

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УДОБРЕНИЙ НА МИКРОБИОМ ЯБЛОНИ МЕТОДОМ ДНК-МЕТАБАРКОДИНГА

© 2023 г. П. А. Зайцев^{1,2,3,*}, А. И. Кузин^{2,4}, Б. М. Шурыгин^{1,2}, Е. В. Скрипникова²,
С. А. Карпухина⁴, А. А. Зайцева¹, А. Е. Соловченко^{1,2}

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Институт естествознания, Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина, Тамбов, Россия

³Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва, Россия

⁴Федеральный научный центр им. И.В. Мичурина, Мичуринск, Россия

*E-mail: zaytseva@my.msu.ru

Поступила в редакцию 08.11.2022 г.

После доработки 17.12.2022 г.

Принята к публикации 19.02.2023 г.

Биоразнообразие микробиома почвы и его стабильность имеют ключевое значение для сохранения почвенного плодородия в агроэкосистемах. Интенсивные технологии возделывания промышленных садов требуют внесения высоких норм минеральных удобрений, что негативно сказывается на состоянии почвы. В настоящее время получают распространение биопрепараты, корректирующие функциональную активность биоты почвы и повышающие биодоступность элементов минерального питания, в том числе вносимых с традиционными удобрениями. Оценить фактическое влияние различных агротехнологических практик на структуру микробиома почвы позволяют современные подходы, основанные на использовании ДНК-метабаркодинга. На примере интенсивных яблоневых садов исследовано влияние внесения минеральных удобрений (МУ), а также минеральных удобрений в комбинации с биопрепаратом “Байкал ЭМ1” (МУ + Б) на микробиом почвы, ризосферы и надземной части растения (лист и побег). Внесение МУ вызывало существенные изменения микробиома почвы. При дополнительном внесении биопрепарата данные изменения были менее выражены, а структура микробиома почвы и ризосферы в этом варианте была близкой к таковой интактной почвы. Несмотря на снижение дозы МУ в комбинации с биопрепаратом, в этом варианте не наблюдали снижения содержания основных элементов минерального питания в растениях, а прирост урожайности был сопоставимым с таковым, наблюдаемым при использовании исключительно МУ. Обсуждаются перспективы применения ДНК-метабаркодинга для оценки влияния биопрепаратов на почвенный микробиом агроэкосистем.

DOI: 10.56304/S1992722323030159

ВВЕДЕНИЕ

Микроорганизмы и их активность – один из ключевых факторов, обеспечивающих сбалансированное функционирование экосистем, включая круговорот минеральных веществ, образование и деструкцию органических компонентов. Знание структурных и функциональных аспектов микробных сообществ особенно важно для обеспечения стабильности агроэкосистем [1]. Для агробиотехнологии большое значение имеют микробные сообщества, населяющие разные ниши данных экосистем. К ним относятся микробные сообщества почвы, а также сообщества, населяющие эдасферу: прикорневой слой почвы – ризосферу, и надземные органы растения – филлосферу. Биоразнообразие микробиома почвы и его стабильность важны для сохранения почвенного плодородия, в том числе в агроэкосистемах, под-

вергающихся высокой нагрузке из-за использования в современном растениеводстве интенсивных технологий возделывания [2]. Ризобиом важен для формирования иммунитета растения к почвенным фитопатогенам, влияет он и на продуктивность сельскохозяйственных культур, обмениваясь с растениями метаболически-значимыми субстратами и сигнальными молекулами [3]. Микробные сообщества филлосферы также могут иметь большое значение для жизнедеятельности растений, так как составляющие их микроорганизмы способны обеспечивать до 10% потребности растения в макроэлементах и до 80–90% – в микроэлементах [4]. Применение интенсивных технологий возделывания требует регулярного внесения высоких норм минеральных удобрений (МУ), что со временем ухудшает состояние агробиоценоза в целом и снижает видовое богатство

его микробиома [5]. Уменьшить деградацию почвы путем снижения доз МУ невозможно из-за риска снижения урожайности. Однако в последнее время получают распространение биоудобрения [2] и биопрепараты на основе культур микроорганизмов, повышающих биодоступность элементов минерального питания, в том числе вносимых с традиционными МУ [6].

Оценить как позитивное, так и негативное влияние различных агротехнологических практик на микробиом почвы позволяют современные методы метагеномного секвенирования, которые можно подразделить на секвенирование полного метагенома методом “дробовика” и секвенирование ампликонов генетических баркодов (ДНК-метабаркодинг) [7]. Для изучения таксономического состава микробиома более оправданным с точки зрения материальных затрат и сложности обработки данных является ДНК-метабаркодинг [1]. Этот метод позволяет получать подробные количественные данные о состоянии микробиома: проводить оценку биоразнообразия [8], выявлять таксономические группы с доминирующим вкладом в определенные процессы [9], судить о трансформации (реальной или потенциальной) функционального профиля микробного сообщества [10]. Особый интерес представляет выявление скрытого микробного биоразнообразия, роль которого в стабильности агроэкосистем до сих пор не вполне ясна. Изучение микробиома различных биотопов агроэкосистем, включая ризосферу и филлосферу, имеет большое значение для разработки новых стратегий повышения продуктивности и защиты растений, наносящих меньше вреда окружающей среде [11]. Однако уверенная интерпретация результатов метабаркодинга в контексте оценки состояния промышленных насаждений культурных растений часто ограничивается недостатком независимо полученных данных, например о биохимическом составе растений и (или) урожайности.

Широко распространенным препаратом на современном рынке микробиологических удобрений является “Байкал ЭМ1”. Рынок микробиологического препарата Байкал ЭМ1 включает в себя практически все регионы РФ, также это удобрение продается в Беларуси, Армении, Казахстане и Узбекистане. К 2007 г. компания-производитель удобрения Байкал ЭМ1 имела более 50 представительств в России и странах СНГ [12]. Действие препарата основано на так называемой ЭМ-технологии: использовании смеси прокариотических организмов (преимущественно молочнокислых, фотосинтезирующих и азотфиксирующих бактерий), а также эукариотических организмов (дрожжей сахаромикетов) [13]. Результаты многих исследований демонстрируют влияние данного препарата на продуктивность плодовых культур, плодородие почвы, иммунитет растений к пара-

зитическим микроорганизмам [14–16]. Работы, проведенные на разных культурах, показывают, что обработка семян растений и внесение биопрепарата в почву приводят к увеличению урожайности зеленой и воздушно-сухой массы растений [14, 17, 18]. Препарат положительно влияет и на микробиологическую активность почвы, что выражается как в общих показателях (увеличении количества выделяемой углекислоты и ферментативной активности маркерных ферментов почвы), так и в увеличении численности элементов микробиома, имеющих функциональное значение (например, анаэробные азотфиксирующие бактерии рода *Clostridium*) [14, 18, 19]. В современной литературе по данной теме большинство сообщений о применении препарата “Байкал ЭМ1” относится к сельскохозяйственным культурам кустарниковых и травянистых плодовых растений, а также злаков [14, 15, 19]. Существует ограниченное количество сообщений об использовании ЭМ-технологии при выращивании яблони. Показано, что препарат “Байкал ЭМ1” незначительно усиливает биомассу растений за счет роста боковых побегов [20]. Однако неизвестны сообщения об оценке влияния “Байкала ЭМ1” на микробиом почвы и вегетативные органы яблони.

В настоящей работе объектом служили интенсивные сады яблони – важнейшей плодовой культуры РФ. По итогам сельскохозяйственной переписи 2016 г. в сельскохозяйственных организациях, фермерских хозяйствах и хозяйствах индивидуальных предпринимателей из всех плодовых культур ~80% представлено семечковыми породами (226324 га), при этом яблоня в структуре площадей семечковых занимает 85% (193385.4 га) [21]. Поскольку технология интенсивного яблоневого сада подразумевает внесение значительных доз МУ, интенсивный сад является репрезентативной моделью агроэкосистем с высокой антропогенной нагрузкой на почву. Было изучено влияние внесения МУ, а также МУ в комбинации с биопрепаратом “Байкал ЭМ1” на микробиом почвы, ризосферы и надземной части растений (лист и побег) яблони в связи с урожайностью и минеральным составом растений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Место проведения и постановка эксперимента. Исследования проводили в 2021 г. в экспериментальном саду ФНЦ им. И.В. Мичурина (г. Мичуринск Тамбовской области). В экспериментах использовали растения яблони (*Malus × domestica* Borkh.) сорта Лигол, привитого на подвой 62-396. Растения выращивали в трех вариантах: без внесения удобрения (контроль, Б/У), с внесением минеральных удобрений (N90P30K120), а также с внесением минеральных удобрений (N20P10K30) и коммерчески доступного биопрепарата “Бай-

кал ЭМ1” (восьмикратное внесение с интервалом 1–2 нед согласно рекомендациям производителя; вариант “Байкал”). Сад посажен осенью 2018 г. по схеме 4,5 × 1,2 м. Для каждого варианта отводили по две делянки по 10 растений в каждой (общее число растений в каждом варианте $n = 20$).

Учет соцветий, плодов и завязей проводили визуально [22]. Средний вес плодов определяли гравиметрически (взвешиванием случайных выборок плодов, 3 × 50 шт.). Величину однолетних приростов определяли прямым измерением.

Анализ содержания элементов минерального питания в почве и в листьях. Содержание легкогидролизуемого азота в почве определяли по методу И.В. Тюрина и М.М. Кононовой [23] (с помощью автоматического аппарата Кьельдаля АКВ-20, Россия). Подвижный фосфор определяли спектрофотометрически с окраской SnCl₂ (с использованием спектрофотометра Hitachi U2000, Япония), содержание обменного калия – фотометрическим методом ГОСТ 30504-97 (с использованием пламенного фотометра ФПА-2.01, Россия) по Чирикову в модификации ЦИНАО, рН почвы измеряли в солевой вытяжке (1%ный раствор KCl, рН-метр Эксперт 0015, Аквилон, Россия). Содержание азота, фосфора и калия в листьях определяли с помощью описанных выше аналитических методов, пробоподготовку вели, как описано в [23].

ДНК-метабаркодинг. Для выделения тотальной ДНК проводили отбор образцов почвы в приствольном круге (для анализа микробиома почвы), также отбирали корневую прядь (для анализа микробиома ризосферы), лист (третий по счету лист с однолетнего прироста) и верхушку однолетнего недревесневшего побега длиной 5 см на высоте 1,2 м. С каждой делянки отбирали по одному образцу каждого типа ($n = 2$). Образцы помещали в стерильные пробирки, замораживали при –20°C и хранили при этой температуре до анализа.

ДНК для анализа микробиома почвы выделяли из образцов массой 100 мг с помощью набора реактивов NucleoSpin® Soil Kit (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Дюрен, Германия) в соответствии с рекомендациями производителя. Из растительных образцов ДНК выделяли с использованием модифицированного метода СТАВ [24]. Амплификацию фрагмента гена 16S рРНК с гипервариабельным участком V4 и приготовление библиотек для секвенирования осуществляли, как описано в [25], с использованием олигонуклеотидных праймеров F515 (5'-gtgccagctmgccgctgtaa-3') и R806 (5'-ggactacvsgggtatctaat-3') [26]. Секвенирование проводили на приборе MiSeq (Illumina, США) с использованием набора реактивов MiSeq Reagent Kit v3 (600-cycle) (part number MS-102-3003, Illumina, США) для парного-концевого чтения (2 × 300 пар нуклеотидов). Первоначальную обработку полу-

ченных данных, а именно, демультиплексирование образцов и удаление адаптеров, проводили с помощью программы Illumina (Illumina, США). Дальнейшие процедуры деноизинга, объединения последовательностей, восстановления исходных флотипов (ASV, Amplicon sequence variant), удаления химерных прочтений и таксономической классификации полученных ASV выполняли в программной среде R с использованием программных пакетов dada2 [27], phyloseq [28] и DECIPHER [29], а также базы данных SSU 16s rRNA SILVA (релиз 132) [30]. При анализе результатов ДНК-метабаркодинга из образцов удаляли неклассифицированные чтения, а также те таксономические группы, которым соответствовало одно непарное чтение. Делянки с одинаковыми условиями эксперимента учитывали как повторности, для которых находили среднее значение количества чтений для каждой представленной таксономической группы. Расчет индексов α-разнообразия Шеннона–Уивера и β-разнообразия Мориситы проводили по формулам, описанным в [31]. Визуализацию значений индекса Мориситы проводили с помощью алгоритма на языке программирования Python (версия 3.7.1) с использованием библиотеки Matplotlib. Для построения диаграмм Circos и Венна использовали онлайн-сервис <http://mkweb.bcgsc.ca> и <https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/> соответственно.

Статистическую обработку результатов полевых измерений и агрохимических анализов проводили с использованием критерия “наименьшая средняя разность” [32] и *t*-критерия Стьюдента. Число биологических повторностей указано выше. На рисунках представлены средние значения ± стандартная ошибка, если не указано обратное.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Состояние почвы и экспериментальных растений. В ходе эксперимента наряду с исследованием микробиома почвы, ризосферы и надземной части экспериментальных растений яблони определяли ряд ключевых агрохимических параметров, включая содержание основных элементов минерального питания в почве и растениях. Установлено, что значения рН почвы существенно не различались между экспериментальными делянками и были на уровне 6,5 ед., что находится в диапазоне оптимальных для яблони значений. Содержание основных элементов минерального питания (N, P, K) было на уровне 200–250 мг/кг почвы и также существенно не различалось между делянками. Исключение составлял азот (N), содержание которого в почве контрольной делянки было меньше, чем на опытных (рис. 1), однако не являлось лимитирующим для яблони в проведенных экспериментальных условиях (рис. 2).

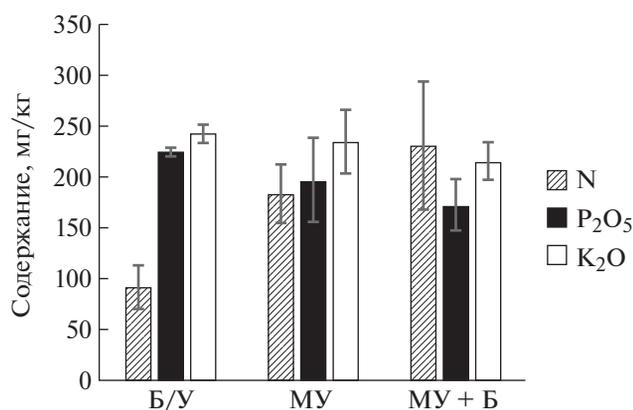


Рис. 1. Содержание основных макроэлементов в почве под растениями яблони в конце вегетационного периода (сентябрь) при внесении различных удобрений.

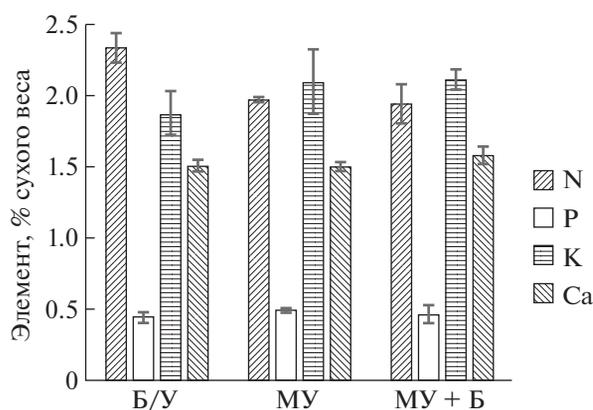


Рис. 2. Содержание основных макроэлементов в листьях растений яблони при внесении различных удобрений.

Ростовая активность деревьев, судя по результатам измерения длины однолетних приростов, в вариантах с внесением удобрений была на 20% больше, чем в контроле (Б/У). Варианты с внесением удобрений не различались достоверно по этому параметру; средняя длина однолетних приростов в этих вариантах составляла 25 см.

Несмотря на различия по содержанию N в почве (рис. 1), содержание этого элемента, а также P и K в листьях растений яблони не существенно различалось в разных вариантах эксперимента (рис. 2). По-видимому, это свидетельствует об адекватной обеспеченности растений основными элементами минерального питания.

Ключевым параметром состояния и продуктивности промышленного сада является его урожайность. В этой связи оценивали различные параметры, составляющие продуктивность (урожайность) сада на экспериментальных делянках (рис. 3). Среднее число плодов на дереве в экспериментальных вариантах было в 2–2.5 раза выше, чем в контроле, при высокой дисперсии растений по этому параметру (рис. 3а). Различия по средней массе плода были менее выраженными, однако в варианте “Байкал” масса плода была в среднем на 10–15 г выше, чем в контроле либо при внесении только МУ (рис. 3б). Соответственно, урожайность в расчете на одно дерево выше в варианте “Байкал”, однако вариабельность в плодовой нагрузке повлекла за собой высокую вариабельность урожайности (рис. 3в). Те же тенденции выявили в отношении теоретической урожайности в расчете на гектар площади сада (рис. 3г): оценки урожайности для вариантов с внесением удобрений ожидаемо оказались выше, чем в контроле Б/У; при этом в варианте “Байкал” теоретическая урожайность была выше, чем в варианте исключительно с внесением МУ.

Влияние удобрений на таксономический состав бактериального микробиома. Разнообразие микробных образцов оценивали с использованием индекса α -разнообразия Шеннона (рис. 4а). Сравнение средних значений индекса показало, что варианты эксперимента не различаются по биоразнообразию прокариот микробиома почвы. Сравнительный анализ микробиомов ризосферы показал, что внесение МУ приводит к снижению биоразнообразия прокариот ризосферы почти на треть по сравнению как с микробиомом почвы, так и с ризобиомом контрольных образцов (Б/У). В варианте с внесением биопрепарата “Байкал ЭМ1” микробиом ризосферы не отличался достоверно ни от микробиома почвы в том же варианте, ни от микробиома ризосферы других образцов. Для бактериальных микробиомов листа и побега было показано сравнительно низкое биоразнообразие, а также отсутствие выраженных различий между экспериментальными вариантами.

Сходство образцов в плане разнообразия прокариот в составе микробиома в зависимости от типа вносимых удобрений оценивали по индексу β -разнообразия Мориситы с последующей визуализацией в виде тепловой карты (рис. 4б). Для части образцов повышенное сходство отмечалось между образцами одного типа (почва, ризосфера либо надземные части) вне зависимости от типа вносимых удобрений.

Исключение составляли образцы микробиома ризосферы, проявлявшие высокое сходство только в вариантах Б/У и при внесении минеральных удобрений с биопрепаратом “Байкал ЭМ-1” (МУ + Б). Отметим, что микробиом почвы также проявлял более высокое сходство между контролем (Б/У) и вариантом с внесением удобрений с биопрепаратом “Байкал ЭМ-1”. Среди разнотипных образцов наблюдали повышенное сходство бактериальных микробиомов листа и побега. Также уста-

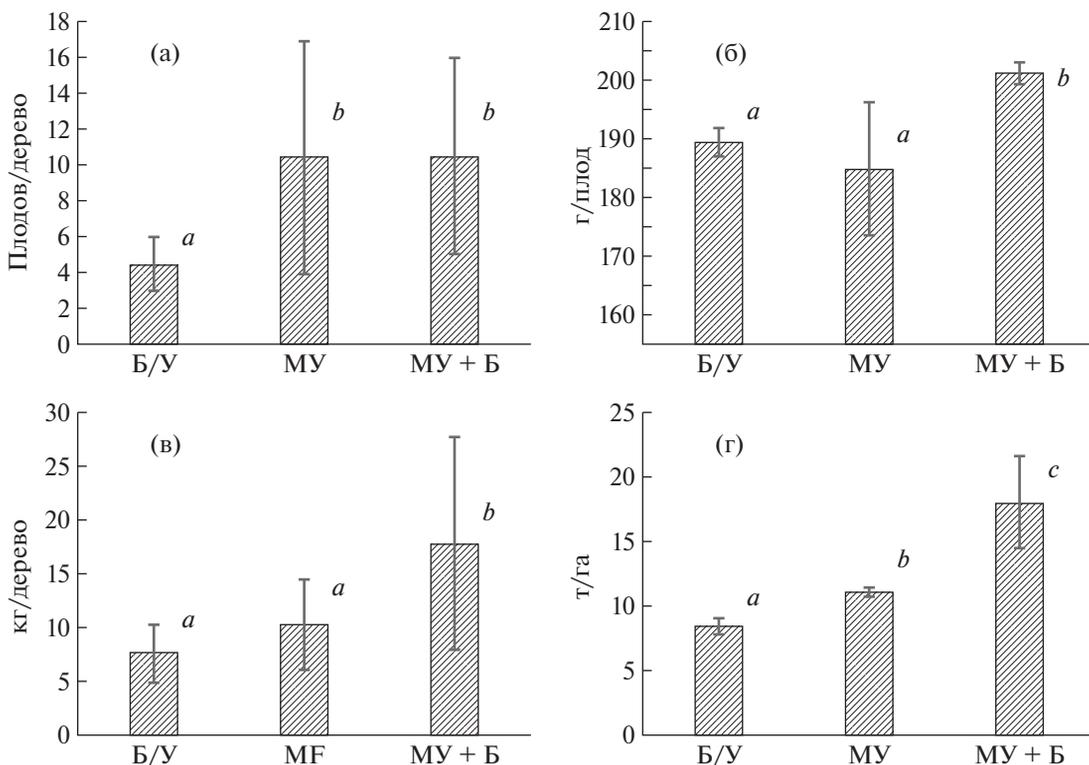


Рис. 3. Урожайность растений яблони при внесении различных удобрений: а – среднее число плодов на дереве, б – средняя масса одного плода, в – средняя урожайность в расчете на дерево, г – теоретическая урожайность с гектара сада. Статистически достоверные значения помечены разными буквами латинского алфавита.

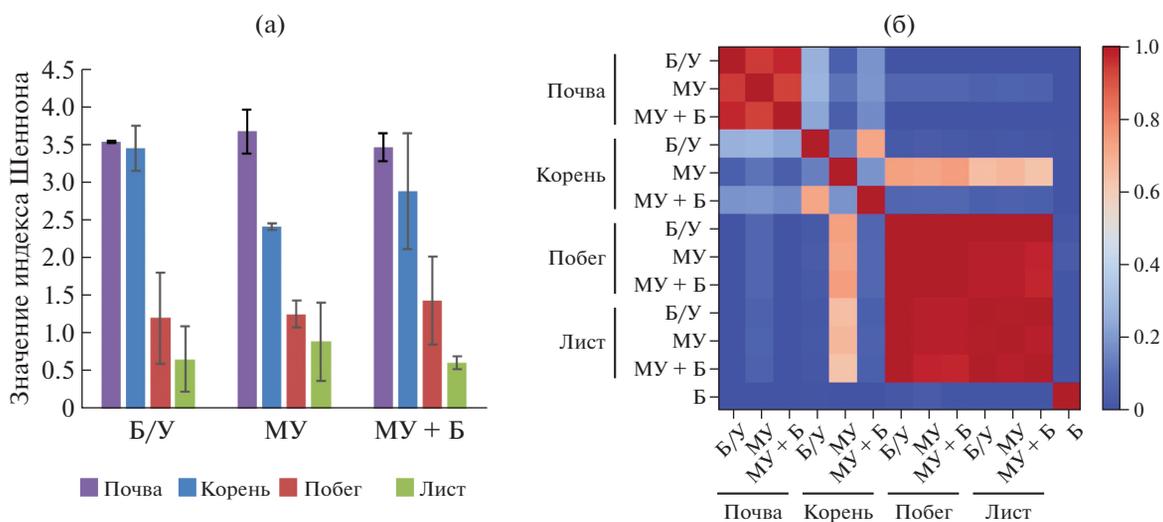


Рис. 4. Индексы α - и β -разнообразия прокариотического микробиома: а – среднее значение индекса α -разнообразия Шеннона, б – тепловая карта значений индекса β -разнообразия Мориситы для бактериальных микробиомов почвы, ризосферы и надземных частей растений при внесении разных удобрений; Б/У – контроль без внесения удобрений, МУ – внесение только минеральных удобрений, МУ + Б – внесение минерального удобрения с препаратом “Байкал ЭМ1”, Б – препарат “Байкал ЭМ1”.

новлено сходство последних с ризобиомом в вариантах с внесением МУ без биопрепарата.

При сравнительном анализе таксономического состава образцов с высокими показателями индекса Мориситы (т.е. с высоким биоразнообразием прокариот) установлено, что при внесении разных удобрений ризобиом различается по вкладу определенных таксономических групп (рис. 5а). Наиболее представленным классом микроорганизмов в данных образцах является *Gammaproteobacteria*, после которого идут *Bacilli*, *Alphaproteobacteria* и *Actinobacteria*. Больше всего представителей *Gammaproteobacteria* оказалось в ризобиоме варианта с внесением МУ, а меньше всего – в ризобиоме контроля (Б/У). При внесении МУ значительно сокращалось количество представителей *Bacilli* и *Bacteroidia*. При внесении препарата “Байкал ЭМ1” количество представителей *Bacilli* в ризобиоме, наоборот, увеличивалось. Поиск общих таксономических групп для данных образцов на уровне родов показал, что все ризобиомы содержали 100 общих родов, среди которых доминировали *Bacillus*, *Paucibacter*, *Burkholderia*, *Ralstonia*, *Streptomyces*, *Acinetobacter*, *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas* и *Rhizobium* (рис. 5в).

При сравнительном анализе микробиомов надземных вегетативных органов и ризобиома из варианта с внесением МУ отмечено доминирование представителей класса *Gammaproteobacteria*, в то время как вклад остальных таксономических групп в структуру данных сообществ незначителен (рис. 5б). Пересечение всех вариантов микробиомов листа и побега с ризобиомом, полученным при внесении МУ, показало наличие 28 общих родов, среди которых доминировали роды *Paucibacter*, *Ralstonia*, *Bradyrhizobium* и *Acinetobacter* (рис. 5г).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Сравнительный анализ влияния внесения различных типов удобрений на микробиом почвы и ризосферы растений яблони в интенсивном саду показал, что внесение высоких доз МУ снижало биоразнообразие микробиома почвы и ризосферы в экспериментальных условиях. Сходные эффекты наблюдали в других агроэкосистемах, в которых использовались интенсивные технологии возделывания [33, 34]. Возможные причины резких изменений видового состава микробных сообществ почвы при внесении высоких норм МУ включают в себя как изменение физико-химических свойств почвенной среды, например pH и (или) ионного баланса, так и получение конкурентных преимуществ отдельными группами микроорганизмов при высокой доступности химически связанного азота и фосфора, вносимого с МУ [33]. Очевидно, что прогрессирующее сужение биоразнообразия почвенных и ризосферных

микроорганизмов ведет к дестабилизации агроэкосистемы в целом.

Одновременно с этим было отмечено, что во всех пробах почвы и ризобиома присутствовали представители функциональной группы микроорганизмов, известной как ростостимулирующие бактерии (англ. *Plant growth-promoting bacteria*, PGPB) [35]. В частности, к ним относятся представители родов *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas* и *Rhizobium* [35–37]. При этом сходство образцов, обработанных препаратом “Байкал ЭМ1”, с контрольным образцом объясняется высокой представленностью данных таксонов. Напротив, для всех образцов филлосферы вне зависимости от применяемых удобрений наблюдалось высокое количество чтений ДНК-метабаркодинга для класса *Gammaproteobacteria*, особенно для представителя рода *Ralstonia*, к которому относится один из самых распространенных фитопатогенов, вызывающих бактериальное увядание и бурую гниль и передающихся через почву [38, 39]. Примечательно, что для всех образцов филлосферы, зараженных данным фитопатогеном, наблюдалось сходство с образцом ризобиома, обрабатываемого МУ, в котором также наблюдается увеличение количества чтений ДНК-метабаркодинга для данного рода. Эти результаты указывают на возможное ослабление иммунитета растения при внесении МУ по сравнению с остальными экспериментальными вариантами.

Результаты анализа методом ДНК-метабаркодинга показали, что снижение дозы МУ при одновременном внесении биопрепарата “Байкал ЭМ-1” позволило в значительной степени скорректировать негативное влияние МУ на микробиомы почвы и ризосферы. Внесение органических удобрений также позволяет в некоторых случаях восстановить нарушенное биоразнообразие микробов почвы и ризосферы [6]. Однако регулярное внесение традиционных органических удобрений в условиях крупных агропредприятий может быть затруднено по причинам логистического (нехватка либо несвоевременный подвоз), санитарно-гигиенического либо агротехнического (отсутствие подходящей техники) характера. Следовательно, комбинирование более низких доз МУ с биопрепаратами, повышающими биодоступность минеральных элементов для растений и стимулирующих почвенную микробиоту, позволяет сохранить микробиом почвы. Не менее важно, что при этом удается сохранить урожайность, по крайней мере, на уровне вариантов с интенсивным внесением МУ или даже несколько повысить ее.

В целом трудно переоценить роль ДНК-метабаркодинга как прецизионного инструмента для диагностики природных и искусственных сообществ.

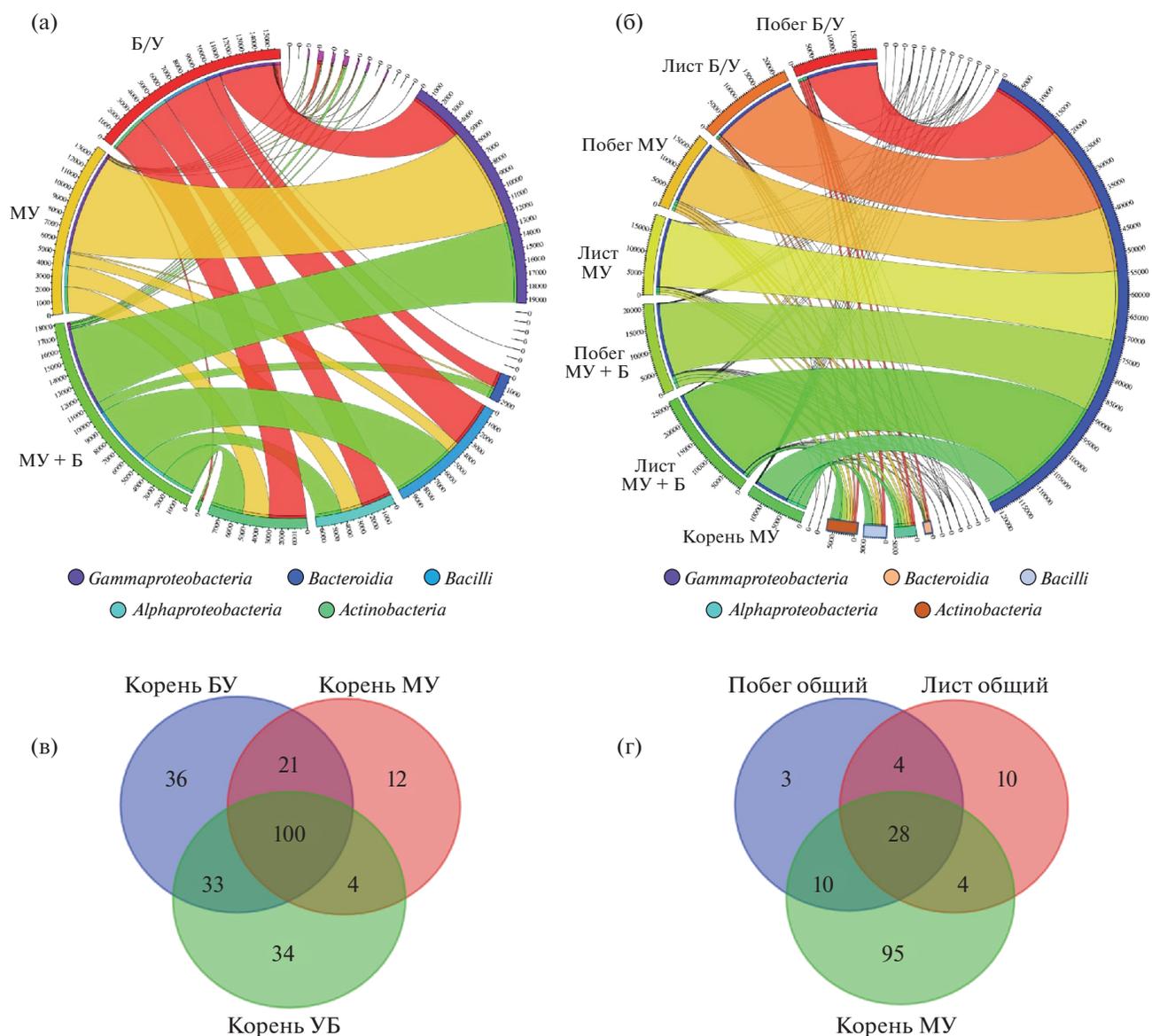


Рис. 5. Анализ таксономического состава бактериальных микробиомов на уровне классов, представленный в виде диаграммы Circos: а – для образцов ризобиома, полученных при разных условиях, б – для образцов побега и листа при разных условиях, а также ризобиома при обработке МУ. Пересечение таксономического состава бактериальных микробиомов на уровне родов показано с помощью диаграммы Венна: в – образцов ризобиома, полученных при разных условиях, г – для обобщенных образцов побега и листа, а также образца ризобиома при обработке МУ. Б/У – без удобрения, МУ – минеральные удобрения, МУ + Б – МУ + препарат “Байкал ЭМ1”.

ществ, хотя для стандартизации методических приемов и создания более полных и точных баз данных требуется еще много работы исследователей и практиков.

Работа выполнена при поддержке Президента Российской Федерации (грант № МК-1952.2021.1.4), а также Научно-образовательной школы МГУ “Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология”.

Исследования методом ДНК-метабаркодинга проведены с использованием оборудования ЦКП

“Геномные технологии, протеомика и клеточная биология” ФГБНУ ВНИИСХМ.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Abdelfattah A., Malacrino A., Wisniewski M. et al. // Biol. Control. 2018. V. 120. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.07.009>*

2. Wang L., Yang F., Yuan J. et al. // Front. Microbiol. 2016. V. 7. P. 1893.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01893>
3. Olanrewaju O.S., Ayangbenro A.S., Glicket B.R. et al. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2019. V. 103. № 3. P. 1155.
<https://doi.org/10.1007/s00253-018-9556-6>
4. Корольков А.Г. // Плодоводство. 2022. Т. 23. С. 393.
5. Bai Y.-C., Chang Y.-Y., Hussain M. et al. // Microorganisms. 2020. V. 8. № 5. P. 694.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8050694>
6. Jin N., Jin L., Wang S. et al. // Front. Microbiol. 2022. V. 13.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.863325>
7. Kestel J.H., Field D.L., Bateman P.W. et al. // Sci. Total Environ. 2022. P. 157556.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157556>
8. Lin M., Simons A.L., Harrigan R.J. et al. // Ecol. Appl. 2021. V. 31. № 6. e02379.
<https://doi.org/10.1002/eap.2379>
9. Changey F., Nunan N., Herrmann A. M. et al. // J. Ecol. 2022. V. 139. P. 108897.
<https://doi.org/10.1016/j.jecolind.2022.108897>
10. Castellano-Hinojosa A., Strauss S.L. // Sci. Rep. 2021. V. 11. № 1. P. 1.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-89569-7>
11. Кублановская А.А., Хапчаева С.А., Зотов В.С. и др. // Вестник МГУ. Сер. 16. Биология. 2019. Т. 4. С. 284.
12. Костенко Т.А. Биологические препараты. Сельское хозяйство. Экология: Практика применения. М.: ЭМ-Кооперация, 2008. 295 с.
13. Kukhar E., Ishanov T. // Herald Sci. S. Seifullin Kazakh Agro Techn. Univ. 2021. V. 3. № 110. P. 131.
14. Куликова А.Х., Никифорова С.А., Смывалов В.С. // Агрохимия. 2013. Т. 5. С. 31.
15. Димитриев В.Л., Косарев Е.В. // Карантин растений. Наука и практика. 2016. Т. 3. С. 35.
16. Иванова Т.Е., Лекомцева Е.В., Соколова Е.В. и др. // Вестн. Алтайского гос. аграр. ун-та. 2022. № 8. С. 24.
<https://doi.org/10.53083/1996-4277-2022-214-8-24-31>
17. Забабурин В.А. // Вестник Красноярского гос. аграр. ун-та. 2006. № 11. С. 90.
18. Гуцина В.А., Никольская Е.О. // Нива Поволжья. 2012. № 2. С. 17.
19. Пыленок П.И., Ситников А.В. // Агрохимический вестник. 2007. № 3. С. 20.
20. Шкробова М.А., Самусь В.А. // Плодоводство. 2022. Т. 28. № 1. С. 70.
21. Итоги Всероссийской сельскохозяйственной переписи 2016 года. Том 4. Посевные площади сельскохозяйственных культур и площади многолетних насаждений / Под ред. Лайкама К.Э. М.: ИИЦ "Статистика России", 2018. 714 с.
22. Седов Е.Н., Огольцова Т.П. // Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. 1999. Орел: ВНИИСПК, 606 с.
23. Минеев В.Г., Сычев В.Г., Амелянчик О.А. и др. // Практикум по агрохимии. 2001. М.: Изд-во МГУ. 689 с.
24. Rahimah A.B., Cheah S.C., Rajinder S. // J. Oil Palm Res. 2006. V. 18. P. 296.
25. Kublanovskaya A., Chekanov K., Solovchenko A. et al. // Hydrobiologia. 2019. V. 830. № 1. P. 17.
<https://doi.org/10.1007/s10750-018-3844-0>
26. Bates S.T., Berg-Lyons D., Caporaso J.G. et al. // ISME J. 2011. V. 5. № 5. P. 908.
<https://doi.org/10.1038/ismej.2010.171>
27. Bolge A.M., Lohse M., Usadel B. // Bioinformatics. 2014. V. 30. № 15. P. 2114.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
28. McMurdie P.J., Holmes S. // PLoS One. 2013. V. 8. № 4. P. e61217.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
29. Wright E.S. // R J. 2016. V. 8. № 1. P. 352.
30. Caporaso J.G., Kuczynski J., Stombaugh J. // Nature Methods. 2010. V. 7. № 5. P. 335.
<https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>
31. Horn H.S. // Am. Nat. 1966. V. 100. № 914. P. 419.
<https://doi.org/10.1086/282436>
32. Доспехов Б.А. // Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.
33. Dincă L.C., Grenni P., Onet C. et al. // Appl. Sci. 2022. V. 12. № 3. P. 1198.
<https://doi.org/10.3390/app12031198>
34. Zhang R., Li Y., Zhao X. et al. // Ecol. Indicators. 2022. V. 140. P. 108972.
<https://doi.org/10.1016/j.jecolind.2022.108972>
35. Souza R.D., Ambrosini A., Passaglia L.M. // Gen. Mol. Biol. 2015. V. 38. P. 401.
<https://doi.org/10.1590/S1415-475738420150053>
36. Rokhbakhsh-Zamin F., Sachdev D., Kazemi-Pour N. et al. // J. Microbiol. Biotechnol. 2011. V. 21. № 6. P. 556.
<https://doi.org/10.4014/jmb.1012.12006>
37. Suzuki W., Sugawara M., Miwa K. et al. // J. Biosci. Bioeng. 2014. V. 118. № 1. P. 41.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2013.12.007>
38. Каримова Е.В., Шнейдер Ю.А., Заец В.Г. и др. // Вестник Российского университета дружбы народов. Сер. Агрономия и животноводство. 2013. № 2. С. 27.
39. Hu J., Barlet X., Deslandes L. et al. // PLoS One. 2008. V. 3. № 7. P. e2589.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002589>