

## ИЗМЕНЕНИЯ ТАКСОНОМИЧЕСКОГО СОСТАВА И СТРУКТУРЫ ПРОКАРИОТНОГО СООБЩЕСТВА АГРОДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ ПРИ ВНЕСЕНИИ БИОУГЛЯ\*

В.Ю. ШАХНАЗАРОВА<sup>1, 2</sup>, Н.Е. ОРЛОВА<sup>1</sup>, Е.Е. ОРЛОВА<sup>1</sup>, Т.А. БАНКИНА<sup>1</sup>,  
К.Л. ЯККОНЕН<sup>1</sup>, Е.Я. РИЖИЯ<sup>3</sup>, А.А. КИЧКО<sup>2</sup>

В настоящее время в научной литературе активно обсуждается целесообразность применения в земледелии биоугля — одного из новых видов органометаллических мелиорантов, получаемого из древесины или отходов растительного происхождения. Биоуголь рекомендуют использовать для увеличения биологической активности почв, повышения продуктивности культур, в ряде стран его активно внедряют в агротехнологии. Однако многие аспекты влияния биоугля на свойства и состояние агроценозов исследованы крайне слабо. Основное беспокойство вызывают данные о влиянии биоугля на минерализацию гумуса, так как дегумификация может привести к потере почвенного плодородия и снижению экологической устойчивости почв, особенно дерново-подзолистых, для которых характерно невысокое содержание гумуса и слабая гумифицированность. Такие почвы исходно имеют низкую экологическую устойчивость и достаточно уязвимы для воздействия человека. При их использовании необходимо уделять значительное внимание микробиологическим и биохимическим процессам трансформации почвенного органического вещества. Воздействию биоугля на состав и состояние микробиоты почв в России посвящены единичные исследования, а для дерново-подзолистых почв северо-западного региона России оно изучено нами впервые. Целью работы была оценка влияния биоугля на особенности сообществ прокариот хорошо окультуренной агродерново-подзолистой супесчаной почвы. Образцы отбирали в Ленинградской области. Биоуголь получали быстрым пиролизом из древесины березы и осины при 550 °С. К почвенным образцам добавляли 1 % биоугля. Исследования проводили в инкубационном эксперименте при комнатной температуре (7 и 90 сут, 20-22 °С; повторность вариантов опыта 3-кратная). Общепринятыми агрохимическими методами определяли содержание общего органического углерода и азота, минеральных форм азота и pH почвенной суспензии. Для анализа таксономического состава почвенных прокариот использовали метод высокопроизводительного секвенирования переменного участка гена 16S рРНК. Кластеризацию последовательностей и таксономическую идентификацию полученных операционных таксономических единиц (ОТЕ, OTU — Operational Taxonomic Unit) проводили с помощью программы QIIME. Разнообразие и выравненность бактериальных сообществ агродерново-подзолистой почвы оценивали по числу ОТЕ и индексу Шеннона (H). Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы IBM SPSS Statistics, Version 25 («IBM», США). Достоверность различий между вариантами оценивали по результатам однофакторного дисперсионного анализа с помощью критериев Дункана (Duncan's test) или Стюдента-Ньюмена-Кейлса (Student-Newman-Keuls test) при  $p < 0,05$ . При внесении биоугля в почву отмечали усиление процессов минерализации органического вещества. За период наблюдений содержание гумуса в почве снизилось с 4,41 до 3,83 %, то есть на 11 % больше, чем в контроле. Активизация трансформации органического вещества протекала на фоне изменений состояния прокариотного сообщества. Сообщество было представлено в основном бактериями фил *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Chloroflexi*, *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*. Внесение биоугля в почву сопровождалось возрастанием общего разнообразия бактерий и увеличением обилия представителей фил *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*, *Proteobacteria* и *FBP*, а также уменьшением обилия представителей фил *Actinobacteria*, *Nitrospirae*, *Firmicutes* и *Fibrobacteres*. В целом под влиянием биоугля в прокариотном сообществе возросло обилие олиготрофов и сократилась доля копитрофов. Угнетение бактерий филы *Nitrospirae* может объясняться снижением концентрации доступного аммония. Кроме того, при внесении биоугля в почву увеличилось обилие некоторых таксонов, включающих бактерии, которые также участвуют в разложении сложных природных биополимеров (порядки *Muxococcales* и *Xanthomonadales*, класс *Sphingobacteriia* и др.). С этими изменениями, вероятно, связана интенсификация процессов трансформации труднооблизуемых органических веществ при внесении биоугля в агродерново-подзолистую почву.

Ключевые слова: метагеномный анализ, высокопроизводительное секвенирование, почвенный микробценоз, продукты пиролиза, дерново-подзолистая почва, олиготрофы, копитрофы, почвенные гидролитики.

\* Исследования проводились с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» (ФГБНУ ВНИИСХМ). Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-016-00208а «Влияние биоугля на биохимические и микробиологические процессы трансформации органического вещества почв».

В последние десятилетия активно ведется поиск и разработка новых видов удобрений и мелиорантов, позволяющих поддерживать бездефицитный баланс гумуса почв и обеспечивать их высокое плодородие. Один из перспективных органогенных мелиорантов, активно применяемых в мировом агропроизводстве, — биоуголь. (анг. biochar) (1-3). Биоуголь получают пиролизом древесины или другой растительной массы в инертной атмосфере. Применение биоугля рассматривают как возможность решения ряда острых экологических проблем — утилизации органических отходов (4, 5), секвестрации углерода (6), восстановления нарушенных почв (5-7) и увеличения продуктивности сельскохозяйственных культур (4, 8, 9).

Состав и свойства различных видов биоугля, в частности исходное сырье для его производства (10), физические и физико-химические характеристики (11, 12), изучены достаточно подробно. Исследовано его влияние на агрономически ценные свойства некоторых типов почв, в том числе на содержание элементов минерального питания растений (4, 9, 13), реакцию почвенной среды и водно-физические свойства (5, 6, 12, 13). Однако механизмы, обуславливающие такие эффекты, не до конца понятны. Описаны изменения микробоценоза в почвах при разных дозах внесения биоугля (14-16), сроках инкубации (15, 17) и различном его качестве (18). Но при этом не выявлены четкие закономерности модуляции профиля микробиоты под влиянием биоугля. Ограничена и зачастую противоречива информация о сопряженных изменениях почвенной биоты и органического вещества почв — важнейших компонентов агроценозов, в значительной степени определяющих уровень их плодородия и экологическую устойчивость (19-22). Так, имеются сведения, что под влиянием биоугля микробная биомасса и биологическая активность почв увеличиваются, начинаются дегумификационные процессы (21-23). Согласно другим данным, биоуголь не оказывает стимулирующего действия на биомассу почвенных микроорганизмов, а интенсивность минерализационных процессов снижается (24-27). Также слабо проработана проблема трансформации состава гумуса при внесении биоугля в почвы. Недавно проведенные нами исследования показали, что внесение биоугля в дерново-подзолистую почву приводит как к негативным, так и к положительным модификациям в системе гумусовых веществ (28, 29). Интенсивные процессы минерализации гумуса (потери до 20 %) сопровождаются увеличением в его составе доли стабилизированных форм, что повышает устойчивость гумуса в целом (28).

Почвенные прокариоты активно участвуют в трансформации органического вещества, поэтому изучение влияния биоугля на прокариотное сообщество агродерново-подзолистой почвы представляет интерес как для понимания фундаментальных процессов формирования почвенного плодородия, так и для практики земледелия.

В настоящей работе впервые описаны изменения состава и структуры прокариотного сообщества агродерново-подзолистой почвы, сопутствующие ее дегумификации под воздействием биоугля (рост обилия олиготрофов и ряда таксонов, представители которых участвуют в разложении сложных природных биополимеров, снижение доли копиотрофов). Кроме того, получены данные о метагеномном составе микробиоты дерново-подзолистой почвы северо-западной части Европейской России, сведений о котором для этого региона пока крайне мало.

Цель представляемого исследования заключалась в оценке влияния биоугля на особенности сообществ прокариот хорошо окультуренной агродерново-подзолистой супесчаной почвы Ленинградской области.

*Методика.* Образцы высокогумусированной агродерново-подзолистой супесчаной почвы (Меньковский филиал Агрофизического института, Ленинградская обл., Гатчинский р-н) отбирали из пахотного горизонта (0-20 см) в июне 2017 года. Биоуголь получали быстрым пиролизом из древесины березы и осины при 550 °С. Подробная характеристика почвы и биоугля приведена ранее (28, 29).

Исследования проводили в краткосрочном инкубационном эксперименте при комнатной температуре (20-22 °С). Масса почвы в сосудах составляла 300 г в пересчете на сухое вещество, содержание биоугля — 0 % (контроль) и 1,0 %. Влажность почвы в течение всего эксперимента оставалась равной 60 % от полной влагоемкости. Образцы почвы для анализа отбирали на 7-е и 90-е сут. Повторность вариантов опыта 3-кратная.

Агрохимические показатели почвы определяли по стандартным методикам (30): рН — потенциометрически, содержание почвенного органического углерода — по Тюрину, органического азота — микрохромовым методом Тюрина, нитратов — с дисульфифеноловой кислотой, аммония — с реактивом Несслера.

При экстракции и очистке ДНК из навесок почвенных образцов (0,25 г) использовали набор NucleoSpin® Soil kit («MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG», Германия) в соответствии с инструкцией производителя.

Для создания библиотек маркерного гена 16S рНК в полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали универсальные праймеры для его варибельного участка V4 F515/R806 (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGT-АА-3'/5'-GGACTACVSGGGTATCTAAT-3') с присоединением адаптеров и уникальных баркодов («Illumina, Inc.», США). Для постановки ПЦР использовали T100 Thermal Cycler («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США), реакцию проводили в 15 мкл реакционной смеси, содержащей 0,5-1,0 ед. полимеразы Q5 и ×1 Q5 Reaction Buffer («New England BioLabs Inc.», Великобритания), по 5 пкМ прямого и обратного праймеров, 10 нг ДНК матрицы и 2 нМ каждого dNTP («Thermo Fisher, Inc.», США). Смесь денатурировали при 94 °С 1 мин, после чего следовало 35 циклов: 94 °С — 30 с, 50 °С — 30 с, 72 °С — 30 с; финальная элонгация — при 72 °С 3 мин. Подготовку библиотек и секвенирование выполняли на платформе Illumina MiSeq с набором реагентов MiSeq ReagentKit v3 (600 cycle) с двусторонним чтением (2×300 н.) («Illumina, Inc.», США) в соответствии с протоколом Illumina для метагеномного секвенирования ампликонных библиотек 16S «MiSeq Reagent Kit Preparation Guide». Для демультимплексирования, исключения служебных последовательностей, оценки качества прочтения, обрывания и объединения двусторонних прочтений, проверки на наличие химерных последовательностей и гомополимеров использовали ПО Illumina («Illumina, Inc.», США) и программные пакеты Trimmomatic (31), fastQC (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>), fastq-join (<https://github.com/brwnj/fastq-join>) и QIIME (32). Кластеризацию последовательностей и таксономическую идентификацию полученных операционных таксономических единиц (ОТЕ, Operational Taxonomic Unit) проводили с помощью программы QIIME.

Разнообразие и выравненность бактериальных сообществ агродерново-подзолистой почвы оценивали по числу ОТЕ (аналог видового богатства) и индексу Шеннона  $H = -\sum p_i \ln(p_i)$ , где  $p_i$  — доля  $i$ -го вида в сообществе (33).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы IBM SPSS Statistics, Version 25 («IBM», США). Достоверность различий между вариантами оценивали по результатам однофакторного дис-

персионного анализа с помощью критериев Дункана (Duncan's test) или Стюдента-Ньюмена-Кейлса (Student-Newman-Keuls test, SNK) при  $p < 0,05$  ( $n = 3$ ). В таблицах представлены средние значения ( $M$ ) с доверительным интервалом при  $p < 0,05$  ( $t_{0,05} \times SEM$ ).

**Результаты.** Несмотря на высокое содержание в биоугле углерода, он представлен в основном инертными трудно окисляемыми формами, лабильных фракций крайне мало. В органическом веществе биоугля доля углерода, определяемого методом мокрого сжигания по окисляемости, составляет менее 1,5 %, содержание водорастворимых соединений углерода ничтожно (0,008 %) (27). Внесенный в почву биоуголь не влиял на содержание почвенного органического углерода (гумуса), так как представляет собой высокостабилизированное соединение.

Исследуемая агродерново-подзолистая почва характеризовалась слабокислой реакцией среды ( $pH_{H_2O}$  6,7), высоким содержанием гумуса (4,45 %), минеральных и органических форм азота (табл. 1).

### 1. Минерализация органического вещества агродерново-подзолистой почвы при разных сроках инкубирования с добавлением биоугля ( $n = 3$ , $M \pm t_{0,05} \times SEM$ )

Вариант опыта	$C_{орг.}, \%$	Формы соединений азота			$C_{орг.}:N_{орг.}$
		$N_{орг.}, \%$	$N-NO_3, \text{ мг/кг}$	$N-NH_4, \text{ мг/кг}$	
Исходная почва	$2,56 \pm 0,05^c$	$0,22 \pm 0,00^c$	$11,2 \pm 0,7^a$	$14,8 \pm 0,6^c$	$11,6 \pm 0,3^a$
0 сут					
Контроль	$2,50 \pm 0,05^{bc}$	$0,21 \pm 0,00^c$	$18,9 \pm 1,5^b$	$10,4 \pm 0,6^d$	$11,9 \pm 0,4^a$
Биоуголь	$2,46 \pm 0,04^b$	$0,21 \pm 0,01^c$	$17,0 \pm 0,6^b$	$9,3 \pm 0,04^c$	$11,7 \pm 0,3^a$
Через 7 сут					
Контроль	$2,48 \pm 0,04^b$	$0,19 \pm 0,01^b$	$17,9 \pm 0,6^b$	$6,8 \pm 0,05^b$	$13,1 \pm 0,2^b$
Биоуголь	$2,22 \pm 0,04^a$	$0,16 \pm 0,01^a$	$12,6 \pm 0,7^a$	$4,7 \pm 0,07^a$	$13,9 \pm 0,4^c$
Через 90-е сут					
Контроль	$2,48 \pm 0,04^b$	$0,19 \pm 0,01^b$	$17,9 \pm 0,6^b$	$6,8 \pm 0,05^b$	$13,1 \pm 0,2^b$
Биоуголь	$2,22 \pm 0,04^a$	$0,16 \pm 0,01^a$	$12,6 \pm 0,7^a$	$4,7 \pm 0,07^a$	$13,9 \pm 0,4^c$

Примечание. Разными буквами обозначены средние значения, статистически значимо различающиеся между собой при  $p < 0,05$  (принадлежность к разным подмножествам).

В процессе инкубации под влиянием биоугля интенсифицировались процессы минерализации органического вещества почвы. К концу эксперимента (90 сут) в почве с биоуглем содержание органических форм азота и углерода было меньше, чем в контроле, соответственно на 16 и 10 %. При этом потеря гумуса в почве с биоуглем за период инкубации составила 0,57 %. Полученные данные согласуются с результатами наших предыдущих исследований по изучению влияния биоугля на содержание гумуса и его фракционно-групповой состав в агродерново-подзолистых супесчаных почвах (21). Таким образом, на основании проведенных краткосрочных (до 90 сут) экспериментов можно констатировать, что инкубирование агродерново-подзолистых почв легкого гранулометрического состава в присутствии биоугля может вызывать их дегумификацию.

Превалирование в ходе инкубации скорости минерализации органических соединений N над таковой органических соединений C приводило к достоверному ( $p < 0,05$ ) увеличению значений C/N в вариантах с биоуглем, то есть степень гумифицированности почвенного органического вещества падала. В контрольной почве минерализация органического вещества сопровождалась уменьшением содержания аммонийного азота и увеличением количества нитратного азота, то есть усилением процесса нитрификации. В почве с биоуглем более резкое по сравнению с контролем снижение содержания  $N-NH_4$  к концу эксперимента (через 90 сут) происходило на фоне неизменного содержания  $N-NO_3$  в сравнении с его стартовыми значениями. Увеличение содержания  $N-NO_3$  в почве с биоуглем, сопоставимое с контролем, регистрировали лишь в начале инкубации (через 7 сут). По-видимому, при длительном компостировании катионы

аммония, образуемые в результате минерализации органического вещества, могут сорбироваться отрицательно заряженными функциональными группами биоугля (6). В результате в почве уменьшалось содержание экстрагируемых форм аммония, а нитрификация лимитировалась количеством субстрата (аммония), доступного нитрифицирующим бактериям.

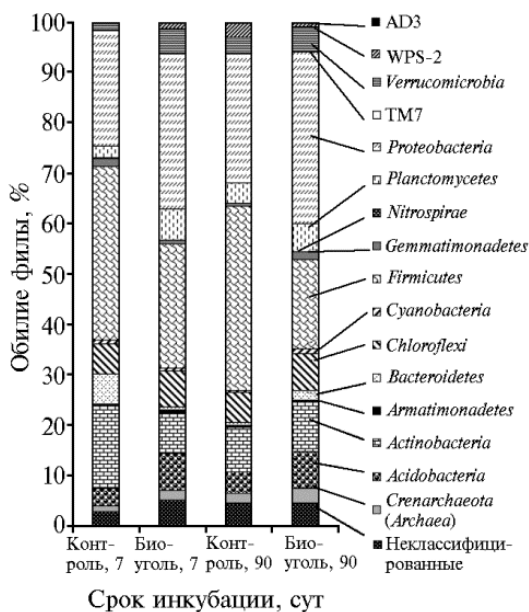
Отмеченные изменения органического вещества почвы протекали сопряжено с трансформацией таксономического состава и структуры прокарриотов.

В результате кластеризации последовательностей варибельного участка гена 16 S рРНК получили 6392 ОТЕ, на основе чего был проведен таксономический анализ имеющихся бактериальных сообществ (табл. 2). По числу ОТЕ существенных различий в структуре бактериальных сообществ в контроле и при добавлении в почву биоугля мы не отмечаем. Индекс Шеннона свидетельствовал об отсутствии различий между вариантами в начале эксперимента, однако к его окончанию при добавлении биоугля он незначительно (на 7,5 %), но достоверно ( $p < 0,05$ ) возрастал, что может указывать на увеличение разнообразия и большую выравненность сообщества под влиянием биоугля.

## 2. Число операционных таксономических единиц (ОТЕ) и выравненность структуры бактериальных сообществ в агродерново-подзолистой почве при разных сроках инкубирования с добавлением биоугля ( $n = 3, M \pm t_{0,05} \times SEM$ )

Показатель	Контроль, 7 сут	Биоуголь, 7 сут	Контроль, 90 сут	Биоуголь, 90 сут
Число ОТЕ	3211 ± 1085 <sup>a</sup>	3710 ± 285 <sup>a</sup>	3335 ± 467 <sup>a</sup>	3498 ± 185 <sup>a</sup>
Индекс Шеннона H	9,49 ± 0,35 <sup>ab</sup>	9,84 ± 0,45 <sup>ab</sup>	9,23 ± 0,20 <sup>b</sup>	9,91 ± 0,11 <sup>a</sup>

Примечание. Разными буквами обозначены средние значения, статистически значимо различающиеся между собой при  $p < 0,05$  (принадлежность к разным подмножествам).



Обилие фил прокарриотных организмов (%) в агродерново-подзолистой почве при разных сроках инкубирования с добавлением биоугля ( $n = 3$ ). Представлены филы, обилие которых хотя бы в одном из вариантов опыта превышает 0,1 %.

Соотношение представленности *Archaea* и *Bacteria* при внесении биоугля существенно не изменилось, отмечалась лишь тенденция к увеличению обилия архей в почве с биоуглем (рис.). Метагеномный анализ прокарриотного сообщества показал, что во всех исследованных образцах доминировали филы *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Chloroflexi*, *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*, в почве, которую компостировали 7 сут без биоугля, кроме того, еще и *Bacteroidetes*

(рис.). Преобладание перечисленных фил в целом характерно для дерново-подзолистых почв, за исключением филы *Planctomycetes*, обычно представленной в этих почвах не столь обильно (34, 35).

После краткосрочной (7 сут) инкубации в почве с биоуглем по сравнению с почвой без него обилие фил *Acidobacteria*, *Verrucomicrobia* и *Planctomycetes* достоверно ( $p < 0,05$ ) возрастало, а фил *Actinobacteria*,

*Nitrospirae*, *Fibrobacteres*, *Gemmatimonadetes* — снижалось. Мы обнаружили существенные изменения и в обилии ряда классов, порядков, семейств и родов, относящихся в основном к филам *Actinobacteria*, *Chloroflexi*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria*, *Firmicutes* (табл. 3). После 90-суточного компостирования различия в составе бактериального сообщества в почве с внесением и без внесения биоугля проявлялись значительно слабее, а изменения в обилии отмечались уже в основном для других таксонов. Так, возросла представленность фил *Proteobacteria*, *Gemmatimonadetes*, *FBP*, но снизилось обилие филы *Firmicutes*.

В настоящее время для разных почв не выявлено единой закономерности воздействия биоугля на обилие бактериальных фил. Например, отмеченное нами в исследуемой почве снижение обилия филы *Actinobacteria* в результате внесения биоугля согласуется с данными других авторов (16). В то же время в некоторых работах описано возрастание обилия этой филы при внесении указанного мелиоранта (14). Также нет единого мнения о воздействии биоугля на обилие в почве представителей фил *Firmicutes* (14, 18, 36), *Verrucomicrobia* (14), *Planctomycetes* (14, 18), *Proteobacteria* (14, 37). Вероятно, трансформация прокариотного сообщества связана опосредованно с изменениями физико-химических свойств почвы при внесении в нее биоугля: рН, сорбционной способности, емкости катионного обмена (4, 37).

### 3. Обилие таксонов прокариот (%) в агродерново-подзолистой почве при разных сроках инкубирования с добавлением биоугля (n = 3)

Название таксона	Контроль, 7 сут	Биоуголь, 7 сут	Контроль, 90 сут	Биоуголь, 90 сут
Ф и л а				
<i>Actinobacteria</i>	16,29 <sup>a</sup>	8,20 <sup>b</sup>	9,10 <sup>b</sup>	9,90 <sup>b</sup>
<i>Firmicutes</i>	34,35 <sup>a</sup>	24,41 <sup>ab</sup>	29,20 <sup>a</sup>	17,50 <sup>b</sup>
FBP	0,05 <sup>b</sup>	0,05 <sup>b</sup>	0,03 <sup>b</sup>	0,12 <sup>a</sup>
<i>Fibrobacteres</i>	0,03 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	0,01 <sup>b</sup>	0,13 <sup>ab</sup>
<i>Gemmatimonadetes</i>	1,6 <sup>a</sup>	0,84 <sup>b</sup>	0,62 <sup>b</sup>	1,64 <sup>a</sup>
<i>Nitrospirae</i>	0,15 <sup>a</sup>	0,03 <sup>b</sup>	0,01 <sup>b</sup>	0,01 <sup>b</sup>
<i>Planctomycetes</i>	2,28 <sup>b</sup>	5,98 <sup>a</sup>	4,20 <sup>ab</sup>	5,56 <sup>ab</sup>
<i>Proteobacteria</i>	22,81 <sup>b</sup>	30,83 <sup>ab</sup>	26,22 <sup>b</sup>	33,83 <sup>a</sup>
<i>Verrucomicrobia</i>	1,50 <sup>b</sup>	5,00 <sup>a</sup>	3,35 <sup>ab</sup>	4,88 <sup>ab</sup>
К л а с с				
Sva0725	1,11 <sup>a</sup>	0,18 <sup>b</sup>	0,04 <sup>b</sup>	0,07 <sup>b</sup>
TM1	0,001 <sup>b</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,02 <sup>a</sup>	0,02 <sup>a</sup>
[ <i>Chloracidobacteria</i> ]	0,90 <sup>a</sup>	0,07 <sup>b</sup>	0,06 <sup>b</sup>	0,02 <sup>b</sup>
DA052	0,007 <sup>b</sup>	1,01 <sup>a</sup>	0,44 <sup>a</sup>	0,91 <sup>a</sup>
<i>Actinobacteria</i>	11,02 <sup>a</sup>	3,29 <sup>c</sup>	3,91 <sup>bc</sup>	4,90 <sup>b</sup>
<i>Nitriliruptoria</i>	0,01 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>
<i>Sphingobacteriia</i>	1,93 <sup>a</sup>	0,17 <sup>b</sup>	0,15 <sup>b</sup>	0,72 <sup>a</sup>
<i>Chloroflexi</i>	0,85 <sup>a</sup>	0,03 <sup>b</sup>	0,02 <sup>b</sup>	0,01 <sup>b</sup>
<i>Ktedonobacteria</i>	0,07 <sup>b</sup>	4,08 <sup>a</sup>	4,13 <sup>a</sup>	4,5 <sup>a</sup>
TK10	0,41 <sup>c</sup>	1,72 <sup>a</sup>	0,96 <sup>bc</sup>	1,45 <sup>b</sup>
<i>Bacilli</i>	33,38 <sup>a</sup>	21,00 <sup>b</sup>	24,93 <sup>b</sup>	15,05 <sup>c</sup>
<i>Planctomycetia</i>	1,68 <sup>b</sup>	5,08 <sup>a</sup>	3,61 <sup>ab</sup>	4,41 <sup>ab</sup>
П о р я д о к				
RB41	0,90 <sup>a</sup>	0,07 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,02 <sup>b</sup>
<i>Actinomycetales</i>	11,01 <sup>a</sup>	3,29 <sup>c</sup>	3,90 <sup>bc</sup>	4,90 <sup>b</sup>
KD8-87	0,5 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>
<i>Thermogemmatisporales</i>	0,004 <sup>c</sup>	1,04 <sup>b</sup>	1,05 <sup>ab</sup>	2,21 <sup>a</sup>
AKYG1722	0,35 <sup>a</sup>	0,001 <sup>b</sup>	0,004 <sup>b</sup>	0,004 <sup>b</sup>
JG30-KF-AS9	0,01 <sup>b</sup>	0,97 <sup>a</sup>	1,22 <sup>a</sup>	0,56 <sup>a</sup>
<i>Nitrospirales</i>	0,15 <sup>b</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,02 <sup>a</sup>	0,01 <sup>a</sup>
<i>Rhizobiales</i>	4,51 <sup>b</sup>	9,72 <sup>a</sup>	7,90 <sup>ab</sup>	11,79 <sup>a</sup>
<i>Rhodospirillales</i>	1,34 <sup>b</sup>	3,67 <sup>a</sup>	3,18 <sup>ab</sup>	4,37 <sup>a</sup>
Ellin6067	0,06 <sup>b</sup>	0,43 <sup>a</sup>	0,30 <sup>ab</sup>	0,19 <sup>ab</sup>
<i>Myxococcales</i>	2,12 <sup>ab</sup>	2,68 <sup>ab</sup>	1,80 <sup>b</sup>	2,97 <sup>a</sup>
<i>Spirobacillales</i>	0,31 <sup>a</sup>	0,02 <sup>b</sup>	0,04 <sup>b</sup>	0,04 <sup>b</sup>
<i>Pseudomonadales</i>	0,44 <sup>a</sup>	0,04 <sup>b</sup>	0,04 <sup>ab</sup>	0,02 <sup>ab</sup>
<i>Xanthomonadales</i>	2,23 <sup>b</sup>	2,35 <sup>b</sup>	2,02 <sup>b</sup>	3,23 <sup>a</sup>

	Семейство			
<i>Actinospicaceae</i>	0,001 <sup>b</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>
<i>Dermabacteraceae</i>	0,05 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>
<i>Dermacoccaceae</i>	0 <sup>b</sup>	0,01 <sup>b</sup>	0,13 <sup>a</sup>	0,02 <sup>b</sup>
<i>Intrasporangiaceae</i>	0,29 <sup>a</sup>	0,06 <sup>b</sup>	0,04 <sup>b</sup>	0,04 <sup>b</sup>
<i>Microbacteriaceae</i>	1,86 <sup>a</sup>	0,16 <sup>b</sup>	0,43 <sup>b</sup>	0,14 <sup>b</sup>
<i>Nakamurellaceae</i>	0,07 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,03 <sup>b</sup>	0,07 <sup>a</sup>
<i>Propionibacteriaceae</i>	0,02 <sup>a</sup>	0,001 <sup>b</sup>	0,004 <sup>ab</sup>	0,01 <sup>ab</sup>
<i>Chthonomonadaceae</i>	0,01 <sup>b</sup>	0,17 <sup>a</sup>	0,16 <sup>ab</sup>	0,09 <sup>ab</sup>
<i>Gemmataceae</i>	0,07 <sup>b</sup>	1,71 <sup>a</sup>	0,94 <sup>ab</sup>	1,47 <sup>ab</sup>
<i>Burkholderiaceae</i>	0,08 <sup>c</sup>	0,70 <sup>b</sup>	0,49 <sup>b</sup>	1,21 <sup>a</sup>
<i>Comamonadaceae</i>	0,88 <sup>a</sup>	0,23 <sup>b</sup>	0,22 <sup>b</sup>	0,26 <sup>b</sup>
<i>Coxiellaceae</i>	0,08 <sup>b</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,27 <sup>ab</sup>	0,14 <sup>ab</sup>
<i>Xanthomonadaceae</i>	1,80 <sup>a</sup>	0,56 <sup>b</sup>	1,04 <sup>ab</sup>	1,52 <sup>a</sup>
[ <i>Chthoniobacteraceae</i> ]	0,42 <sup>b</sup>	3,88 <sup>ab</sup>	2,72 <sup>b</sup>	3,96 <sup>a</sup>
		Род		
<i>Actinotalea</i>	0,22 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	0,002 <sup>b</sup>	0,01 <sup>b</sup>
<i>Brachybacterium</i>	0,05 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>
<i>Agrococcus</i>	0,11 <sup>a</sup>	0,001 <sup>b</sup>	0,004 <sup>b</sup>	0,003 <sup>b</sup>
<i>Actinoplanes</i>	0,15 <sup>a</sup>	0,02 <sup>b</sup>	0,02 <sup>b</sup>	0,05 <sup>ab</sup>
<i>Catellatospora</i>	0,03 <sup>a</sup>	0,001 <sup>b</sup>	0,01 <sup>b</sup>	0,004 <sup>b</sup>
<i>Pontibacter</i>	0,03 <sup>a</sup>	0,001 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>
<i>Dyadobacter</i>	0,06 <sup>a</sup>	0,001 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0,02 <sup>ab</sup>
<i>Ammoniphilus</i>	1,05 <sup>a</sup>	0,21 <sup>b</sup>	0,27 <sup>b</sup>	0,29 <sup>b</sup>
<i>Coprococcus</i>	0,03 <sup>b</sup>	0,03 <sup>b</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,02 <sup>b</sup>
<i>Symbiobacterium</i>	0,03 <sup>a</sup>	0,01 <sup>b</sup>	0,01 <sup>b</sup>	0,01 <sup>b</sup>
<i>Gemmata</i>	0,02 <sup>b</sup>	0,49 <sup>a</sup>	0,28 <sup>ab</sup>	0,54 <sup>a</sup>
<i>Nostocoida</i>	0 <sup>b</sup>	0,0006 <sup>a</sup>	0,0004 <sup>a</sup>	0,0004 <sup>ab</sup>
<i>Asticcacaulis</i>	0,02 <sup>ab</sup>	0,01 <sup>b</sup>	0,01 <sup>b</sup>	0,06 <sup>a</sup>
<i>Devosia</i>	1,17 <sup>a</sup>	0,10 <sup>b</sup>	0,16 <sup>b</sup>	0,26 <sup>b</sup>
<i>Hyphomicrobium</i>	0,11 <sup>b</sup>	0,29 <sup>a</sup>	0,20 <sup>ab</sup>	0,35 <sup>a</sup>
<i>Sphingomonas</i>	0,37 <sup>a</sup>	0,01 <sup>b</sup>	0,13 <sup>b</sup>	0,25 <sup>a</sup>
<i>Burkholderia</i>	0,02 <sup>c</sup>	0,66 <sup>b</sup>	0,47 <sup>b</sup>	1,16 <sup>a</sup>
<i>Methylibium</i>	0,05 <sup>a</sup>	0,01 <sup>b</sup>	0,02 <sup>b</sup>	0,01 <sup>b</sup>
<i>Janthinobacterium</i>	0,01 <sup>b</sup>	0,02 <sup>ab</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,01 <sup>b</sup>
<i>Pseudomonas</i>	0,07 <sup>a</sup>	0,01 <sup>b</sup>	0,01 <sup>b</sup>	0,01 <sup>b</sup>
<i>Rhodanobacter</i>	0,25 <sup>a</sup>	0,06 <sup>b</sup>	0,25 <sup>a</sup>	0,26 <sup>ab</sup>
<i>Pedospaera</i>	0,001 <sup>b</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,02 <sup>ab</sup>	0,03 <sup>ab</sup>

Примечание. Приведены таксоны, для которых хотя бы в один из сроков отмечали достоверные различия в обилии таксонов. Разными буквами обозначены средние значения, статистически значимо различающиеся между собой при  $p < 0,05$  (принадлежность к разным подмножествам).

В целом можно отметить, что в исследованной почве в результате внесения биоугля на 7-е сут достоверно возросло обилие олиготрофных бактерий — фил FBP, *Verrucomicrobia* (более чем втрое), *Planctomycetes* (более чем вдвое). Существенно увеличилась представленность олиготрофных бактерий родов *Hyphomicrobium* (7 сут инкубации) и *Asticcacaulis* (90 сут инкубации). В то же время достоверно ( $p < 0,05$ ) снизилось обилие бактерий фил *Actinobacteria* (7 сут инкубации) и *Firmicutes* (90 сут инкубации), представители которых являются копиотрофами либо гидролитиками, способными существовать в условиях высоких концентраций питательных веществ. В частности, сократилось обилие класса *Bacilli*, включающего активных почвенных копиотрофов. Таким образом, внесение биоугля создало более благоприятные условия для бактерий, не способных выживать при высокой концентрации доступных органических соединений. Бактерии, хорошо растущие на богатых питательных средах (*Actinobacteria*, *Bacilli*), напротив, были несколько угнетены. Возможно, причина в том, что легкодоступное органическое вещество сорбируется на внесенном биоугле, как следствие, концентрация органических соединений в почвенном растворе снижается, что создает преимущества для более олиготрофных бактерий.

Помимо отмеченных изменений, внесение биоугля вызвало быстрое и значительное (в 5 раз) сокращение обилия бактерий филы *Nitrospirae*, представленной в исследуемой почве в основном бактериями-нитрифика-

торами рода *Nitrospira*, что согласуется с подавлением нитрификации, наблюдаемым в этой почве при внесении биоугля (см. табл. 1).

Заметная перестройка произошла и в сообществе почвенных гидролитиков. Уже после краткой инкубации в почве с биоуглем по сравнению с контролем снизилось обилие фило *Actinobacteria*, чьи представители являются деструкторами многих трудногидролизующих органических веществ. В то же время в тех же условиях увеличилась представленность порядка *Mucococcales* — активных гидролитиков трудноразлагаемых полимеров — и возросло обилие класса *Sphingobacteriia*, представители которого также известны как целлюлозолитики (38, 39). Кроме того, существенно повысилась доля представителей порядка *Xanthomonadales*, семейства *Burkholderiaceae* (на 7-е сут почти на порядок) и рода *Asticcacaulis*, которые, как недавно было показано, участвуют в разложении целлюлозы или продуктов ее деструкции (38). Следовательно, в изученных образцах почвы при внесении биоугля возросла представленность нескольких групп бактерий, ответственных за гидролиз труднодоступных для деструкции органических веществ.

Итак, с помощью методов метагеномного анализа показано, что внесение биоугля достаточно быстро приводит к изменениям в составе прокариотного сообщества агродерново-подзолистой почвы. Кардинальной перестройки сообщества мы не наблюдали, но доля олиготрофных бактерий возрастала, копиотрофов — снижалась, кроме того, были отмечены модификации в структуре сообщества гидролитиков. Последним, вероятно, объясняется выявленная нами интенсивная трансформация органических веществ в исследованной почве под влиянием биоугля. Безусловно, изучение структурных преобразований микробиоты, сопровождающих такую трансформацию, чрезвычайно интересно как частный случай изменений микробиоценоза, связанных с процессами гумификации и дегумификации почв. Этот вопрос нуждается в изучении, поскольку именно деятельность конкретных микроорганизмов приводит к интенсификации этих процессов и определяет их соотношение, напрямую влияющее на уровень почвенного плодородия и экологическую устойчивость агроценоза.

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет,

199034 Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9,  
e-mail: norlova48@mail.ru ☒, orlova55@mail.ru, bankinaagro@mail.ru;  
yakkonen@mail.ru;

<sup>2</sup>ФГБНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии,

196608 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин, ш. Подбельского, 3,  
e-mail: shahnazarova-v@mail.ru, 2014arki@gmail.com;

<sup>3</sup>ФГБНУ Агрофизический научно-исследовательский институт,

195220 Россия, г. Санкт-Петербург, Гражданский просп., 14,  
e-mail: alen\_rizh@mail.ru

Поступила в редакцию  
30 сентября 2019 года

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2020, V. 55, № 1, pp. 163–173

## INFLUENCE OF BIOCHAR ON THE TAXONOMIC COMPOSITION AND STRUCTURE OF PROKARYOTIC COMMUNITIES IN AGRO SODDY-PODZOLIC SOIL

*V. Yu. Shahnazarova*<sup>1, 2</sup>, *N. E. Orlova*<sup>1</sup>, *E. E. Orlova*<sup>1</sup>, *T. A. Bankina*<sup>1</sup>, *K. L. Yakkonen*<sup>1</sup>,  
*E. Ya. Rizhiya*<sup>3</sup>, *A. A. Kichko*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Saint Petersburg State University*, 7/9, Universitetskaya nab., St. Petersburg, 199034 Russia, e-mail norlova48@mail.ru (☒ corresponding author), orlova55@mail.ru, bankinaagro@mail.ru, yakkonen@mail.ru;



<sup>2</sup>All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, 3, sh. Podbel'skogo, St. Petersburg, 196608 Russia, e-mail shahnazarova-v@mail.ru, 2014arki@gmail.com;

<sup>3</sup>Agrophysical Research Institute, 14, Grazhdanskii prosp., St. Petersburg, 195220 Russia, e-mail alen\_rizh@mail.ru  
ORCID:

Shahnazarova V.Yu. orcid.org/0000-0001-9933-7591

Yakkonen K.L. orcid.org/0000-0002-9745-1654

Orlova N.E. orcid.org/0000-0002-6768-377X

Rizhiya E.Ya. orcid.org/0000-0001-7920-867X

Bankina T.A. orcid.org/0000-0002-6505-3467

Kichko A.A. orcid.org/0000-0002-8482-6226

Orlova E.E. orcid.org/0000-0001-9438-3812

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

The research was carried out using the equipment of the ARRIAM Center for Genomic Technologies, Proteomics, and Cell Biology.

Supported financially by Russian Foundation for Basic Research (project No. 18-016-00208a "The effect of biochar on biochemical and microbiological processes of the soil organic matter transformation")

Received September 30, 2019

doi: 10.15389/agrobiology.2020.1.163eng

## Abstract

Currently the scientific literature is actively discussing the feasibility of biochar using in agriculture. Biochar is one of the new types of organic meliorants. It is obtained by pyrolysis of wood or other plant waste in an inert atmosphere converting carbon compounds to a stable state. Its use is recommended to increase the soils biological activity and the agricultural crops productivity and it is actively implement in agricultural technologies of foreign countries. However many aspects of the biochar influence on the agrocenoses properties and state have been poorly studied. There is information about both positive and negative processes occurring in soils under biochar. The main concern is the data on the biochar influence on humus mineralization, since dehumification can lead to loss of soil fertility and ecological stability. This is especially important for soddy-podzolic soils characterized by a low humus content and a weak degree of humification. Such soils initially have low ecological stability and are quite vulnerable to human impact. Therefore using soddy-podzolic soils in agriculture considerable attention should be paid to the microbiological and biochemical transformation of soil organic matter. Studies on the biochar influence on the soil microbiota composition and state in our country are isolated, and for soddy-podzolic soils of the North-Western region of Russia are conducted for the first time. The aim of this work was to assess the influence of biochar on the features of the agro-soddy-podzolic soils prokaryotic community. The research was carried out in incubation experiments on well-cultivated agro-soddy-podzolic sandy loam soil of the Leningrad region. The biochar was produced by fast pyrolysis of birch and aspen wood at 550 °C. Its concentration in the experiment was 1%. The incubation time was 7 and 90 days. The repeat of the variants of the experiment was 3-fold. The content of total organic carbon and nitrogen, mineral forms of nitrogen, and soil suspension pH were determined in soil samples using methods commonly used in agrochemical practice. The method of sequencing the variable region of the 16S rRNA gene was used to determine the taxonomic composition of soil prokaryotes. The sequence clustering and the taxonomic identification of the taxonomic units (OTU, Operational Taxonomic Unit) were performed using the QIIME program. The diversity and evenness of agro-soddy-podzolic soil bacterial communities was estimated by the OTU number and Shannon index. Statistical data processing was performed using IBM SPSS Statistics, Version 25 (IBM" USA). The reliability of the differences between the variants was measured by one-factor variance analysis using the Duncan's or Student-Newman-Keuls trest at  $p < 0.05$ . The intensification of the processes of mineralization of soil organic matter occurred under biochar. The humus content in the soil decreased from 4.41 to 3.83 % which is 11 % more than in the control during the observation period. Activation of organic matter transformation processes took place simultaneously with changes in the state of the prokaryotic community. This community was represented mainly by the bacteria phyla *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Chloroflexi*, *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*. The biochar application was accompanied by an increase in the total bacteria diversity and by the abundance of phyla *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*, *Proteobacteria* and *FBP* representatives but also by a decrease in the abundance of phyla *Actinobacteria*, *Nitrospirae*, *Firmicutes* and *Fibrobacteres* representatives. In general biochar application leads to increase in the oligotrophs abundance and to reduce the copiotrophic proportion in prokaryotic community. The inhibition of bacteria from phylum *Nitrospirae* can be explained by a decrease in the concentration of available ammonium. In addition biochar application leads to increase in the abundance of some taxa containing active hydrolytics of natural polymers (orders *Myxococcales* and *Xanthomonadales*, class *Sphingobacteriia* etc.). Most likely this is due to the intensification of the difficult mobilizing organic substances transformation in agro-soddy-podzolic soils under biochar.

Keywords: sequencing, structure of microbocenosis, bacteria, prokaryotes, biochar, soddy-podzolic soil, fertility.

## REFERENCES

1. Glaser B., Lehmann J., Zech W. Ameliorating physical and chemical properties of highly

- weathered soils in the tropics with charcoal — a review. *Biology and Fertility of Soils*, 2002, 35: 219-230 (doi: 10.1007/s00374-002-0466-4).
2. Lehmann J., da Silva Jr. J.P., Steiner C., Nehls T., Zech W., Glaser B. Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments. *Plant and Soil*, 2003, 249(7): 343-357 (doi: 10.1023/A:1022833116184).
  3. Yamato M., Okimori Y., Wibowo I.F., Anshori S., Ogawa M. Effects of the application of charred bark of *Acacia mangium* on the yield of maize, cowpea and peanut, and soil chemical properties in South Sumatra, Indonesia. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2006, 52: 489-495 (doi: 10.1111/j.1747-0765.2006.00065.x).
  4. *Agricultural and environmental applications of biochar: advances and barriers*. SSSA Spec. Publ. 63. M. Guo, Z. He, S.M. Uchimiya (eds.). SSSA, Madison, WI, 2016 (doi: 10.2136/sssaspecpub63.frontmatter).
  5. Zama E.F., Reid B.J., Arp H.P.H., Sun G.-X., Yuan H.-Y., Zhu Y.-G. Advances in research on the use of biochar in soil for remediation: a review. *Journal of Soils Sediments*, 2018, 18(7): 2433-2450 (doi: 10.1007/s11368-018-2000-9).
  6. Amonette J.E., Joseph S. Characteristics of biochar: microchemical properties. In: *Biochar for environmental management: science and technology*. J. Lehmann, S. Joseph (eds.). Earthscan, London-Sterling, VA, 2009: 33-52.
  7. Liu Y., Wang Y., Lu H., Lonappan L., Brar S.K., He L., Chen J., Yang S. Biochar application as a soil amendment for decreasing cadmium availability in soil and accumulation in *Brassica chinensis*. *J. Soils Sediments*, 2018, 18(7): 2511-2519 (doi: 10.1007/s11368-018-1927-1).
  8. Ippolito J.A., Laird D.A., Busscher W.J. Environmental benefits of biochar. *J. Environ. Qual.*, 2012, 41(4): 967-972 (doi: 10.2134/jeq2012.0151).
  9. Biederman L.A., Harpole W.S. Biochar and its effects on plant productivity and nutrient cycling: a meta-analysis. *GCB Bioenergy*, 2013, 5(2): 202-214 (doi: 10.1111/gcbb.12037).
  10. González J.F., Román S., Encinar J.M., Martínez G. Pyrolysis of various biomass residues and char utilization for the production of activated carbons. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2009, 85(1-2): 134-141 (doi: 10.1016/j.jaap.2008.11.035).
  11. Keiluweit M., Nico P.S., Johnson M.G., Kleber M. Dynamic molecular structure of plant biomass-derived black carbon (biochar). *Environ. Sci. Technol.*, 2010, 44(4): 1247-1253 (doi: 10.1021/es9031419).
  12. Lehmann J., Joseph S. Biochar for environmental management: an introduction. In: *Biochar for environmental management: science and technology*. J. Lehmann, S. Joseph (eds.). Earthscan, London-Sterling, VA, 2009: 1-12.
  13. Verheijen F., Jeffery S., Bastos A., Velde M., Diafas I. *Biochar application to soils, a critical scientific review of effects on soil properties, processes and functions*. EUR 24099—En. European Commission, Luxembourg, 2010 (doi: 10.2788/472).
  14. Xu N., Tan G., Wang H., Gai X. Effect of biochar additions to soil on nitrogen leaching, microbial biomass and bacterial community structure. *European Journal of Soil Biology*, 2016, 74: 1-8 (doi: 10.1016/j.ejsobi.2016.02.004).
  15. Xu M., Xia H., Wu J., Yang G., Zhang X., Peng H., Yu X., Li L., Xiao H., Qi H. Shifts in the relative abundance of bacteria after wine-lees-derived biochar intervention in multi metal-contaminated paddy soil. *Science of the Total Environment*, 2017, 599-600: 1297-1307 (doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.05.086).
  16. Gao L., Rui W., Shen G., Zhang J., Meng G., Zhang J. Effects of biochar on nutrients and the microbial community structure of tobacco-planting soils. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2017, 17(4): 884-896 (doi: 10.4067/S0718-95162017000400004).
  17. Jenkins R.J., Viger M., Arnold E.C., Harris Z.M., Ventura M., Miglietta F., Girardin C., Edwards R.J., Rumpel C., Fornasier F., Zavalloni C., Tonon G., Alberti G., Taylor G. Biochar alters the soil microbiome and soil function: results of next-generation amplicon sequencing across Europe. *GCB Bioenergy*, 2017, 9(3): 591-612 (doi: 10.1111/gcbb.12371).
  18. Awasthi M.K., Li J., Kumar S., Awasthi S.K., Wang Q., Chen H., Wang M., Ren X., Zhang Z. Effects of biochar amendment on bacterial and fungal diversity for co-composting of gelatin industry sludge mixed with organic fraction of municipal solid waste. *Bioresource Technology*, 2017, 246: 214-223 (doi: 10.1016/j.biortech.2017.07.068).
  19. Mueller C.W., Koegel-Knabner I. Soil organic carbon stocks, distribution, and composition affected by historic land use changes on adjacent sites. *Biol. Fertil. Soils*, 2009, 45(4): 347-359 (doi: 10.1007/s00374-008-0336-9).
  20. Sohi S.P., Krull E., Lopez Capel E., Bol R. Chapter 2 — A review of biochar and its use and function in soil. In: *Advances in Agronomy, Vol. 105*. D.L. Sparks (ed.). Academic Press, 2010: 47-82 (doi: 10.1016/S0065-2113(10)05002-9).
  21. Lehmann J., Rillig M.C., Thies J., Masiello C.A., Hockaday W.C., Crowley D. Biochar effects on soil biota — a review. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(9): 1812-1836 (doi: 10.1016/j.soilbio.2011.04.022).
  22. Birk J.J., Steiner C., Teixeira W.C., Zech W., Glaser B. Microbial response to charcoal

- amendments and fertilization of a highly weathered tropical soil. In: *Amazonian dark earths: Wim Sombroek's vision*. W.I. Woods, W.G. Teixeira, J. Lehmann, C. Steiner, A. WinklerPrins, L. Rebellato (eds.). Springer, Dordrecht, 2009: 309-324 (doi: 10.1007/978-1-4020-9031-8\_16).
23. Bailey V.L., Fansler S.J., Smith J.L., Bolton H. Jr. Reconciling apparent variability in effects of biochar amendment on soil enzyme activities by assay optimization. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(2): 296-301 (doi: 10.1016/j.soilbio.2010.10.014).
  24. Dempster D., Gleeson D., Solaiman Z., Jones D. L., Murphy D. Biochar addition to soil changed microbial community structure and decreased microbial biomass carbon and net inorganic nitrogen mineralised. In: *Soil solutions for a changing world* /R. Gilkes, N. Prakongkep (eds.). Brisbane, 2010, Vol. 2.2.1: 9-12.
  25. Lehmann J., Czimczik C., Laird D., Sohi S. Stability of biochar in soil. In: *Biochar for environmental management: science and technology*. J. Lehmann, S. Joseph (eds.). Earthscan, London-Sterling, VA, 2009: 183-206.
  26. Kuzyakov Y., Bogomolova I., Glaser B., Biochar stability in soil: decomposition during eight years and transformation as assessed by compound-specific <sup>14</sup>C analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 70: 229-236 (doi: 10.1016/j.soilbio.2013.12.021).
  27. Luo Y., Zang H., Yu Z., Chen Z., Gunina A., Kuzyakov Y., Xu J., Zhang K., Brookes P. Priming effects in biochar enriched soils using a three-source-partitioning approach: <sup>14</sup>C labelling and <sup>13</sup>C natural abundance. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 106: 28-35 (doi: 10.1016/j.soilbio.2016.12.006).
  28. Orlova N., Abakumov E., Orlova E., Yakkonen K., Shahnazarova V. Soil organic matter alteration under biochar amendment practice: study on the Podzol soils of the Leningrad region (Russia). *J. Soils Sediments*, 2019, 19(6): 2708-2716 (doi: 10.1007/s11368-019-02256-z).
  29. Orlova N.E., Orlova E.E., Bankina T.A. V sbornike: *Pochvy v biosphere* [In: Soils in the biosphere]. Tomsk, 2018: 113-115 (in Russ.).
  30. Kreier K.G., Bankina T.A., Orlova N.E., Yur'eva G.M. *Praktikum po agrokhimicheskomu analizu pochvy* [Workshop on agrochemical soil analysis]. St. Petersburg, 2005 (in Russ.).
  31. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina Sequence Data. *Bioinformatics*, 2014, 30(15): 2114-2120 (doi: 10.1093/bioinformatics/btu170).
  32. Caporaso J.G., Kuczynski J., Stombaugh J., Bittinger K., Bushman F.D., Costello E.K., Fierer N., Gonzalez Peña A., Goodrich J.K., Gordon J.I., Huttley G.A., Kelley S.T., Knights D., Koenig J.E., Ley R.E., Lozupone C.A., McDonald D., Muegge B.D., Pirrung M., Reeder J., Sevinsky J.R., Turnbaugh P.J., Walters W.A., Widmann J., Yatsunenko T., Zaneveld J., Knight R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 2010, 7(5): 335-336 (doi: 10.1038/nmeth.f.303).
  33. Chernov T.I., Tkhakakhova A.K., Kutovaya O.D. Otsenka razlichnykh indeksov raznoobraziya dlya kharakteristiki pochvennogo prokariotnogo soobshchestva po dannym metagenomnogo analiza. *Pochvovedenie*, 2015, 4: 462-468 (doi: 10.7868/S0032180X15040036).
  34. Chernov T.I., Tkhakakhova A.K., Zhelezova A.D., Kutovaya O.D. V sbornike: *Osnovnye dostizheniya i perspektivy pochvennoi metagenomiki* [In: Main achievements and prospects of soil metagenomics]. St. Petersburg, 2017: 68-87 (in Russ.).
  35. Filippova V.A., Andronov Yu.V., Andronov E.E. Phylogenetic structure of community of procarionts of soddy-podzolic soil under the cover of winter rye is not influenced by agrotechnics. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2018, 53(5): 994-1003 (doi: 10.15389/agrobiol.2018.5.994eng).
  36. Sheng Y., Zhu L. Biochar alters microbial community and carbon sequestration potential across different soil pH. *Science of the Total Environment*, 2018, 622-623: 1391-1399 (doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.11.337).
  37. Abujabhah I.S., Bound S.A., Doyle R., Bowman J.P. Effects of biochar and compost amendments on soil physico-chemical properties and the total community within a temperate agricultural soil. *Applied Soil Ecology*, 2016, 98: 243-253 (doi: 10.1016/j.apsoil.2015.10.021).
  38. Eichorst S.A., Kuske C.R. Identification of cellulose-responsive bacterial and fungal communities in geographically and edaphically different soils by using stable isotope probing. *Applied Environment Microbiology*, 2012, 78(7): 2316-2327 (doi: 10.1128/AEM.07313-11).
  39. Prasad S., Manasa B.P., Buddhi S., Pratibha M.S., Begum Z., Bandi S., Tirunagari P., Shiva-ji S. *Arcticibacter svalbardensis* gen. nov., sp. nov., of the family *Sphingobacteriaceae* in the phylum *Bacteroidetes*, isolated from Arctic soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2013, 63(5):1627-1632 (doi: 10.1099/ij.s.0.044420-0).