризосферы по сравнению с валовой почвой: так, содержание  $\text{C}_{\text{мик}}$  и  $\text{N}_{\text{мик}}$  в ризосфере было в 1,8 и 2,9 раза выше, соответственно (табл.2), отражая повышенное поступление легкоутилизируемых углеродных субстратов, какими являются корневые выделения. В целом по образцам биомасса микроорганизмов тесно коррелировала с относительным обилием представителей типа *Bacteroidetes* (рис. 5, А). По-видимому, представители этого типа формируют существенную часть биомассы микроорганизмов почвы, что косвенно подтверждается имеющимися данными об уменьшении их обилия при уменьшении биомассы, как, например, при переходе от целинных к пахотным почвам (Wolińska et al., 2017). Биомасса почвенных микроорганизмов представляет собой основной фонд подвижных питательных элементов в почве (Jenkinson, Ladd, 1981), содержание и стехиометрия которых являются важными показателями плодородия экосистемы (Li et al., 2016). Относительно большая концентрация азота микробиальной массой в ризосферной почве (табл.2) отражает ее более активное участие в обеспечении сосен азотом, что согласуется с существенно (в 2,6 раза) большим вкладом микробиального азота в азот органического вещества почвы и структурой бактериальных ансамблей с несколько повышенным обилием представителей *Rhizobiales* (среднее и стандартное отклонение  $11,5 \pm 1,0\%$  и  $11,1 \pm 1,0\%$  в ризосферной и валовой почве, соответственно). Заметим, что азотфиксирующая активность в ризосфере может быть повышена гораздо более значительно, чем число фрагментов генов 16S рРНК.

Что касается выделения  $\text{CO}_2$  почвой, то без добавления углеродного субстрата этот показатель не различался между валовой и ризосферной почвой, а с добавлением глюкозы повышался сильнее в валовой почве (табл.2). Однако респираторные коэффициенты с обоими субстратами и метаболический коэффициенты статистически значимо не различались между валовой и ризосферной почвой, как и между делянками (табл.2). Респираторный коэффициент с гистидином был выше, чем с глюкозой. Это говорит о том, что часть почвенного микробного комплекса, способная утилизировать гистидин, т.е. более сложный и менее универсальный субстрат по сравнению с глюкозой, более инерционна и медленнее поддается индукции субстратом.

Метаболический коэффициент биомассы микробного сообщества (т.е. соотношение выделения  $\text{CO}_2$  почвой и углерода биомассы) коррелировал с обилием *Actinobacteria*, являющимися, как отмечено выше, деструкторами органического материала.

Примечательно, что в пределах очень узкого варьирования рН в образцах (табл.2), выявились типы, положительно (*Bacteroidetes*) и отрицательно (*Acidobacteria*, *Verucomicrobia* и *Armatimonadetes*) связанные с этим показателем (рис.5,А).



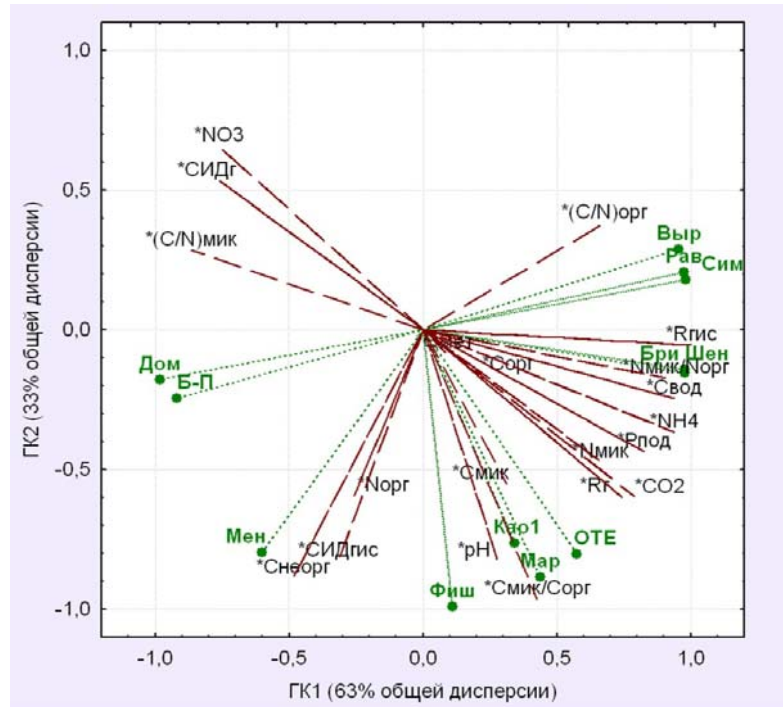
**Рисунок 5.** Расположение типов (А) и классов (Б) бактерий в пространстве первых двух главных компонент: переменные анализа – относительное обилие таксонов, вспомогательные переменные – почвенные свойства (\*). Некл. *Bacteria* – бактерии, неидентифицированные до уровня типа. Почвенные свойства:  $C_{\text{мик}}$ ,  $N_{\text{мик}}$  – содержание углерода и азота биомассы микроорганизмов в почве;  $C_{\text{орг}}$ ,  $N_{\text{орг}}$  – содержание углерода и азота органического вещества почвы;  $C_{\text{вод}}$  – содержание водорастворимого углерода;  $CO_2$  – базальное дыхание почвы; СИДг, СИДгис – субстрат-индуцированное дыхание почвы (глюкозой и гистицином, соответственно); Rг, Rгис – респираторные коэффициенты с глюкозой и гистицином, соответственно;  $NH_4$ ,  $NO_3$  – содержание обменных форм, Rпод – содержание подвижной формы. Группы 1, 2, 3, 6, 16 – классы типа *Acidobacteria*.

На уровне классов обилие представителей группы 3 *Acidobacteria* было тесно связано с минерализацией почвенного раствора, представителей группы 16 – с метаболическим коэффициентом биомассы, а представителей группы 1 – с соотношением C/N биомассы, содержанием нитратного азота и индуцированным глюкозой выделением  $CO_2$ . Нитратный азот может использоваться некоторыми бактериями этого класса *Acidobacteria* в качестве источника азота (Männistö et al., 2012). Есть данные о том, что представители группы 1 могут использовать в качестве углеродного субстрата ксилан (Pankratov et al., 2008; Eichorst et al., 2011, 2018), т.е. участвовать в разложении стенок растительных клеток. Положительная связь между обилием группы 1 *Acidobacteria* и СИДг наряду с отрицательной связью с соответствующим респираторным коэффициентом (рис.5) свидетельствует о том, что многие представители этой группы находятся в почве в активном состоянии, утилизируя низкомолекулярные углеродные субстраты. Примечательно, что дыхание, индуцированное гистицином, т.е. гетероциклической аминокислотой, лежит в одном направлении с *Alphaproteobacteria*, представители которых являются азотфиксаторами и основными доминантами в изученных образцах бурозема элювирированного.

Обилие последовательностей, представляющих *Betaproteobacteria* и *Alphaproteobacteria*, было связано с содержанием азота органического вещества в почве (рис.5, Б). Поскольку среди них много азотфиксаторов, то этим таксонам следует уделить более пристальное внимание при изучении процессов и компонентов трансформации азотных соединений в почве под сосной корейской при ее интродукции в другие условия в частности и в почве лесных экосистем в целом.

Взаимосвязь индексов биоразнообразия с почвенными свойствами представлена на рис.6. Так, индексы равномерности положительно связаны с соотношением C/N в органическом веществе почвы: по-видимому, трудно разлагаемые соединения требуют участия более разнообразной совокупности бактерий с более широким спектром биохимических возможностей. Неожиданной - с учетом очень незначительного варьирования между образцами - представляется положительная связь рН с богатством ОТЕ бактериальных ансамблей, что подтверждает важность рН в формировании почвенного биоразнообразия даже в пределах очень узкого градиента этого показателя. Заслуживает внимания впервые выявленная положительная корреляция вклада

углерода биомассы микроорганизмов в органический углерод почвы с индексами, отражающими богатство ОТЕ (рис.5): это дополняет значимость и подтверждает корректность использования соотношения  $C_{\text{мик}}/C_{\text{орг}}$  как показателя качества почвы (Bünemann et al., 2018). Наиболее широко используемый индекс Шеннона, отражающий как видовое богатство, так и структуру сообщества, тесно коррелирует с вкладом азота биомассы микроорганизмов в органический азот почвы (рис.6). Это подчеркивает, с одной стороны, первостепенную важность азотного цикла для функционирования лесных экосистем, и, с другой стороны, потенциал включения этого индекса Шеннона (или Бриллиуна) в модели азотного цикла в этих экосистемах.



**Рисунок 6.** Расположение индексов биоразнообразия бактериальных ансамблей (переменные анализа) и почвенных свойств (вспомогательные переменные) в плоскости первых двух главных компонент. Индексы: Дом – доминирования, Б-П – Бергер-Паркера, Рав – равномерность, Сим – Симпсона (1- Дом), Выр – выравненность, Шен – Шеннона, Бри – Бриллиуна, ОТЕ – число операционных таксономических единиц, Као – Као-1, Мар – Маргалефа, Фиш –  $\alpha$ -Фишера, Мен – Менхиника. Почвенные свойства:  $C_{\text{мик}}$ ,  $N_{\text{мик}}$  – содержание углерода и азота биомассы микроорганизмов в почве;  $C_{\text{орг}}$ ,  $N_{\text{орг}}$  – содержание углерода и азота органического вещества почвы;  $C_{\text{вод}}$  – содержание водорастворимого углерода;  $CO_2$  – базальное дыхание почвы; СИДг, СИДгис – субстрат-индуцированное дыхание почвы (глюкозой и гистицином, соответственно); Rг, Rгис – респираторные коэффициенты с глюкозой и гистицином, соответственно;  $NH_4$ ,  $NO_3$  – содержание обменных форм,  $R_{\text{под}}$  – содержание подвижной формы.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В условиях моновидового фитоценоза с сосной корейской основными доминантами бактериальных ансамблей валовой и ризосферной части бурозёма элювиированного на уровне типа являются *Acidobacteria* и *Proteobacteria*. На уровне родов в число основных доминантов входят *Rhizobium sp.* и *Bradirhizobium sp.*, что свидетельствует об особой важности азотфиксации для роста и развития этого высокопродуктивного вида сосны. Впервые выявленная положительная связь видового разнообразия ансамблей почвенных бактерий с содержанием микробиального углерода в органическом веществе почвы важна для расширения диапазона значимости этого показателя как стандартного показателя качества почвы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Выводцев Н.В., Сомов Е.В., Тютрин С.А., Кобояси Р. Биоэкологические и морфометрические характеристики кедровых лесов Хабаровского края // *Лесная таксация и лесоустройство*. 2012. Т.2. №40. С. 27-34.
2. Ирошников А. И. Географические культуры и плантации хвойных в Сибири. *Новосибирск, 1977. С. 104-110.*
3. *Классификация и диагностика почв России* / Составители: Шишов Л.Л., Тонконогов В.Д., Лебедева И.И., Герасимова М.И. Смоленск: Ойкумена, 2004. 342 с.
4. Кузнецова Г. В. Рост, состояние и развитие кедровых сосен в географических культурах на юге Красноярского края // *Хвойные бореальной зоны*. 2010. Т. XXVII. № 1-2. С. 102-107.
5. Наумова Н.Б., Макарикова Р.П., Кузнецова Г. В. Биомасса и активность почвенных микроорганизмов под разными видами и климатипами кедровых сосен // *Агрэкоинфо*. 2014. № 3. № статьи 4.
6. *Полевой определитель почв*. Москва: Почвенный институт им.В.В. Докучаева, 2008. 182 с.
7. Попов А.Г. Первичная интродукция некоторых видов 5-хвойных сосен на юг лесной зоны Западной Сибири // *Хвойные бореальной зоны*. 2010. Т. XXVII. № 1-2. С. 169 -174.
8. Angst G., Kögel-Knabner I., Kirfel K., Hertel D., Mueller C.W. Spatial distribution and chemical composition of soil organic matter fractions in rhizosphere and non-rhizosphere soil under European beech (*Fagus sylvatica* L.) // *Geoderma*. 2016. V. 264. Part A, P.179-187. doi:10.1016/j.geoderma.2015.10.016.
9. de Araujo A.S., Bezerra W.M., Dos Santos V.M., Rocha S.M., Carvalho N.D., de Lyra M.D., Figueiredo M.D., de Almeida Lopes Á.C., Melo V.M. Distinct bacterial communities across a gradient of vegetation from a preserved Brazilian Cerrado // *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2017. V. 110. Iss.4. P.457-469. doi: 10.1007/S10482-016-0815-1.
10. Augusto L., De Schrijver A., Vesterdal L., Smolander A., Prescott C., Ranger J. Influences of evergreen gymnosperm and deciduous angiosperm tree species on the functioning of temperate and boreal forests // *Biological Reviews* 2015.V. 90. Iss.2. P.444–466. doi: 10.1111/brv.12119
11. Bach E.M., Williams R.J., Hargreaves S.K., Yang F., Hofmockel K.S. Greatest soil microbial diversity found in micro-habitats // *Soil Biol Biochem*. 2018. V.118. P. 217-226. doi:10.1016/j.soilbio.2017.12.018.
12. Baldrian P. Forest microbiome: diversity, complexity and dynamics // *FEMS Microbiology Rev*. 2017. V. 41. Iss.2. P.109–130. doi: 10.1093/femsre/fuw040.
13. Blagodatskaya E., Kuzyakov Y. Active microorganisms in soil: Critical review of estimation criteria and approaches // *Soil Biol. Biochem*. 2013. V.67. P.192-211. doi: 10.1016/J.SOILBIO.2013.08.024.
14. Brookes P.C., Landman A., Pruden G., Jenkinson D.S. Chloroform fumigation and the release of soil-nitrogen - A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil // *Soil Biol. Biochem*. 1985. V.17. Iss. 6. P.837-842. doi:10.1016/0038-0717(85)90144-0.
15. Bünemann E.K., Bongiorno G., Bai Z., Creamer R.E., De Deyn G., de Goede R., Fleskens L., Geissen V., Kuiper T.W., Mäder P., Pulleman M. Sukkel W., van Groenigen J.W., Brussaard L. Soil quality – A critical review // *Soil Biol. Biochem*. 2018. V. 120. P.105-125. doi:10.1016/j.soilbio.2018.01.030.
16. Catão E.C. P., Lopes F. A. C., Araújo J. F., et al. Soil Acidobacterial 16S rRNA Gene Sequences Reveal Subgroup Level Differences between Savanna-Like Cerrado and Atlantic Forest Brazilian Biomes // *International Journal of Microbiology*. 2014. V. 2014. Article ID 156341, 12 pages. doi:10.1155/2014/156341.
17. Coleman D.C. Through a ped darkly – an ecological assessment of root soil-microbial-faunal interactions // *Ecological Interactions in the Soil: Plants, Microbes and Animals*. Oxford: Blackwells, 1985. P.1-21.
18. Du Z., Riveros-Iregui D.A., Jones R.T., et al. Landscape position influences microbial composition and function via redistribution of soil water across a watershed // *Applied and Environmental Microbiology*. 2015. V.81. Iss. 24. P.8457-8468. doi:10.1128/AEM.02643-15.
19. Edgar R.C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST // *Bioinformatics*. 2010. V.26. Iss.19. P. 2460-2461. doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTQ461.
20. Edgar R.C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads // *Nat Methods*. 2013. V.10. Iss.10. P. 996–998. doi: 10.1038/NMETH.2604.
21. Edgar R.C. UNOISE2: Improved error-correction for Illumina 16S and ITS amplicon reads // *bioRxiv*. 2016a.. doi:10.1101/081257
22. Edgar R. C. SINTAX, a Simple Non-Bayesian Taxonomy Classifier for 16S and ITS Sequences // *bioRxiv*. 2016b. doi: 10.1101/074161.
23. Eichorst S. A., Kuske C. R., Schmidt T. M. Influence of plant polymers on the distribution and cultivation of bacteria in the phylum *Acidobacteria* // *Appl. Environ. Microbiol*. 2011. V.77. Iss. 2. P. 586–596. doi: 10.1128/AEM.01080-10.
24. Eichorst S.A., Trojan D., Roux S., Herbold C., Rattei T., Woebken D. Genomic insights into the *Acidobacteria* reveal strategies for their success in terrestrial environments // *Environmental Microbiology*. 2018. V.20. Iss.3. P.1041-1063. doi:10.1111/1462-2920.14043.
25. Fierer N., Bradford M. A., Jackson R. B. Toward an ecological classification of soil bacteria // *Ecology*. 2007. V. 88. P.1354–1364. doi:10.1890/05-1839.

26. Falchini L., Naumova N., Kuikman P.J., Bloem J., Nannipieri P. CO<sub>2</sub> evolution and denaturing gradient gel electrophoresis profiles of bacterial communities in soil following addition of low molecular weight substrates to simulate root exudation // *Soil Biol. Biochem.* 2003. V. 35. P.775-782. doi:10.1016/S0038-0717(03)00105-6.
27. FAO. FAO Global Forest Resources Assessment-2015. Country Report. Russian Federation. 2015.
28. Fauth E., Bernardo J., Camara M., Resetarits Jr. W.J., Van Buskirk J., McCollum S.A. Simplifying the Jargon of community ecology: a conceptual approach // *The American Naturalist.* 1996. V.147. Iss.2. P.282-286.
29. Hammer O., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis // *Palaeontologia Electronica.* 2001. V.4. Iss.1. 9 pages.
30. Hughes J.B., Hellmann J.J. The application of rarefaction techniques to molecular inventories of microbial diversity // *Methods in Enzymology.* 2005. V. 397. P.292-308. doi: 10.1016/S0076-6879(05)97017-1.
31. Insam H., Hasehwandter K. Metabolic quotient of the soil microflora in relation to plant succession // *Oecologia.* 1989. V. 79. Iss.2. 174-178. doi: 10.1007/BF00388474.
32. IUSS Working Group. WRB, World Reference Base for Soil Resources. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. Rome: FAO, 2014.
33. Ito N., Iwanaga H., Charles S., Diway B., Sabang J., Chong L., Nanami S., Kamiya K., Lum S., Siregar U.J., Harada K., Miyashita N.T. Geographical variation in soil bacterial community structure in tropical forests in Southeast Asia and temperate forests in Japan based on pyrosequencing analysis of 16S rRNA // *Genes Genet Syst.* 2017. V. 92. Iss.1. P.1-20. doi: 10.1266/GGS.16-00013.
34. Jenkinson D. S., Ladd J. N. Microbial Biomass in Soil: Measurement and Turnover // *Soil Biochemistry.* 1981. V. 5. P. 415-471.
35. Kielak A.M., Barreto C.C., Kowalchuk G.A., van Veen J.A., Kuramae E.E. The Ecology of *Acidobacteria*: Moving beyond Genes and Genomes // *Front Microbiol.* 2016 V. 7. Article N°744. doi:10.3389/fmicb.2016.00744.
36. Kielak A. M., van Veen J.A., Kowalchuk G.A. Comparative analysis of acidobacterial genomic fragments from terrestrial and aquatic metagenomic libraries, with emphasis on acidobacteria subdivision 6 // *Appl. Environ. Microbiol.* 2010. V. 76. Iss. 20. P. 6769-6777. doi: 10.1128/AEM.00343-10.
37. Kirillova I.V., Argant J., Lapteva E.G., Korona O.M., J. van der Plicht., Zinovyev E.V., Kotov A.A., Chernova O.F., Fadeeva E.O., Baturina O.A., Kabilov M.R., Shidlovskiy F.K., Zanina O.G. The diet and environment of mammoths in North-East Russia reconstructed from the contents of their feces // *Quaternary International.* 2016. V. 406. Part B. P. 147-161. doi:10.1016/j.quaint.2015.11.002.
38. Li Y., Wu J., Shen J., Liu S., Wang C., Chen D., Huang T., Zhang J. Soil microbial C:N ratio is a robust indicator of soil productivity for paddy fields // *Scientific Reports.* 2016. V. 6. Article N°35266. doi:10.1038/SREP35266.
39. Lladó S., López-Mondéjar R., Baldrian, P. Forest soil bacteria: diversity, involvement in ecosystem processes, and response to global change // *Microbiol. and Mol. Biology Rev.* 2017. V.81. Iss.2. e00063-16. doi: 10.1128/MMBR.00063-16.
40. López-Mondéjar R., Voříšková J., Větrovský T., Baldrian P. The bacterial community inhabiting temperate deciduous forests is vertically stratified and undergoes seasonal dynamics // *Soil Biol. Biochem.* 2015. V.87. P.43-50. doi:10.1016/j.soilbio.2015.04.008.
41. Männistö M. K., Rawat S., Starovoytov V., Haggblom M. M. *Granulicella arctica* sp. nov., *Granulicella mallensis* sp. nov., *Granulicella tundricola* sp. nov. and *Granulicella sapmiensis* sp. nov., novel acidobacteria from tundra soil // *Int. J.Syst. EV. Microbiol.* 2012. V.62. P. 2097-2106. doi:10.1099/ijs.0.031864-0.
42. Miyashita N. T. Contrasting soil bacterial community structure between the phyla *Acidobacteria* and *Proteobacteria* in tropical Southeast Asian and temperate Japanese forests // *Genes & Genetic Systems.* 2015. V. 90, Iss. 2. P. 61-77. doi:10.1266/ggs.90.61
43. Miyashita N.T., Iwanaga H., Charles S., Diway B., Sabang J., Chong L. Soil bacterial community structure in five tropical forests in Malaysia and one temperate forest in Japan revealed by pyrosequencing analyses of 16S rRNA gene sequence variation // *Genes & Genetic Systems.* 2013. V.88. Iss. 2. P.93-103.
44. Nacke H., Goldmann K., Schöning I., Pfeiffer B., Kaiser K., Castillo-Villamizar G.s A., Schruppf M., Buscot F., Daniel R., Wubet T. Fine spatial scale variation of soil microbial communities under European Beech and Norway spruce // *Front. Microbiol.* 2016. V.22. Iss.7. Article N°2067. doi:10.3389/fmicb.2016.02067.
45. Naumova N.B., Kuznetsova G.V., Alikina T.Y., Kabilov M.R. Bacterial 16S DNA diversity in the rhizosphere soil of two pine species // *Biomics.* 2015. V. 7. P.127-136.
46. Nesme J., Achouak W., Agathos S.N. et al. Back to the Future of Soil Metagenomics // *Frontiers in Microbiology.* 2016. V. 7. Article N°73. doi: 10.3389/fmicb.2016.00073.
47. Pankratov T. A., Serkebaeva Y. M., Kulichevskaya I. S., Liesack W., Dedysh S. N. Substrate-induced growth and isolation of *Acidobacteria* from acidic Sphagnum peat // *ISME J.* 2008. V.2. Iss. 5. P. 551-560. doi:10.1038/ismej.2008.7
48. Pell M., Stenstrom L., Granhall U. Soil respiration // *Microbiological methods for Assessing Soil Quality.* Wallingford: CABI International, 2005. p.117-126.
49. Ricotta C. Of beta diversity, variance, evenness, and dissimilarity // *Ecology and Evolution.* 2017. V. 7. Iss.13. P. 4835-4843. doi:10.1002/ece3.2980.

50. Siles J.A., Margesin R. Abundance and diversity of bacterial, archaeal, and fungal communities along an altitudinal gradient in alpine forest soils: What are the driving factors? // *Micro.b Ecol.* 2016. V.72. Iss.1. P.207–220. doi:10.1007/s00248-016-0748-2.
51. Siles, J. A., Margesin, R. Seasonal soil microbial responses are limited to changes in functionality at two Alpine forest sites differing in altitude and vegetation // *Scientific Reports.* 2017. V.7, Iss. 1. Article № 2204. doi: 10.1038/S41598-017-02363-2.
52. Soil Sampling and methods of Analysis. 2nd edition. Boca Raton: CRC Press; 2008. 1224 p.
53. Stavi I, Bel G, Zaady E Soil functions and ecosystem services in conventional, conservation, and integrated agricultural systems. A review // *Agronomy for sustainable development.* 2016. V.36. P.32. doi:10.1007/s13593-016-0368-8.
54. Urbanová M., Šnajdr J., Baldrian P. Composition of fungal and bacterial communities in forest litter and soil is largely determined by dominant trees // *Soil Biol. Biochem.* 2015. V.84. P.53–64. doi: 10.1016/J.SOILBIO.2015.02.011
55. Vance E.D., Brookes P.C., Jenkinson D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass-C // *Soil Biol. Biochem.* 1987. V. 19. Iss. 6. P.703-707. doi:10.1016/0038-0717(87)90052-6.
56. VanInsberghe D., Maas K. R., Cardenas E., Strachan C. R., Hallam S. J., Mohn W. W. Non-symbiotic Bradyrhizobium ecotypes dominate North American forest soils // *The ISME journal.* 2015. V.9. Iss. 11. P. 2435-2441. doi: 10.1038/ismej.2015.54.
57. Wang Q., Li Y., Wang Y. Optimizing the weight loss-on-ignition methodology to quantify organic and carbonate carbon of sediments from diverse sources // *Environ. Monit. Assess.* 2011. V.174. Iss.1-4. P.241-257. doi: 10.1007/S10661-010-1454-Z.
58. Wang N., Wann M., Li S. et al. Effects of variation in precipitation on the distribution of soil bacterial diversity in the primitive Korean pine and broadleaved forests // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2014. V.30. Iss. 11. P. 2975-2984. doi:10.1007/s11274-014-1725-x.
59. Weber P., Bardgett R.D. Influence of single trees on spatial and temporal patterns of belowground properties in native pine forest // *Soil Biol. Biochem.* 2011. V. 43. Iss.6. P.1372-1378. doi: 10.1016/J.SOILBIO.2011.03.015.
60. Wei Z., Hu X., Li X., Zhang Y., Jiang L., Li J., Guan Z., Cai Y., Liao X. The rhizospheric microbial community structure and diversity of deciduous and evergreen forests in Taihu Lake area, China // *PLoS ONE.* 2017. V.12. Iss.4, e0174411. doi: 10.1371/journal.pone.0174411.
61. Wei H., Peng C., Yang B., Song H., Li Q., Jiang L., Wei G., Wang K., Wang H., Liu S., et al. Contrasting Soil Bacterial Community, Diversity, and Function in Two Forests in China // *Front. Microbiol.* 2018. V.9. Article №1693. doi: 10.3389/FMICB.2018.01693.
62. Wolińska A., Kuźniar A., Zielenkiewicz U., Izak D., Szafranek-Nakonieczna A., Banach A., Błaszczuk M. Bacteroidetes as a sensitive biological indicator of agricultural soil usage revealed by a culture-independent approach // *Applied Soil Ecology.* 2017. V.119. P. 128-137. doi:10.1016/j.apsoil.2017.06.009.
63. Zhao Q., Zeng D.H., Fan Z.-P. Nitrogen and phosphorus transformations in the rhizospheres of three tree species in a nutrient-poor sandy soil // *Applied Soil Ecology.* 2010. V. 46. Iss. 3. P.341-346. doi: 10.1016/J.APSOIL.2010.10.007.
64. Žifčáková L., Větrovský T., Howe A. et al. Microbial activity in forest soil reflects the changes in ecosystem properties between summer and winter // *Environ. Microbiol.* 2016. V.18. Iss. 1. P.288–301. doi: 10.1111/1462-2920.13026

Поступила в редакцию 16.10.2018

Принята 03.12.2018

Опубликована 04.12.2018

#### Сведения об авторах:

**Наумова Наталья Борисовна** – к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории агрохимии ФГБУН Институт почвоведения и агрохимии СО РАН (Новосибирск, Россия), [naumova@issa-siberia.ru](mailto:naumova@issa-siberia.ru)

**Аликина Татьяна Юрьевна** – младший научный сотрудник ЦКП «Геномика» ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск, Россия), [alikina@niboch.nsc.ru](mailto:alikina@niboch.nsc.ru)

**Кузнецова Галина Васильевна** – к.б.н., старший научный сотрудник ФГБУН Института леса им. В.Н. Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН (Красноярск, Россия), [galva@ksn.krasn.ru](mailto:galva@ksn.krasn.ru)

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи



Статья доступна по лицензии [Creative Commons Attribution 4.0 License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

## BIODIVERSITY OF BACTERIAL ASSEMBLAGES IN THE HAPLIC CAMBISOL UNDER KOREAN PINE

© 2018 N.B.Naumova<sup>1</sup>, T.Y. Alikina<sup>2</sup>, G.V.Kuznetsova<sup>3</sup>

Address: <sup>1</sup>Institute of Soil Science and Agrochemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences Novosibirsk, Russia. E-mail: [naumova@issa-siberia.ru](mailto:naumova@issa-siberia.ru)

<sup>2</sup>Institute of Chemical Biology and Fundamental Chemistry SBRAS, Novosibirsk, Russia. E-mail: [alikhina@niboch.nsc.ru](mailto:alikhina@niboch.nsc.ru)

<sup>3</sup>Sukachev Institute of Forest KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia. E-mail: [galva@ksn.krasn.ru](mailto:galva@ksn.krasn.ru)

**The aim of the study** was to investigate genetic diversity of bacterial assemblages in a Burozem eluvial soil (Haplic Cambisol) and reveal their relationships with soil chemical and microbiological properties.

**Time and location of the study.** The Haplic Cambisol samples were collected from 0-20 cm layer (immediately below the litter) from adjacent plots with Korean pine of the long-term (40 years) field experiment in the Khabarovsk region (48°16' N, 135°02' E).

**Methodology.** Bulk and rhizosphere soil samples were collected, the latter by gentle shaking of 3mm-thick pine roots and collection of adhered soil. Some chemical (pH, organic C and N content, exchangeable nutrient) and microbiological (soil microbial biomass C and N content, soil basal and substrate-induced respiration) properties were determined. Soil metagenomic DNA was extracted and used as a matrix for amplification of the hypervariable V3-V4 regions of 16S rRNA genes with universal bacterial primers. The obtained amplicons were sequenced using Illumina MiSeq. The read data reported in this study were submitted to the GenBank under the SRA accession SRP152492, available online at <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/SRP152492>. The sequence reads were identified down to operational taxonomic units (OTUs) at the 97% similarity level. Then the matrix with OTU reads abundance was statistically analysed by principle components analysis, multidimensional scaling and ANOVA. Indices of  $\alpha$ - $\beta$ -biodiversity were also calculated.

**Main results.** In bacterial assemblages of the Haplic Cambisol under Korean pine, growing in its natural environment, overall 400 OTUs were identified, with just 42 OTUs being dominant, i.e. contributing  $\geq 1\%$  into the total number of sequences. The studied soil was dominated by Acidobacteria (34% of the total number of sequences), Proteobacteria (25%) and Actinobacteria (9%). The indices of species richness were determined mostly by the first dominant phylum, whereas the biodiversity indices related mostly to species evenness were determined by the second dominant phylum. The major classes were Alphaproteobacteria (21%), Acidobacteria group 1 (13%) and Ktedonobacteria (12%). Among the first 5 dominant OTUs two OTUs were present in all soil samples. They belonged to the Rhizobiales, i.e. nitrogen-fixing bacteria.

**Conclusion.** The species composition of bacterial assemblages in the Haplic Cambisol under Korean pine, growing in the artificial mono-species phytocenosis in its natural environment, was inventoried for the first time, providing the starting point for further research. Domination of nitrogen-fixing bacteria in soil under Korean pine indicates the importance of nitrogen fixation for supplying nitrogen for the growth and development of such a highly productive species as Korean pine. The revealed positive correlation between bacterial species (OTUs) richness and microbial biomass contribution into soil organic matter is very important for confirming the importance and broadening the interpretation of this parameter as a standard indicator of soil quality.

**Key words:** Korean pine; *Pinus koraeensis* Siebold et Zucc; brown forest podzolic soil; Haplic Cambisol; 16S rDNA; metagenomics; biodiversity; rhizosphere

**How to cite:** Naumova N.B., Alikina T.Y., Kuznetsova G.V. Biodiversity of bacterial assemblages in the Haplic Cambisol under Korean pine // *The Journal of Soils and Environment*. 2018. 1(3): 151 – 169. (in Russian with English abstract).

### REFERENCES

1. Vyvydtsev N.V., Somov E.V., Tyutrin S.A., Koboyashi R. Bioecological and morphometric characteristics of cedar pine forests in Khabarovsk krai, *Forest taxation and forest management*, 2012, V.2, Iss.40, P. 27-34. (in Russian)
2. Iroshnikov A. I. Geographical cultures and plantations of coniferous species in Siberia. Novosibirsk, 1977. PP. 104-110. (in Russian)
3. *Classification and diagnostics of soils in Russia* / Compilers: Shishov L.L., Tonkonogov V.D., Lebedeva I.I., Gerasimoiva M.I.. Smolensk: Oykumena Pubs., 2004. (in Russian)
4. Kuznetsova G.V. Growth, status and development of cedar pines in provenance experiments in the south of Krasnoyarsk region, *The coniferous of the boreal zone*, 2010, V. XXVII, Iss.1-2, p. 102-107. (in Russian).



5. [Naumova N., Makarikova R., Kuznetsova G. Biomass and activity of soil microorganisms under different pine species and climatypes, \*AgroEcoInfo\*, 2014, Iss. 3, Article No4. \(in Russian\).](#)
6. [Popov A.G. The initial introduction of some 5-needle pine species on the south forest part of Western Siberia, \*Conifers of the Boreal Area\*, 2010, V. 27, p.169-174.](#)
7. [Angst G., Kögel-Knabner I., Kirfel K., Hertel D., Mueller C.W. Spatial distribution and chemical composition of soil organic matter fractions in rhizosphere and non-rhizosphere soil under European beech \(\*Fagus sylvatica\* L.\), \*Geoderma\*, 2016, V. 264, Part A, p.179-187. doi:10.1016/j.geoderma.2015.10.016.](#)
8. [de Araujo A.S., Bezerra W.M., Dos Santos V.M., Rocha S.M., Carvalho N.D., de Lyra M.D., Figueiredo M.D., de Almeida Lopes Á.C., Melo V.M. Distinct bacterial communities across a gradient of vegetation from a preserved Brazilian Cerrado, \*Antonie, Van Leeuwenhoek\*, 2017, V. 110, Iss.4, p.457-469. doi: 10.1007/S10482-016-0815-1.](#)
9. [Augusto L., De Schrijver A., Vesterdal L., Smolander A., Prescott C., Ranger J. Influences of evergreen gymnosperm and deciduous angiosperm tree species on the functioning of temperate and boreal forests, \*Biological Reviews\*, 2015, V. 90, Iss. 2, p.444-466. doi: 10.1111/brv.12119](#)
10. [Bach E.M., Williams R.J., Hargreaves S.K., Yang F., Hofmockel K.S. Greatest soil microbial diversity found in micro-habitats, \*Soil Biol Biochem\*, 2018, V.118, p. 217-226. doi:10.1016/j.soilbio.2017.12.018.](#)
11. [Baldrian P. Forest microbiome: diversity, complexity and dynamics, \*FEMS Microbiology Rev.\*, 2017, V. 41. Iss.2, p.109-130. doi: 10.1093/femsre/fuw040.](#)
12. [Blagodatskaya E., Kuzakov Y. Active microorganisms in soil: Critical review of estimation criteria and approaches, \*Soil Biol. Biochem\*, 2013, V.67, p.192-211. doi: 10.1016/J.SOILBIO.2013.08.024.](#)
13. [Brookes P.C., Landman A., Pruden G., Jenkinson D.S. Chloroform fumigation and the release of soil-nitrogen - A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil, \*Soil Biol. Biochem\*, 1985, V. 17, Iss.6., p. 837-842. doi:10.1016/0038-0717\(85\)90144-0.](#)
14. [Bünemann E.K., Bongiorno G., Bai Z., Creamer R.E., De Deyn G., de Goede R., Flesskens L., Geissen V., Kuypers T.W., Mäder P., Pulleman M. Sukkel W., van Groenigen J.W., Brussaard L. Soil quality – A critical review, \*Soil Biol. Biochem\*, 2018, V. 120, p.105-125. doi:10.1016/j.soilbio.2018.01.030.](#)
15. [Catão E.C. P., Lopes F. A. C., Araújo J. F., et al., “Soil Acidobacterial 16S rRNA Gene Sequences Reveal Subgroup Level Differences between Savanna-Like Cerrado and Atlantic Forest Brazilian Biomes, \*International Journal of Microbiology\*, 2014, V. 2014, Article ID 156341, 12 pages. doi:10.1155/2014/156341.](#)
16. [Coleman D.C. Through a ped darkly – an ecological assessment of root soil-microbial-faunal interactions, \*Ecological Interactions in the Soil: Plants, Microbes and Animals\*. Oxford: Blackwells, 1985. p.1-21.](#)
17. [Du Z., Riveros-Iregui D.A., Jones R.T., et al. landscape position influences microbial composition and function via redistribution of soil water across a watershed, \*Applied and Environmental Microbiology\*, 2015, V.81, Iss. 24, p.8457-8468. doi:10.1128/AEM.02643-15.](#)
18. [Edgar R.C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST, \*Bioinformatics\*, 2010, V.26, Iss.19, p. 2460-2461. doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTQ461.](#)
19. [Edgar R.C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads, \*Nat Methods\*, 2013, V.10, Iss. 10, p. 996-998. doi: 10.1038/NMETH.2604.](#)
20. [Edgar R.C. UNOISE2: Improved error-correction for Illumina 16S and ITS amplicon reads, \*bioRxiv\*. 2016a. doi:10.1101/081257.](#)
21. [Edgar R.C. SINTAX, a Simple Non-Bayesian Taxonomy Classifier for 16S and ITS Sequences, \*bioRxiv\*. 2016b. doi:10.1101/074161.](#)
22. [Eichorst S. A., Kuske C. R., Schmidt T. M. Influence of plant polymers on the distribution and cultivation of bacteria in the phylum \*Acidobacteria\*, \*Appl. Environ. Microbiol.\*, 2011, V.77, Iss. 2, p. 586-596. doi: 10.1128/AEM.01080-10.](#)
23. [Eichorst S.A., Trojan D., Roux S., Herbold C., Rattei T., Woebken D. Genomic insights into the \*Acidobacteria\* reveal strategies for their success in terrestrial environments, \*Environmental Microbiology\*, 2018, V.20, Iss.3, p.1041-1063. DOI:10.1111/1462-2920.14043.](#)
24. [Fierer N., Bradford M. A., Jackson R. B. Toward an ecological classification of soil bacteria, \*Ecology\*. 2007, V.88, p.1354-1364. doi:10.1890/05-1839.](#)
25. [Falchini L., Naumova N., Kuikman P.J., Bloem J., Nannipieri P. CO<sub>2</sub> evolution and denaturing gradient gel electrophoresis profiles of bacterial communities in soil following addition of low molecular weight substrates to simulate root exudation, \*Soil Biol. Biochem.\*, 2003, V.35, p.775-782. doi:10.1016/S0038-0717\(03\)00105-6.](#)
26. [FAO. FAO Global Forest Resources Assessment-2015. Country Report. Russian Federation. 2015.](#)
27. [Fauth E., Bernardo J., Camara M., Reseraris Jr. W.J., Van Buskirk J., McCollum S.A. Simplifying the Jargon of Community Ecology: A Conceptual Approach, \*The American Naturalist\*, 1996, V.147, Iss.2, p.282-286.](#)
28. [Field guide for Russian soil. Moscow: Dokuchaev Soil Science Institute, 2008. 182 p. \(in Russian\)](#)
29. [Hammer O., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis, \*Palaeontologia Electronica\*, 2001, V.4, Iss.1, 9 pages.](#)
30. [Hughes J.B., Hellmann J.J. The Application of Rarefaction Techniques to Molecular Inventories of Microbial Diversity, \*Methods in Enzymology\*, 2005, V. 397, p.292-308. doi: 10.1016/S0076-6879\(05\)97017-1.](#)
31. [Insam H., Haselwandter K. Metabolic quotient of the soil microflora in relation to plant succession, \*Oecologia\*. 1989, V. 79, Iss. 2, p. 174-178. doi: 10.1007/BF00388474](#)

32. *IUSS Working Group*. WRB, World Reference Base for Soil Resources. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. Rome: FAO, 2014.
33. Ito N., Iwanaga H., Charles S., Diway B., Sabang J., Chong L., Nanami S., Kamiya K., Lum S., Siregar U.J., Harada K., Miyashita N.T. Geographical variation in soil bacterial community structure in tropical forests in Southeast Asia and temperate forests in Japan based on pyrosequencing analysis of 16S rRNA, *Genes Genet Syst.* 2017, V. 92, Iss.1, p.1-20. doi: [10.1266/GGS.16-00013](https://doi.org/10.1266/GGS.16-00013)
34. Jenkinson D. S., Ladd J. N. Microbial Biomass in Soil: Measurement and Turnover., *Soil Biochemistry*, 1981, V. 5, p. 415-471.
35. Kielak A.M., Barreto C.C., Kowalchuk G.A., van Veen J.A., Kuramae E.E. The Ecology of Acidobacteria: Moving beyond Genes and Genomes, *Front Microbiol.*, 2016, V.7, Article N°744. doi:[10.3389/fmicb.2016.00744](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00744).
36. Kielak A. M., van Veen J.A., Kowalchuk G.A. Comparative Analysis of acidobacterial genomic fragments from terrestrial and aquatic metagenomic libraries, with emphasis on acidobacteria subdivision 6, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2010, V.76, Iss.20, p. 6769-6777. doi: [10.1128/AEM.00343-10](https://doi.org/10.1128/AEM.00343-10).
37. Kirillova I.V., Argant J., Lapteva E.G., Korona O.M., J. van der Plicht., Zinovyyev E.V., Kotov A.A., Chernova O.F., Fadeeva E.O., Baturina O.A., Kabilov M.R., Shidlovskiy F.K., Zanina O.G. The diet and environment of mammoths in North-East Russia reconstructed from the contents of their feces, *Quaternary International*, 2016, V. 406., Part B, p. 147-161. doi:[10.1016/j.quaint.2015.11.002](https://doi.org/10.1016/j.quaint.2015.11.002).
38. Li Y., Wu J., Shen J., Liu S., Wang C., Chen D., Huang T., Zhang J. Soil microbial C:N ratio is a robust indicator of soil productivity for paddy fields, *Scientific Reports*. 2016. V. 6. Article N°35266. doi:[10.1038/SREP35266](https://doi.org/10.1038/SREP35266).
39. Lladó S., López-Mondéjar R., Baldrian, P. Forest soil bacteria: diversity, involvement in ecosystem processes, and response to global change, *Microbiol. and Mol. Biology Rev.*, 2017, V.81, Iss.2, e00063–16. doi: [10.1128/MMBR.00063-16](https://doi.org/10.1128/MMBR.00063-16).
40. López-Mondéjar R., Voříšková J., Větrovský T., Baldrian P. The bacterial community inhabiting temperate deciduous forests is vertically stratified and undergoes seasonal dynamics, *Soil Biol. Biochem.*, 2015, V.87, p.43–50. doi:[10.1016/j.soilbio.2015.04.008](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.04.008).
41. Männistö M. K., Rawat S., Starovoytov V., Haggblom M. M. *Granulicella arctica* sp. nov., *Granulicella mallensis* sp. nov., *Granulicella tundricola* sp. nov. and *Granulicella sapmiensis* sp. nov., novel acidobacteria from tundra soil, *Int. J. Syst. EV. Microbiol.*, 2012, V.62, p. 2097–2106. doi:[10.1099/ijs.0.031864-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.031864-0).
42. Miyashita N. T. Contrasting soil bacterial community structure between the phyla Acidobacteria and Proteobacteria in tropical Southeast Asian and temperate Japanese forests, *Genes & Genetic Systems*, 2015, V. 90, Iss. 2, p. 61-77. doi:[10.1266/ggs.90.61](https://doi.org/10.1266/ggs.90.61).
43. Miyashita N.T., Iwanaga H., Charles S., Diway B., Sabang J., Chong L. Soil bacterial community structure in five tropical forests in Malaysia and one temperate forest in Japan revealed by pyrosequencing analyses of 16S rRNA gene sequence variation, *Genes & Genetic Systems*, 2013, V.88, Iss. 2, p.93-103.
44. Nacke H., Goldmann K., Schöning I., Pfeiffer B., Kaiser K., Castillo-Villamizar G.s A., Schruppf M., Buscot F., Daniel R., Wubet T. Fine spatial scale variation of soil microbial communities under European Beech and Norway spruce, *Front. Microbiol.*, 2016, V.22, Iss.7, Article N°2067. doi:[10.3389/fmicb.2016.02067](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02067).
45. Naumova N.B., Kuznetsova G.V., Alikina T.Y., Kabilov M.R. Bacterial 16S DNA diversity in the rhizosphere soil of two pine species, *Biomics*, 2015, V.7, p.127-136.
46. Nesme J., Achouak W., Agathos S.N. et al. Back to the Future of Soil Metagenomics, *Frontiers in Microbiology*. 2016, V.7, Article N°73. doi:[10.3389/fmicb.2016.00073](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00073).
47. Pankratov T. A., Serkebaeva Y. M., Kulichevskaya I. S., Liesack W., Dedysh S. N. Substrate-induced growth and isolation of *Acidobacteria* from acidic Sphagnum peat, *ISME J.*, 2008, V.2, Iss.5, p. 551–560. doi:[10.1038/ismej.2008.7](https://doi.org/10.1038/ismej.2008.7)
48. Pell M., Stenstrom L., Granhall U. Soil respiration, *Microbiological methods for Assessing Soil Quality*. Wallingford:CABI International, 2005. p.117-126.
49. Ricotta C. Of beta diversity, variance, evenness, and dissimilarity, *Ecology and Evolution*, 2017, V.7, Iss.13, p. 4835–4843. doi:[10.1002/ece3.2980](https://doi.org/10.1002/ece3.2980)
50. Siles J.A., Margesin R. Abundance and diversity of bacterial, archaeal, and fungal communities along an altitudinal gradient in alpine forest soils: What are the driving factors?, *Microb. Ecol.*, 2016, V.72, Iss.1, p.207–220. doi:[10.1007/s00248-016-0748-2](https://doi.org/10.1007/s00248-016-0748-2).
51. Siles, J. A., Margesin, R. Seasonal soil microbial responses are limited to changes in functionality at two Alpine forest sites differing in altitude and vegetation, *Scientific Reports*, 2017, . V.7, Iss. 1, Article N° 2204. doi: [10.1038/S41598-017-02363-2](https://doi.org/10.1038/S41598-017-02363-2).
52. *Soil Sampling and methods of Analysis*. 2nd edition. Boca Raton: CRC Press; 2008. 1224 p.
53. Stavi I, Bel G, Zaady E. Soil functions and ecosystem services in conventional, conservation, and integrated agricultural systems. A review, *Agronomy for sustainable development*, 2016, V.36, p.32. doi:[10.1007/s13593-016-0368-8](https://doi.org/10.1007/s13593-016-0368-8).
54. Urbanová M., Šnajdr J., Baldrian P. Composition of fungal and bacterial communities in forest litter and soil is largely determined by dominant trees, *Soil Biol. Biochem.*, 2015, V.84, p.53–64. doi: [10.1016/J.SOILBIO.2015.02.011](https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2015.02.011)

55. Vance E.D., Brookes P.C., Jenkinson D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass-C, *Soil Biol. Biochem.*, 1987, V.19, Iss. 6, p.703-707. doi:10.1016/0038-0717(87)90052-6
56. VanInsberghe D., Maas K. R., Cardenas E., Strachan C. R., Hallam S. J., Mohn W. W. Non-symbiotic Bradyrhizobium ecotypes dominate North American forest soils, *The ISME journal*, 2015, V.9, Iss. 11, p. 2435-2441. doi: 10.1038/ismej.2015.54.
57. Wang Q., Li Y., Wang Y. Optimizing the weight loss-on-ignition methodology to quantify organic and carbonate carbon of sediments from diverse sources, *Environ. Monit. Assess.*, 2011, V.174, Iss. 1-4, p.241-257. doi: 10.1007/S10661-010-1454-Z.
58. Wang N., Wann M., Li S. et al. Effects of variation in precipitation on the distribution of soil bacterial diversity in the primitive Korean pine and broadleaved forests, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2014, V.30, Iss.11, p.2975-2984. doi:10.1007/s11274-014-1725-x.
59. Weber P., Bardgett R.D. Influence of single trees on spatial and temporal patterns of belowground properties in native pine forest, *Soil Biol. Biochem.*, 2011, V, 43, Iss.6, p.1372-1378. doi: 10.1016/J.SOILBIO.2011.03.015
60. Wei Z., Hu X., Li X., Zhang Y., Jiang L., Li J., Guan Z., Cai Y., Liao X. The rhizospheric microbial community structure and diversity of deciduous and evergreen forests in Taihu Lake area, China, *PLoS ONE*, 2017, V.12, Iss.4, e0174411. doi:10.1371/journal.pone.0174411.
61. Wei H., Peng C., Yang B., Song H., Li Q., Jiang L., Wei G., Wang K., Wang H., Liu S., et al. Contrasting soil bacterial community, diversity, and function in two forests in China, *Front.Microbiol.*, 2018, V.9, Article N°1693. doi: 10.3389/FMICB.2018.01693.
62. Wolińska A., Kuźniar A., Zielenkiewicz U., Izak D., Szafranek-Nakonieczna A., Banach A., Błaszczak M. Bacteroidetes as a sensitive biological indicator of agricultural soil usage revealed by a culture-independent approach, *Applied Soil Ecology*, 2017, V.119, p. 128-137. doi:10.1016/j.apsoil.2017.06.009.
63. Zhao Q., Zeng D.H., Fan Z.-P. Nitrogen and phosphorus transformations in the rhizospheres of three tree species in a nutrient-poor sandy soil, *Applied Soil Ecology*, 2010, V. 46, Iss. 3, p.341-346. doi: 10.1016/J.APSSOIL.2010.10.007.
64. Žižňáková L., Větrovský T., Howe A. et al. Microbial activity in forest soil reflects the changes in ecosystem properties between summer and winter, *Environ Microbiol.*, 2016, V.18, Iss.1, p.288–301. doi: 10.1111/1462-2920.13026

Received 16 October 2018

Accepted 03 December 2018

Published 04 December 2018

#### About the authors:

**Naumova Natalia** – Cand. of Biol. Sci., Leading Researcher in the Laboratory of Agrochemistry in the Institute of Soil Science and Agrochemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, Russia); [naumova@issa-siberia.ru](mailto:naumova@issa-siberia.ru)

**Alikina Tatiana** – Junior Researcher in the “Genomics” Core Facility, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS (Novosibirsk, Russia); [alikinga@niboch.nsc.ru](mailto:alikinga@niboch.nsc.ru)

**Kuznetsova Galina** – Cand. of Biol. Sci., Senior Researcher in the Sukachev Forest Institute, KSC SBRAS (Krasnoyarsk, Russia); [galva@ksn.krasn.ru](mailto:galva@ksn.krasn.ru)

*The authors read and approved the final manuscript*



The article are available under [Creative Commons Attribution 4.0 License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)