

УДК 631.46 : 634.1

DOI 10.30679/2219-5335-2021-1-67-203-225

**ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ  
МЕТОДОВ ПОЧВЕННОЙ  
МЕТАГЕНОМИКИ  
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАЧЕСТВА  
ПОЧВ САДОВЫХ ЦЕНОЗОВ**

Агафонова Виктория Александровна  
мл. научный сотрудник  
лаборатории экологии почв

Попова Валентина Петровна  
д-р с.-х. наук  
зав. НЦ агрохимии  
и почвоведения,  
зав. лабораторией экологии почв

*Федеральное государственное  
бюджетное научное учреждение  
«Северо-Кавказский федеральный  
научный центр садоводства,  
виноградарства, виноделия»,  
Краснодар, Россия*

В данной статье обсуждаются перспективы применения почвенной метагеномики для определения качества почв садовых ценозов. Качество почвы, наряду с ее плодородием, рассматривается как важнейшая характеристика любой почвенной экосистемы, особенно при усилении антропогенного воздействия. Развитие метагеномных исследований микроорганизмов почвы обусловлено тем, что они являются базисом для изучения экосистем, особенно сельскохозяйственного назначения. Появление новых инструментов анализа способствует изучению структурно-функциональной организации биоценозов микроорганизмов почвы. Важной особенностью метагеномных исследований является отсутствие необходимости в изоляции и культивировании микроорганизмов. Это позволяет провести более полный анализ структуры микробного сообщества почв, выявить особенности структуры ризосферной микрофлоры в зависимости от длительности выращивания многолетних растений в монокультуре

UDC 631.46 : 634.1

DOI 10.30679/2219-5335-2021-1-67-203-225

**PROSPECTS FOR USE  
THE SOIL METAGENOMICS  
METHODS TO DETERMINE  
THE SOIL QUALITY  
IN THE GARDEN CENOSES**

Agafonova Victoria Aleksandrovna  
Junior Research Associate  
of Soil Ecology Laboratory

Popova Valentina Petrovna  
Dr. Sci. Agr.  
Head of Agrochemistry  
and Soil science SC,  
Head of Soil Ecology Laboratory

*Federal State Budget  
Scientific Institution  
«North Caucasian Federal  
Scientific Center of Horticulture,  
Viticulture, Wine-making»,  
Krasnodar, Russia*

The prospects of soil metagenomics using to determine the soil quality of garden cenoses are discussed in this article. Soil quality, along with its fertility, is considered as the most important characteristic of any soil ecosystem, especially under intensification anthropogenic influence. The development of metagenomic studies of soil microorganisms is due to the fact that they are the basis for studying the ecosystems, especially for agricultural purposes. The emergence of new analysis tools contributes to the study of the structural and functional organization of soil microbial biocenoses. An important feature of metagenomic research is that there is no need for isolation and cultivation of microorganisms. This will make it possible to carry out a more complete analysis of the structure of the soil microbial community, to identify the features of the structure of the rhizosphere microflora depending on the duration of growing the perennial

и идентифицировать новые биоиндикаторы почвоутомления. В статье представлены необходимые подходы для полной структурно-функциональной оценки почвенного микробиома, обозначены цели и задачи метагеномного анализа.

Показано, что исследование метагеномного анализа почв даёт возможность перехода на новый системный уровень исследования биоразнообразия почвенных экосистем.

Этот переход ведёт к смене парадигмы, открывает путь к пониманию процессов, происходящих в почвах при интенсивном сельскохозяйственном использовании.

Имеющиеся наработки в области метагенома почв свидетельствуют о возможности использования этой информации как интегрального показателя качества почв садовых агроценозов и их функционирования, а также перспективности применения результатов исследований для дальнейшего совершенствования методов биологизации и экологизации сельскохозяйственного производства и плодоводства в частности.

*Ключевые слова:* ПОЧВЕННАЯ МЕТАГЕНОМИКА, КАЧЕСТВО ПОЧВ, МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ, БИОТА ПОЧВ, БИОЛОГИЗАЦИЯ ЗЕМЛЕДЕЛИЯ, САДОВЫЕ АГРОЦЕНОЗЫ, ПЛОДОРОДИЕ ПОЧВ

plants in a monoculture, and to identify new bioindicators of soil fatigue.

The necessary approaches for a complete structural and functional assessment of the soil microbiome are presented, and the goals and objectives of metagenomic analysis are outlined in the article. It is shown that the study of metagenomic analysis of soils makes it possible to move to a new system level of research on the biodiversity of soil ecosystems. This transition leads to a paradigm shift and opens the way to understand the processes that occur in the soils under intensive agricultural use. The available developments in the field of soil metagenome indicate the possibility of using this information as an integral indicator of soil quality in the garden agroecosystems and their functioning, as well as the prospects for use the research results to further improving the methods of biologization and ecologization of agricultural production and fruit growing in particular.

*Key words:* SOIL METAGENOMICS, SOIL QUALITY, RESEARCH METHODS, SOIL BIOTA, AGRICULTURAL BIOLOGIZATION, GARDEN AGROECOSYSTEMS, SOIL FERTILITY

**Введение.** Качество почвы – это её способность выполнять индикаторные функции, выявляя изменения в возможности производить оптимальное количество здоровой и питательной продукции и поддерживать экологическое равновесие в агроэкосистеме [1]. Для генеральной характеристики качества почвы традиционно выделяют её потенциальное плодородие и актуальную биопродуктивность [2]. Почва – сложная и структурированная экосистема, характеризующаяся очень высоким разнообразием [3, 4, 5]. По микробному составу почва является богатейшей средой обитания по сравнению с другими естественными средами. В одном грамме почвы может содержаться порядка 10 миллиардов микроорганизмов и тысячи различных видов [6, 7].

Почвенная микробиота ответственна за многие экологические функции почв. Разработка приоритетных основ биологизации земледелия невозможна без привлечения знаний наряду по агрохимии, почвоведению и по биологии почв. Данные по изучению биологических процессов в почве являются приоритетной основой земледелия. Группы почвенных микроорганизмов являются индикаторами влияния природных и антропогенных факторов экосистем, в том числе сельскохозяйственных [4].

На рубеже XX–XXI веков благодаря достижениям в микробиологии и молекулярной биологии стало возможным исследовать микробные сообщества во всём их природном многообразии. Этому способствовало развитие методов высокопроизводительного параллельного секвенирования (ВПС), которые позволяют работать с большими объёмами генетической информации [8, 9]. Появление новых инструментов анализа, в свою очередь, способствует изучению структурно-функциональной организации биоценозов микроорганизмов почвы. Развитие метагеномных исследований микроорганизмов почвы обусловлено тем, что они являются базисом для изучения экосистем, особенно сельскохозяйственного назначения [10-12].

Важной особенностью метагеномных исследований является отсутствие необходимости в изоляции и культивировании микроорганизмов, поскольку не все из них растут на микробиологических средах [13, 14]. Это позволит провести более полный анализ структуры микробного сообщества почв, выявить особенности структуры ризосферной микрофлоры в зависимости от длительности выращивания многолетних растений в монокультуре и идентифицировать новые биоиндикаторы почвоутомления. В садовых биоценозах проблемы почвоутомления в условиях современных интенсивных технологий возделывания плодовых и ягодных культур обозначились более остро, поэтому необходима разработка методологии оценки качества почв с использованием метагеномных исследований для создания методов сохранения и воспроизводства почвенного плодородия.

## ПОЧВЕННАЯ МЕТАГЕНОМИКА – НОВЫЙ СИСТЕМНЫЙ УРОВЕНЬ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ БИОЦЕНОЗОВ

Термин «метагеномика» предложен Гандельсманом в 1998 году для исследований и анализа коллективных геномов, полученных из образцов окружающей среды [15]. При этом коллекция генов, выделенных из субстрата, анализировалась бы подобно единичному гену. В связи со многими проблемами и ограничениями, особенно при исследовании сложных объектов (в том числе почв), под метагеномным подходом часто стали понимать «широкий спектр различных молекулярных методов получения и анализа генетической информации о микробном сообществе непосредственно из окружающей среды», в том числе при анализе отдельных генов, например 16S рРНК [11].

Историю исследования почвенного метагенома условно можно разделить на три этапа. Первый этап исследования носил преимущественно описательный характер. Благодаря первым работам в этой области было накоплено большое количество информации о таксономическом разнообразии микроорганизмов, открыты новые филумы бактерий и архей, состоящие только из некультивируемых организмов [16, 17]. На втором этапе учёные стали изучать взаимосвязь качества почв и её микробного разнообразия, изменение состава микробных сообществ в зависимости от какого-либо фактора среды, находили индикаторные виды микроорганизмов [7, 18, 19].

На данный момент мы вступаем в третий этап развития, связанный с изучением функции микробного сообщества почв [20-22]. Это, конечно же, не значит, что ответы на предыдущие вопросы найдены. Сегодня мы снова возвращаемся к необходимости системного взгляда на проблему формирования почвенного, в том числе ризосферного микробиома. Вследствие этого разработка системы оценки качества почв – активно формируемая тема исследований, где метагеномный анализ является одним из необходимых элементов [11, 23].

В мировой науке идеология междисциплинарного подхода к изучению функций и сервисов почв развивается довольно интенсивно [18, 24, 25]. Исследователи выделяют три подхода: метагеномный, определяющий всю генетическую информацию микробиома, анализ биомаркеров, позволяющий оценить и сравнить состав функционирующего микробиома, и анализ ферментативной активности, благодаря которому получают информацию об актуальной функциональности почв [26-30]. Именно поэтому наиболее полная структурно-функциональная оценка почвенного микробиома предполагает совокупное использование вышеперечисленных подходов (рис. 1).



Рис. 1. Необходимые подходы для полной структурно-функциональной оценки почвенного микробиома

Метагеномные исследования почв проводятся и в России. Это связано с традиционным приоритетом в исследовании почв, обусловленным их большим разнообразием и сельскохозяйственным значением. В Почвенном институте им В.В. Докучаева создана и постоянно пополняется коллекция почвен-

ных образцов для анализа микробиома. Разработана собственная методика получения высокоочищенных ДНК из почвы, освоены методики конструирования праймеров, благодаря которым можно проводить анализ 20 почвенных образцов одновременно, с выходом 7 около 3-3,5 тыс н.п. на один образец, ПЦР-анализа почвенной микробиоты с детекцией в реальном времени и таксономическим анализом сложных сообществ микроорганизмов [31].

Помимо Почвенного института им. В.В. Докучаева в исследованиях принимают участие ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, коллективы учёных из Агрофизического института А.Ф. Иоффе, НИИСХ Центрально-чернозёмной полосы им В.В. Докучаева, Белгородский НИИСХ, Курский НИИ АПП и лаборатория по оценке экономической деградации почв МГУ им. М.В. Ломоносова [32-38].

Изучением особенностей развития почвенной микробиоты на базе ФГБНУ СКФНЦСВВ (СКЗНИИСиВ) занимаются с 1999 года. Проведены исследования биологической активности почв садовых агроценозов Западного Предкавказья. Изучали активность почвенных ферментов в почвах садовых агроценозов различной структуры, интенсивность выделения  $\text{CO}_2$ , целлюлозолитическую активность, интенсивность накопления свободных аминокислот [29, 39, 40]. Выявлена взаимосвязь между активностью ферментов, микробиологическими показателями и уровнем почвенного плодородия [41]. Проводилась оценка экологического состояния садопригодных почв по активности почвенных ферментов [27], описаны методические особенности оценки плодородия почв по ферментативной активности в садовых агроценозах [28].

Как уже отмечалось выше, анализ ферментативной активности почв — один из определяющих элементов системы подходов для структурно-функциональной оценки почвенного микробиома и плодородия почв. Специального изучения почвенной метагеномики на базе института не проводилось. Метагеномный подход к исследованиям позволит наиболее полно изучить

микробиом садовых агроценозов для оценки качества и плодородия почв, выявить новые биоиндикаторы, разработать методы воспроизводства почвенного плодородия.

## ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ МЕТАГЕНОМНОГО АНАЛИЗА

Целью любого проекта по метагеномному секвенированию является характеристика микробного сообщества, установление видового состава и метаболических связей в нём [18]. Для этого необходимо определить:

- состав сообщества, то есть какие виды в нем присутствуют и в каком количестве, выявить доминирующие таксоны;
- генетический потенциал каждого члена сообщества;
- внутривидовую и внутривидовую гетерогенность генов.

Некоторые исследователи считают конечной целью полную реконструкцию геномов всех микроорганизмов в сообществе. Решение этих задач в большинстве случаев затруднено вследствие технических ограничений в выделении ДНК из всех микроорганизмов, а также в возможностях секвенирования и анализа его результатов [12]. Тем не менее, в сборке полных геномов, как правило, нет необходимости, так как зачастую информацию о видовом составе популяции можно получить из анализа отдельных генов [11].

В последнее время метагеномные исследования применяют для решения практических задач сельского хозяйства. Так как структура почвенного микробиома отражает специфику почвы и растительного сообщества, становится возможным определение агроэкологического статуса почв по данным метагеномного анализа. Выявление и анализ структуры почвенных сообществ прокариот могут быть использованы в качестве показателя почвенного плодородия, здоровья почв и устойчивости садовых ценозов.

Изучение воздействия агротехнологий на почвенный микробиом – важное направление исследований, необходимое для понимания как общей

зависимости микробиома от эдафических факторов, так и для решения практических задач, связанных с контролем биохимических процессов в сельскохозяйственных почвах. Существующие данные в области почвенной метагеномики указывают на перспективность применения достижений этого направления в области подходов адаптивно-ландшафтного земледелия и ландшафтного планирования в целом [31].

Следует отметить, что на сегодняшний день не исследованы в полном объёме и не определены индикаторы биологических компонентов плодородия и экологического состояния почв, которые нужны для оценки и мониторинга почвенных ресурсов, в частности садовых агроценозов. Метагеномика в данном случае является одним из перспективных направлений по выявлению показателей биоразнообразия, численности таксонов-индикаторов и сложности межвидовых связей [1].

## МЕТОДОЛОГИЯ МЕТАГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПОЧВ

Общая схема получения набора метагеномных данных, состоящая из нескольких элементов, представлена на рисунке 2.

Первым этапом является отбор проб. В зависимости от целей анализа выделяют несколько способов: отбор образцов из почвенного разреза и отбор с поверхности. В первом случае образцы отбирают из каждого горизонта по всему профилю почвы. С самых верхних слоёв (1–2 см) почву обычно не отбирают, так как здесь могут развиваться цианобактерии, зелёные водоросли и другие микроорганизмы, не характерные для гумусово-аккумулятивного горизонта почвы в целом. Для специальных метагеномных исследований почва отбирается и из верхних слоёв. К таким исследованиям относится изучение первичного почвообразовательного процесса или загрязнения почвы тяжёлыми металлами [11].



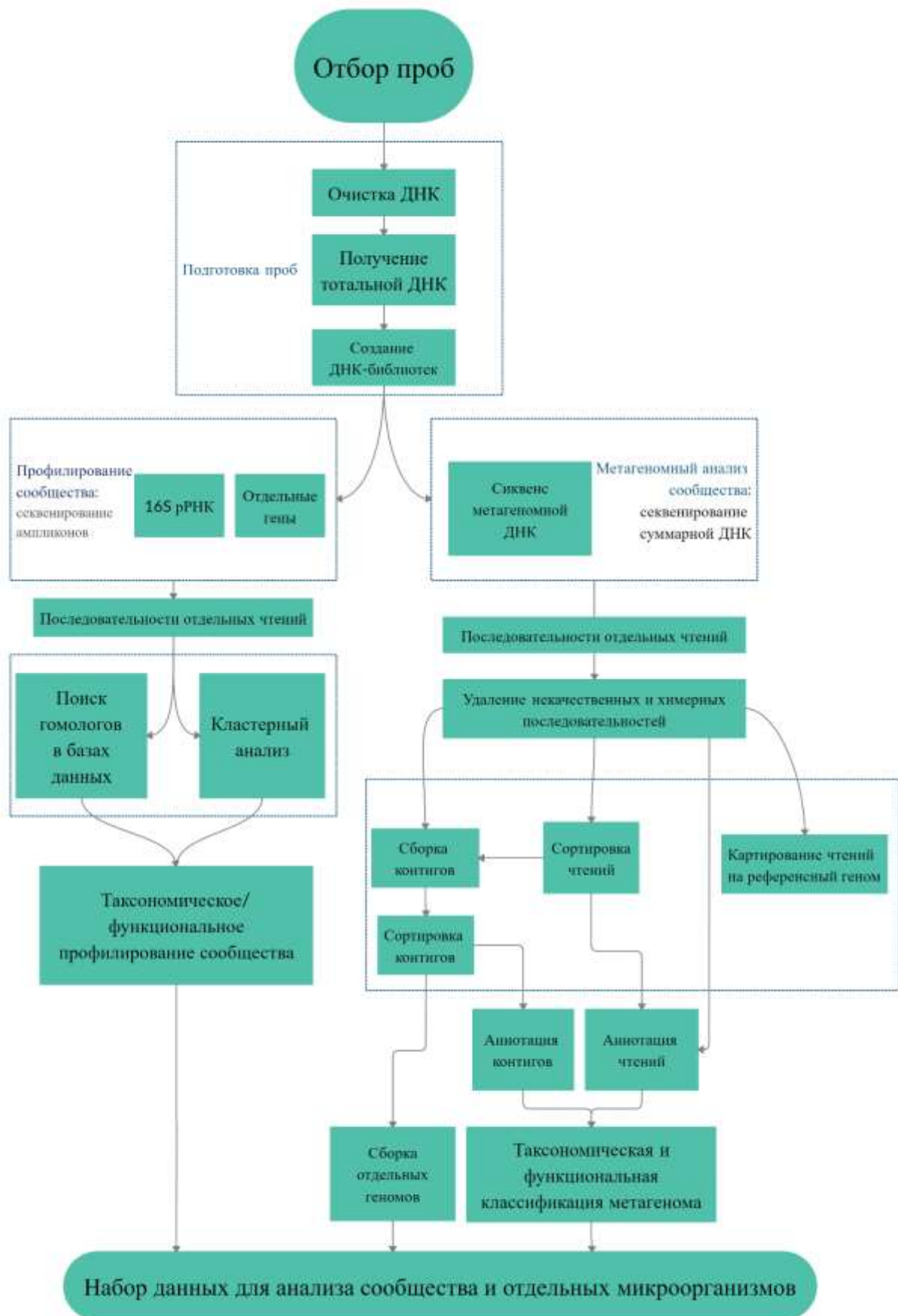


Рис. 2. Общая схема получения набора метабеномных данных по Н.В. Равину [12], дополненная В.А. Агафоновой

Следующий этап – выделение и очистка ДНК из полученных проб. Этап является критическим в связи с сильной адсорбцией клеток и ДНК к поверхности твёрдой фазы почвы [42]. Исследователь почвенного метабенома стоит перед выбором: использовать «мягкие» методы и при этом выделить недостаточно репрезентативную часть ДНК или же выбрать «грубые», но недостаточно специфичные методы.

Прямое выделение ДНК из почвы описано впервые Ограмом в 1987 году. Метод предполагает разрушение бактериальных клеточных стенок, что ведёт к высвобождению тотальной нуклеиновой кислоты из бактерий, которую затем отделяют от почвенной взвеси [43]. На сегодняшний день описанные действия имеют множество вариаций [44-46]. Вследствие такого способа очистки происходят большие потери ДНК, что делает данные менее достоверными и усложняет их анализ [5].

Выделение бактериальных клеток перед их разрушением описано Торсвиком и Гоксойром в 1978 году [47]. Метод состоит из следующих ключевых шагов: дисперсия почвенных частиц, отделение клеток от почвенных частиц путём центрифугирования, лизис полученных клеток, очистка ДНК. Каждый из шагов также имеет множество вариаций [5, 48, 49].

Как видно из схемы (см. рис. 2), в зависимости от целей и используемых методов в почвенной метагеномике принято два подхода: изучение ампликонов (преимущественно по гену 16S рРНК) для структурно-функционального профилирования сообщества или же секвенирование суммарной ДНК для сборки отдельных геномов, либо таксономической и функциональной классификации метабенома в целом. В первом случае используются специальные праймеры для определённых генов, во втором – изучается совокупная генетическая информация сообществ, предполагающая секвенирование фрагментированной ДНК, её последующая сборка и аннотация.

Для анализа микробного разнообразия, полученного в результате секвенирования библиотек гена 16S рРНК, чаще используется программа

QIIME [50]. Сначала удаляются некачественно прочитанные и химерные последовательности. Химеры представляют собой образующиеся в процессе амплификации рекомбинанты между двумя или более последовательностями [51]. Далее нуклеотидные последовательности объединяют в группы – операционные таксономические единицы (ОТЕ, англ. OTU). ОТЕ может быть соотнесена с таксономическими рангами семейства, рода, вида и др. Этап предполагает выбор коэффициента сходства между последовательностями, по которому они и будут объединяться. Например, 97 % сходства обычно соответствует виду. Следует отметить, что различия алгоритмов объединения сходных последовательностей в ОТЕ очень влияют на результаты анализа структуры микробных ценозов, поэтому необходимо строго придерживаться одинаковых методов [52].

На следующем этапе обычно выбирают нуклеотидные последовательности из набора ОТЕ, выравнивают и строят матрицу генетического расстояния, на основании чего определяют таксономическую принадлежность. Данная операция проводится с помощью различных баз данных: GenBank, Silva и др. Последний этап является ключевым – формирование таблицы представленности ОТЕ в образцах [53]. После обычно проводят экологический анализ данных: альфа- и бета-разнообразия. Первый подразумевает сообщества в пределах одного биогеоценоза и включает индексы видового богатства и обилия видов, а второй – сравнение видового состава разных биогеоценозов путём измерения «расстояний» между сообществами.

Наиболее сложным является обобщение полученных данных и их интерпретация. Например, обнаружение микробов-космополитов или же специфических компонентов микробиомов, выявление постоянных и устойчивых микробных ассоциаций, установление экологических факторов, благодаря которым формируются соответствующие микробиомы и др.

Второй подход, предполагающий секвенирование суммарной ДНК, проводят по двум взаимосвязанным и взаимодополняющим направлениям:

– сборка отдельных чтений в контиги, для которых проводятся таксономическая классификация и предсказание функций найденных в контигах генов;

– функциональная и таксономическая характеристика сообщества в результате анализа отдельных чтений [12].

Конечно же, им предшествуют операции «отбраковывания» некачественных и химерных прочтений. Отличительным этапом здесь является сортировка последовательностей в соответствии с баркодом [54].

В данном случае контиги представляют собой продолжительные участки ДНК, состоящие из фрагментов геномов разных микроорганизмов. Сборка контигов обычно затрудняется разным количеством тех или иных микроорганизмов и их геномов. Например, в сборку могут не попасть геномы тех микроорганизмов, чья представленность в сообществе достаточно мала, либо в сборке они будут присутствовать частично. Ввиду неоднородности популяции могут наблюдаться «разрывы» одной последовательности, а «похожие» геномы близких организмов могут собираться в химерные контиги. Программ, которые подойдут для сборки метагеномных последовательностей не так много – Genovo, MetaVelvet и Meta-IDBA [55-57].

Одной из сложнейших задач является отнесение микроорганизмов к определённым таксономическим группам, особенно если в базах данных нет никаких референсных последовательностей кроме гена 16S рРНК. Для решения этой задачи «биннинг», или сортировку, проводят на основании ГЦ состава, частоты использования кодонов, частоты олигонуклеотидов и степени гомологии и т.д. [58].

С помощью описанных методов анализа были получены полные, либо почти полные последовательности геномов для представителей ряда филумов. В действительности же подобные сборки представляют собой совокупные геномы («пангеномы») близкородственных организмов сообщества [12].

Анализ отдельных чтений тоже может быть использован для таксономической и функциональной классификации, но чаще всего такой подход используется для выявления известных организмов в результате картирования чтений на «референсные» геномы. В отличие от анализа контигов в данном случае отсутствует проблема низкой представленности минорных членов микробного сообщества. Однако, как правило, в пробах из природных сообществ лишь для небольшой части чтений удаётся предсказать функцию или таксономическую принадлежность, что определяется полнотой «референсной» базы данных, длиной прочтения и частотой ошибок секвенирования [12]. Аннотация бактериальных и архейных контигов может осуществляться с использованием сервисов IMG/M и MG-RAST [59, 60].

Для нахождения генов, кодирующих белки, обычно осуществляют поиск открытых рамок считывания. Найденную рамку сравнивают с уже известными генами. Другие алгоритмы способны найти разнообразные РНК и мобильные элементы. Подобные данные позволяют нам строить метаболические модели, на основе которых строятся предположения об особенностях жизнедеятельности организмов.

Интерпретация данных и поиск в них биологического смысла – главная проблема современных метагеномных исследований, которой уделяется около половины времени, затраченного на эксперимент в целом [11]. В связи с этим улучшение качества аналитической обработки данных – одно из перспективных направлений, сопутствующее метагеномным исследованиям.

#### ПРИМЕНЕНИЕ МЕТАГЕНОМНОГО АНАЛИЗА ПОЧВ САДОВЫХ ЦЕНОЗОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИХ КАЧЕСТВА И РАЗРАБОТКИ МЕТОДОВ ВОСПРОИЗВОДСТВА ПОЧВЕННОГО ПЛОДОРОДИЯ

Анализ литературы показал, что препятствием для изучения почвенного микробного биоразнообразия была невозможность культивировать по-

давляющее большинство почвенных прокариот. В настоящее время с помощью метагеномных инструментов можно получить информацию о некультивируемых микроорганизмах, их влиянии на экологическое состояние почв и формировании устойчивой экосистемы.

Одной из важнейших проблем при возделывании садовых культур является почвоутомление. Ранее было установлено, что основными причинами почвоутомления являются вынос питательных веществ, нарушение физико-химических свойств почвы, развитие фитопатогенной микрофлоры, развитие некоторых групп почвенной микрофлоры в ущерб другим группам, усиленное размножение вредителей, патогенов, сорняков и т.д. [10].

Ряд учёных отмечают, что микробиологические показатели почвы при её утомлении изменяются сильнее, чем биохимические и физико-химические [21, 22]. Тем не менее, именно химические и физические показатели почвоутомления оцениваются чаще микробиологических. Вероятно, это связано с более доступными методами определения первых. Микробиологические же, напротив, считаются более трудными для идентификации и требуют более тщательной интерпретации [61]. В последнее десятилетие метагеномный подход в изучении почвоутомления применяется всё чаще [62].

Например, Wolinska по результатам исследования почв Польши различного происхождения и назначения рекомендует филум *Bacteroidetes* как показатель чувствительности почв к сельскохозяйственному использованию [63]. Проведя метагеномный анализ, он обнаружил значительное снижение ОТЕ на пахотных почвах по сравнению с эталонными участками (природными ценозами). Тем не менее, для более точной оценки изменения структуры почвенной микробиоты поиск идентификаторов следует проводить на таксономических рангах ниже филума, например в семействах и родах.

Российские учёные проводили сравнение таксономической структуры сообществ залежей и агрочернозёмов в НИИСХ Центрально-чернозёмной полосы им. В.В. Докучаева [33]. По результатам исследования, было выделено 4 группы микроорганизмов-идентификаторов почв, процессов и условий.

Первую группу составляли семейства, доля которых уменьшается в пахотных почвах по сравнению с залежью: *Conexibacteraceae*, *Patulibacteraceae*, *Hyphomicrobiaceae*, *Syntrophobacteraceae* и др. Во вторую группу входили семейства, доля которых в залежных почвах меньше, чем в пахотных: *Geodermatophilaceae*, *Micrococcaceae*, *Rhodospirillaceae*, *Sphingomonadaceae* и др.

В третью группу вошли семейства, доля которых снижается в почвах при внесении минеральных удобрений: *Solirubrobacteraceae*, *Enterobacteraceae*, *Pseudomonadaceae*, *Gaiellaceae* и др. Четвёртая группа состояла из семейств, доля которых увеличивается на этих же полях. Среди них: *Chitinophagaceae*, *Bacillaceae*, археи филума *Crenarchaeota*, семейства *Nitrososphaeraceae*. Следовательно, вышеперечисленные семейства можно считать индикаторами оценки эффективности внесения минеральных удобрений.

В последнее время в науке проводится всё больше исследований, посвящённых метагеномике ризосферного эффекта. К сожалению, большинство публикаций носит лишь описательный характер. Лишь в некоторых работах указаны дополнительные данные о функциональном составе сообществ и отдельных аспектах метаболизма [62].

Почвенный покров России обладает огромным разнообразием ввиду большого числа природно-климатических зон, разнообразного рельефа, растительного и животного мира и, конечно же, различных материнских пород. Результаты исследований по одним территориям могут значительно отличаться на других. Особенно это касается почв сельскохозяйственного назначения, потому что помимо естественных причин формирования почвенного микробиома существенное влияние оказывает и антропогенный фактор.

Таким образом, современный практический и теоретический уровень агрохимических исследований, основанный на получении сельскохозяйственной продукции высокого качества при сохранении экологических

функций и почвы и её плодородия, требует нового, более глубокого научного подхода к изучению микробных сообществ агроценозов. Для почв сельскохозяйственного назначения, постоянно испытывающих антропогенные нагрузки, особенно многолетних садовых насаждений, важно знать, как они влияют на интенсивность и направленность микробиологических процессов, связанных с почвенным плодородием. Именно поэтому применение методов почвенной метагеномики переводят исследования микробиологических свойств почвы на новый уровень.

Метагеномика позволяет подробно и более полно проанализировать состав ризосферных сообществ и в том числе обнаружить таксоны, изменяющие свою численность по тем или иным факторам. Практический интерес преимущественно составляют микроорганизмы, участвующие в формировании почвенного плодородия, индикаторы утомления почв, а также микроорганизмы, стимулирующие рост и защитные функции растений. Согласно результатам метагеномных данных можно дать более точные и научно обоснованные рекомендации по воспроизводству почвенного плодородия садовых агроценозов.

**Заключение.** Изучение доступных научных источников показало, что исследование метагеномного анализа почв даёт возможность перехода на новый системный уровень исследования биоразнообразия почвенных экосистем. Этот переход ведёт к смене парадигмы, открывает путь к пониманию процессов, происходящих в почвах при интенсивном сельскохозяйственном использовании.

Имеющиеся наработки в области метагенома почв свидетельствуют о возможности использования этой информации как интегрального показателя качества почв садовых агроценозов и их функционирования, а также перспективности применения результатов исследований для дальнейшего



совершенствования методов биологизации и экологизации сельскохозяйственного производства и плодородия земель.

### Литература

1. Семенов А.М., Соколов М.С. Концепция здоровья почвы: фундаментально-прикладные аспекты обоснования критериев оценки // *Агрохимия*. 2016. № 1. С. 3-16.
2. Soil quality aspects of humid sandy loams as influenced by organic and conventional long-term management / P. Schjonning [et al.] // *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 2002. Vol. 88. P.195–214.
3. Вальков В.Ф., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Почвоведение: учебник для академического бакалавриата: Москва: Юрайт, 2016. 527 с.
4. Возняковская Ю.М. Микробиологические основы экологической системы земледелия // *Агрохимия*. 1995. № 5. С. 115-124.
5. Extraction of DNA from soil / M. Robe [et al.] // *European Journal of Soil Biology*. 2003. Vol. 39, Issue 4. P.183–190.
6. Prosser J.I. Dispersing misconceptions and identifying opportunities for the use of ‘omics’ in soil microbial ecology // *Nature Reviews Microbiology*. 2015. Vol. 13, Issue 7. P.439–446.
7. Torsvik V., Ovreas L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems // *Current Opinion in Microbiology*. 2002. Vol. 5, Issue 3. P. 240–245.
8. Курильщикова А.М., Тикунова Н.В., Кабилов М.Р. Методы и объекты метагеномных исследований // *Вестник НГУ*. 2012. Т.10, № 1. С. 191-201.
9. Чернов Т.И. Метагеномный анализ прокариотных сообществ профилей почв Европейской части России: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.03 / Чернов Тимофей Иванович. Москва, 2016. 111 с.
10. Белоголова Г.А., Соколова М.Г., Пройдакова О.А. Влияние почвенных бактерий на поведение химических элементов в системе почва-растение // *Агрохимия*. 2011. № 9. С. 68-76.
11. Основные достижения и перспективы почвенной метагеномики / Е.В. Першина [и др.]. СПб.: Информ-Навигатор, 2017. 288 с.
12. Равин Н.В., Марданов А.В., Скрыбин К.Г. Метагеномика как инструмент изучения «некультивируемых» микроорганизмов // *Генетика*. 2015. Т. 51, № 5. С. 519-528.
13. Staley J.T., Konopka A. Measurement of *in situ* activities of nonphotosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats // *Annual Reviews Microbiology*. 1985. Vol. 39. P. 321–346.
14. Torsvik V., Goksoyr J., Daae F.L. High Diversity in DNA of Soil Bacteria // *Applied Environmental Microbiology*. 1990. Vol. 56, Issue 3. P. 782–787.
15. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: A new frontier for natural products // J. Handelsman [et al.] // *Chemistry And Biology*. 1998. Vol. 5, Issue 10. P. 245–249.
16. Bornemann J. Culture-independent identification of microorganisms that respond to specified stimuli // *Applied And Environmental Microbiology*. 1999. Vol. 65, Issue 8. – P.3398–3400.
17. Cloning the Soil Metagenome: a Strategy for Accessing the Genetic and Functional Diversity of Uncultured Microorganisms / M.R. Rondon [et al.] // *Applied And Environmental Microbiology*. 2000. Vol. 66, Issue 6. P.2541–2547.

18. Daniel R. The soil metagenome – a rich resource for the discovery of novel natural products // *Current Opinion in Biotechnology*. 2004. Vol. 15, Issue 3. P.199–204.

19. Galvao T.C., Mohn W.W., de Lorenzo V. Exploring the microbial biodegradation and biotransformation gene pool // *Trends in Biotechnology*. 2005. Vol. 23, Issue 10. P.497–506.

20. Screening for novel enzymes for biocatalytic processes: accessing the metagenome as a resource of novel functional sequence space // P. Lorenz [et al.] // *Current Opinion in Biotechnology*. 2020 Vol.13, Issue 6. P. 572–577.

21. Sensitivity and resistance of soil fertility indicators to land-use changes: new concept and examples from conversion of Indonesian rainforest to plantations / T. Guillaume [et al.] // *Ecological Indicators*. 2016. Vol. 67. P. 49–57.

22. Soil microbial indicators across land use types in the river oasis Bulgan sum center, Western Mongolia / S. Goenster [et al.] // *Ecological Indicators* 2017. Vol. 76. P.111–118.

23. Back to the Future of Soil Metagenomics / J. Nesme [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. 2016. Vol. 7, Issue 73. 5 p.

24. An assessment of US microbiome research / E. Stulberg [et al.] // *Nature Microbiology*. 2016.Vol. 1. P.15015.

25. Myrold D.D., Zeglin L.H., Jansson J.K. The potential of metagenomic approaches for understanding soil microbial processes // *Soil Science Society of America Journal*. 2014. Vol. 78, Issue 1. P.3–10.

26. Методология микробиологических исследований почвы в рамках проекта «Микробиом России» / Т.И. Чернов [и др.] // *Бюллетень Почвенного института им. В.В. Докучаева*. 2017. № 87. С. 100-113.

27. Попова В.П., Ворожбет А.А. Оценка экологического состояния основных садопригодных почв Западного Предкавказья по активности почвенных ферментов // *Сборник статей по материалам международной конференции, посвящённой 100-летию С.Ф. Неговелова «Энтузиасты аграрной науки»*. Краснодар: КГАУ, 2003. № 2. С. 189-193.

28. Попова В.П., Ворожбет А.А. Методические особенности оценки плодородия почв по их ферментативной активности в садовых агроценозах // *Современное приборное обеспечение и методы анализа почв, кормов, растений и сельскохозяйственного сырья: сборник статей по материалам международной конференции*. М.: ВНИИА, 2003. С. 97-99.

29. Попова В.П., Ворожбет А.А., Коростелева Л.А. Биологическая активность почв в садовых агроценозах различной структуры // *Доклады Российской Академии сельскохозяйственных наук*, 2001. № 4. С. 8-10.

30. Hirsch P.R., Mauchline T.H., Clark I.M. Culture-independent molecular techniques for soil microbial ecology // *Soil Biology And Biochemistry*. 2010. Vol. 42. P.878–887.

31. Иванов А.Л. Методология и категории исследования депозитарных, биогеоценологических, экологических и сервисных функций почв // *Бюллетень Почвенного института им. В.В. Докучаева*. 2015. № 80. С. 6-15.

32. Анализ показателей почвенного микробиома в процессах, связанных с почвообразованием, трансформацией органического вещества и тонкой регуляцией вегетационных процессов / Е.Е. Андронов [и др.] // *Бюллетень Почвенного института им. В.В. Докучаева*. 2015. № 80. С. 83-94.

33. Микробиологические показатели агрегатов типичных чернозёмов в многолетних полевых опытах / А.Д. Железова [и др.] // *Почвоведение*. 2017. № 6. С. 711-717.

34. Молекулярный анализ микробных сообществ ризосфер злаков, выращенных на контрастных почвах / А.О. Зверев [и др.] // *Микробиология*. 2020. Т. 89, № 2. С. 235-246.

35. Сравнительный анализ микробиомов природных и антропогенно-нарушенных почв северо-западного Казахстана / Е.В. Першина [и др.] // Почвоведение. 2016. № 6. С.720-732.

36. Изменение структуры прокариотного сообщества в ризосфере Рапса ярового (*Brassica napus* L.) в зависимости от внесения бактерий, утилизирующих 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат / С.Н. Петрова [и др.] // Микробиология. 2020. Т.89, № 1. С.121-128.

37. Разнообразие малочисленности: феномен «разреженной бактериальной биосферы» / М.Ю. Скопина [и др.] // Микробиология. 2016. Т.85, № 3. С. 248-260.

38. Сравнительный анализ микробных сообществ контрастных почвенных типов в условиях различных фитоценозов / Е.А. Иванова [и др.] // Экология. 2018. № 1. С. 33-44.

39. Ворожбет А.А. Ферментативная активность почвы как индикатор её экологического и биологического состояния в плодовых ценозах // Развитие социально-культурной сферы Кубани: материалы пятой краевой научно-практической конференции молодых учёных. Краснодар – Анапа, 1999. С.61-62.

40. Ворожбет А.А. Биологическая активность почв в садовых агроценозах Западного Предкавказья: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук: 06.01.03 / Ворожбет Андрей Александрович. Краснодар, 2002. 22 с.

41. Ворожбет А.А. Биологическая активность почвы в плодовых садах при различных способах её содержания // Современные проблемы научного обеспечения отраслей «Садоводства и Виноградарства» на пороге XXI века: Сборник докладов отраслевой научно-практической конференции молодых учёных. Краснодар, 1999. С.6-8.

42. Nielsen K.M., Calamai L., Pietramellara G. Stabilization of Extracellular DNA and Proteins by Transient Binding to Various Soil Components // Soil Biology. 2006. Vol. 8. P. 141–157.

43. Ogram A., Sayler G.S., Barkay T. The extraction and purification of microbial DNA from sediments // Journal of Microbiological Methods. 1987. Vol. 7, Issue 2–3. P.57–66.

44. Orsini M., Romano-Spica V. A microwave-based method for nucleic acid isolation from environmental samples // Letters in Applied Microbiology. 2001. Vol. 33, Issue 1. P.17–20.

45. Quantitative cell lysis of indigenous microorganisms and rapid extraction of microbial DNA from sediment / M.I. More [et al.] // Applied And Environmental Microbiology. 1994. Vol. 60, Issue 5. P. 1572–1580.

46. Tebbe C.C., Vahjen W. Interference of humic acids and DNA extracted directly from soil in detection and transformation of recombinant DNA from bacteria and a yeast // Applied And Environmental Microbiology. 1993 Vol. 59, Issue 8. P.2657–2665.

47. Torsvik V. Determination of bacterial DNA in soil // Soil Biology and Biochemistry. 1978. Vol. 10. P.7–12.

48. Bakken L.R. Separation and purification of bacteria from soil // Applied And Environmental Microbiology. 1985. Vol. 49. P.1482–1487.

49. Recovery of DNA from soils and sediments / R.J. Steffan [et al.] // Applied And Environmental Microbiology. 1988. Vol. 54, Issue 12. P.2908–2915.

50. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data / J.G. Caporaso [et al.] // Nature Methods. 2010. Vol. 7, Issue 5. P.335–336.

51. Метод выявления химерных последовательностей и коррекции ошибок во флуорограммах при секвенировании генома / В.В. Галатенко [и др.] // Биотехнология. 2013. № 1. С. 78-90.

52. Alignment and clustering of phylogenetic markers – implications for microbial diversity studies / J.R. White [et al.] // BMC Bioinformatics. 2010. Vol. 11, Issue 1. P.152.

53. Long walk to genomics: History and current approaches to genome sequencing and assembly / A.M. Giani [et al.] // *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2020. Vol. 18. P.9–19.
54. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample / J.G. Caporaso [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010. Vol.108. P. 4516–4522.
55. Laserson J., Jojic V., Koller D. *Genovo: de novo assembly for metagenomes* // *Journal of Computational Biology*. 2011. Vol. 8. P.429–443.
56. Meta-IDBA: a *de novo* assembler for metagenomic data / Y. Peng [et al.] // *Bioinformatics*. 2011. Vol. 27. P.94–101.
57. MetaVelvet: an extension of Velvet assembler to *de novo* metagenome assembly from short sequence reads / T. Namiki [et al.] // *Nucleic Acids Research*. 2012. Vol. 40. P.e155.
58. Droge J., McHardy A.C. Taxonomic binning of metagenome samples generated by next-generation sequencing technologies // *Briefings in Bioinformatics*. 2012. Vol. 13. P.646–655.
59. IMG/M: a data management and analysis system for metagenomes / V.M. Markowitz [et al.] // *Nucleic Acids Research*. 2008. Vol. 36. P.D534–D538.
60. The metagenomics RAST server – a public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of metagenomes / F. Meyer [et al.] электронный // *BMC Bioinformatics*. 2008. Vol. 9. P.386.
61. Dilly O., Pompili L., Benedetti A. Soil microbiological indicators separated land use practices in contrast to abiotic soil properties at the 50 km scale under summer warm Mediterranean climate in northern Italy // *Ecological Indicators*. 2018. Vol. 84. P.298–303.
62. Chaparro J.M., Badri D.V., Vivanco J.M. Rhizosphere microbiome assemblage is affected by plant development // *The ISME Journal*. 2014. Vol. 8. P.790–803.
63. Microbial biodiversity of meadows under different modes of land use: catabolic and genetic fingerprinting / A. Wolinskan [et al.] // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2017. Vol. 33, Issue 8. P.154.

### References

1. Semenov A.M., Sokolov M.S. *Koncepciya zdorov'ya pochvy: fundamental'no-prikladnye aspekty obosnovaniya kriteriev ocenki* // *Agrohimiya*. 2016. № 1. S. 3-16.
2. Soil quality aspects of humid sandy loams as influenced by organic and conventional long-term management / P. Schjonning [et al.] // *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 2002. Vol. 88. P.195–214.
3. Val'kov V.F., Kazeev K.Sh., Kolesnikov S.I. *Pochvovedenie: uchebnik dlya akademicheskogo bakalavriata*: Moskva: Yurajt, 2016. 527 s.
4. Voznyakovskaya Yu.M. *Mikrobiologicheskie osnovy ekologicheskoy sistemy zemledeliya* // *Agrohimiya*. 1995. № 5. S. 115-124.
5. Extraction of DNA from soil / M. Robe [et al.] // *European Journal of Soil Biology*. 2003. Vol. 39, Issue 4. P.183–190.
6. Prosser J.I. Dispersing misconceptions and identifying opportunities for the use of 'omics' in soil microbial ecology // *Nature Reviews Microbiology*. 2015. Vol. 13, Issue 7. P.439–446.
7. Torsvik V., Ovreas L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems // *Current Opinion in Microbiology*. 2002. Vol. 5, Issue 3. P. 240–245.
8. Kuril'shchikov A.M., Tikunova N.V., Kabilov M.R. *Metody i ob"ekty metagenomnyh issledovaniy* // *Vestnik NGU*. 2012. T.10, № 1. S. 191-201.

9. Chernov T.I. Metagenomnyj analiz prokariotnyh soobshchestv profilej pochv Evropejskoj chasti Rossii: dis. ... kand. biol. nauk: 03.02.03 / Chernov Timofej Ivanovich. Moskva, 2016. 111 s.

10. Belogolova G.A., Sokolova M.G., Projdakova O.A. Vliyanie pochvennyh bakterij na povedenie himicheskikh elementov v sisteme pochva-rastenie // *Agrohimiya*. 2011. № 9. С. 68-76.

11. Osnovnye dostizheniya i perspektivy pochvennoj metagenomiki / E.V. Pershina [i dr.]. SPb.: Inform-Navigator, 2017. 288 s.

12. Ravin N.V., Mardanov A.V., Skryabin K.G. Metagenomika kak instrument izucheniya «nekul'tiviruemyh» mikroorganizmov // *Genetika*. 2015. T. 51, № 5. S. 519-528.

13. Staley J.T., Konopka A. Measurement of in situ activities of non-photosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats // *Annual Reviews Microbiology*. 1985. Vol. 39. P. 321–346.

14. Torsvik V., Goksoyr J., Daae F.L. High Diversity in DNA of Soil Bacteria // *Applied Environmental Microbiology*. 1990. Vol. 56, Issue 3. P. 782–787.

15. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: A new frontier for natural products // J. Handelsman [et al.] // *Chemistry And Biology*. 1998. Vol. 5, Issue 10. P. 245–249.

16. Bornemann J. Culture-independent identification of microorganisms that respond to specified stimuli // *Applied And Environmental Microbiology*. 1999. Vol. 65, Issue 8. – P.3398–3400.

17. Cloning the Soil Metagenome: a Strategy for Accessing the Genetic and Functional Diversity of Uncultured Microorganisms / M.R. Rondon [et al.] // *Applied And Environmental Microbiology*. 2000. Vol. 66, Issue 6. P.2541–2547.

18. Daniel R. The soil metagenome – a rich resource for the discovery of novel natural products // *Current Opinion in Biotechnology*. 2004. Vol. 15, Issue 3. P.199–204.

19. Galvao T.C., Mohn W.W., de Lorenzo V. Exploring the microbial biodegradation and biotransformation gene pool // *Trends in Biotechnology*. 2005. Vol. 23, Issue 10. P.497-506.

20. Screening for novel enzymes for biocatalytic processes: accessing the metagenome as a resource of novel functional sequence space // P. Lorenz [et al.] // *Current Opinion in Biotechnology*. 2020 Vol.13, Issue 6. P. 572–577.

21. Sensitivity and resistance of soil fertility indicators to land-use changes: new concept and examples from conversion of Indonesian rainforest to plantations / T. Guillaume [et al.] // *Ecological Indicators*. 2016. Vol. 67. P. 49–57.

22. Soil microbial indicators across land use types in the river oasis Bulgan sum center, Western Mongolia / S. Goenster [et al.] // *Ecological Indicators* 2017. Vol. 76. P.111–118.

23. Back to the Future of Soil Metagenomics / J. Nesme [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. 2016. Vol. 7, Issue 73. 5 p.

24. An assessment of US microbiome research / E. Stulberg [et al.] // *Nature Microbiology*. 2016. Vol. 1. P.15015.

25. Myrold D.D., Zeglin L.H., Jansson J.K. The potential of metagenomic approaches for understanding soil microbial processes // *Soil Science Society of America Journal*. 2014. Vol. 78, Issue 1. P.3–10.

26. Metodologiya mikrobiologicheskikh issledovanij pochvy v ramkah proekta «Mikrobiom Rossii» / T.I. Chernov [i dr.] // *Byulleten' Pochvennogo instituta im. V.V. Dokuchaeva*. 2017. № 87. S. 100-113.

27. Popova V.P., Vorozhbet A.A. Ocenka ekologicheskogo sostoyaniya osnovnyh sadoprigradnyh pochv Zapadnogo Predkavkaz'ya po aktivnosti pochvennyh fermentov // *Sbornik statej po materialam mezhdunarodnoj konferencii, posvyashchyonnoj 100-letiyu S.F. Negovellova «Entuziasty agrarnoj nauki»*. Krasnodar: KGAU, 2003. № 2. S. 189-193.

28. Popova V.P., Vorozhbet A.A. Metodicheskie osobennosti ocenki plodorodiya pochv po ih fermentativnoj aktivnosti v sadovyh agrocenozah // *Sovremennoe pribornoe obespechenie i metody analiza pochv, kormov, rastenij i sel'skohozyajstvennogo syr'ya: sbornik statej po materialam mezhdunarodnoj konferencii*. M.: VNIIA, 2003. S. 97-99.

29. Popova V.P., Vorozhbet A.A., Korosteleva L.A. Biologicheskaya aktivnost' pochv v sadovyh agrocenozah razlichnoj struktury // *Doklady Rossijskoj Akademii sel'skohozyajstvennyh nauk*, 2001. № 4. S. 8-10.

30. Hirsch P.R., Mauchline T.H., Clark I.M. Culture-independent molecular techniques for soil microbial ecology // *Soil Biology And Biochemistry*. 2010. Vol. 42. P.878–887.

31. Ivanov A.L. Metodologiya i kategorii issledovaniya depozitarnyh, biogeocenoticheskikh, ekologicheskikh i servisnyh funkcij pochv // *Byulleten' Pochvennogo instituta im. V.V. Dokuchaeva*. 2015. № 80. S. 6-15.

32. Analiz pokazatelej pochvennogo mikrobioma v processah, svyazannyh s pochvoobrazovaniem, transformaciej organicheskogo veshchestva i tonkoj regulyacii vegetacionnyh processov / E.E. Andronov [i dr.] // *Byulleten' Pochvennogo instituta im. V.V. Dokuchaeva*. 2015. № 80. S. 83-94.

33. Mikrobiologicheskie pokazateli agregatov tipichnyh chernozyomov v mnogoletnih polevyh opytah / A.D. Zhelezova [i dr.] // *Pochvovedenie*. 2017. № 6. C. 711-717.

34. Molekulyarnyj analiz mikrobnih soobshchestv rizosfer zlakov, vyrashchennyh na kontrastnyh pochvah / A.O. Zverev [i dr.] // *Mikrobiologiya*. 2020. T. 89, № 2. S. 235-246.

35. Sravnitel'nyj analiz mikrobiomov prirodnyh i antropogenno-narushennyh pochv severo-zapadnogo Kazahstana / E.V. Pershina [i dr.] // *Pochvovedenie*. 2016. № 6. C.720-732.

36. Izmenenie struktury prokariotnogo soobshchestva v rizosfere Rapsa yarovogo (*Brassica napus* L.) v zavisimosti ot vneseniya bakterij, utiliziruyushchih 1-aminociklopropan-1-karboksilat / S.N. Petrova [i dr.] // *Mikrobiologiya*. 2020. T.89, № 1. S.121-128.

37. Raznoobrazie malochislennosti: fenomen «razrezhennoj bakterial'noj biosfery» / M.Yu. Skopina [i dr.] // *Mikrobiologiya*. 2016. T.85, № 3. S. 248-260.

38. Sravnitel'nyj analiz mikrobnih soobshchestv kontrastnyh pochvennyh tipov v usloviyah razlichnyh fitocenozov / E.A. Ivanova [i dr.] // *Ekologiya*. 2018. № 1. S. 33-44.

39. Vorozhbet A.A. Fermentativnaya aktivnost' pochvy kak indikator eyo ekologicheskogo i biologicheskogo sostoyaniya v plodovyh cenozah // *Razvitie social'no-kul'turnoj sfery Kubani: materialy pyatoy kraevoy nauchno-prakticheskoy konferencii molodyh uchyonyh*. Krasnodar – Anapa, 1999. S.61-62.

40. Vorozhbet A.A. Biologicheskaya aktivnost' pochv v sadovyh agrocenozah Zapadnogo Predkavkaz'ya: avtoref. dis. ... kand. s.-h. nauk: 06.01.03 / Vorozhbet Andrej Aleksandrovich. Krasnodar, 2002. 22 s.

41. Vorozhbet A.A. Biologicheskaya aktivnost' pochvy v plodovyh sadah pri razlichnyh sposobah eyo sodержaniya // *Sovremennye problemy nauchnogo obespecheniya otraslej «Sadovodstva i Vinogradarstva» na poroge XXI veka: sbornik dokladov otraslevoj nauchno-prakticheskoy konferencii molodyh uchyonyh*. Krasnodar, 1999. S.6-8.

42. Nielsen K.M. Calamai L., Pietramellara G. Stabilization of Extra-cellular DNA and Proteins by Transient Binding to Various Soil Components // *Soil Biology*. 2006. Vol. 8. P. 141–157.

43. Ogram A., Saylor G.S., Barkay T. The extraction and purification of microbial DNA from sediments // *Journal of Microbiological Methods*. 1987. Vol. 7, Issue 2–3. P.57–66.

44. Orsini M. Romano-Spica V. A microwave-based method for nucleic acid isolation from environmental samples // *Letters in Applied Microbiology*. 2001. Vol. 33, Issue 1. R.17–20.

45. Quantitative cell lysis of indigenous microorganisms and rapid extraction of microbial DNA from sediment / M.I. More [et al.] // *Applied And Environmental Microbiology*. 1994. Vol. 60, Issue 5. P. 1572–1580.
46. Tebbe C.C., Vahjen W. Interference of humic acids and DNA extracted directly from soil in detection and transformation of recombinant DNA from bacteria and a yeast // *Applied And Environmental Microbiology*. 1993 Vol. 59, Issue 8. R.2657–2665.
47. Torsvik V. Determination of bacterial DNA in soil // *Soil Biology and Biochemistry*. 1978. Vol. 10. P.7–12.
48. Bakken L.R. Separation and purification of bacteria from soil // *Applied and Environmental Microbiology*. 1985. Vol. 49. P.1482–1487.
49. Recovery of DNA from soils and sediments / R.J. Steffan [et al.] // *Applied And Environmental Microbiology*. 1988. Vol. 54, Issue 12. R.2908–2915.
50. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data / J.G. Caporaso [et al.] // *Nature Methods*. 2010. Vol. 7, Issue 5. P.335–336.
51. Metod vyavleniya himernyh posledovatel'nostej i korrekcii oshibok vo flourogrammah pri sekvenirovanii genoma / V.V. Galatenko [i dr.] // *Biotekhnologiya*. 2013. № 1. S. 78-90.
52. Alignment and clustering of phylogenetic markers – implications for microbial diversity studies / J.R. White [et al.] // *BMC Bioinformatics*. 2010. Vol. 11, Issue 1. P.152.
53. Long walk to genomics: History and current approaches to genome sequencing and assembly / A.M. Giani [et al.] // *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2020. Vol. 18. P.9–19.
54. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample / J.G. Caporaso [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010. Vol.108. P. 4516–4522.
55. Laserson J., Jojic V., Koller D. Genovo: de novo assembly for metagenomes // *Journal of Computational Biology*. 2011. Vol. 8. P.429–443.
56. Meta-IDBA: a de novo assembler for metagenomic data / Y. Peng [et al.] // *Bioinformatics*. 2011. Vol. 27. P.94–101.
57. MetaVelvet: an extension of Velvet assembler to de novo meta-genome assembly from short sequence reads / T. Namiki [et al.] // *Nucleic Acids Research*. 2012. Vol. 40. P.e155.
58. Droge J., McHardy A.C. Taxonomic binning of metagenome samples generated by next-generation sequencing technologies // *Briefings in Bioinformatics*. 2012. Vol. 13. P.646–655.
59. IMG/M: a data management and analysis system for metagenomes / V.M. Markowitz [et al.] // *Nucleic Acids Research*. 2008. Vol. 36. P.D534–D538.
60. The metagenomics RAST server – a public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of metagenomes / F. Meyer [et al.] *elektronnyj* // *BMC Bioinformatics*. 2008. Vol. 9. P.386.
61. Dilly O., Pompili L., Benedetti A. Soil microbiological indicators separated land use practices in contrast to abiotic soil properties at the 50 km scale under summer warm Mediterranean climate in northern Italy // *Ecological Indicators*. 2018. Vol. 84. P.298–303.
62. Chaparro J.M., Badri D.V., Vivanco J.M. Rhizosphere microbiome assemblage is affected by plant development // *The ISME Journal*. 2014. Vol. 8. P.790–803.
63. Microbial biodiversity of meadows under different modes of land use: catabolic and genetic fingerprinting / A. Wolinskan [et al.] // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2017. Vol. 33, Issue 8. P.154.