

Структура бактериального сообщества ризосферы трансгенных растений томата (*Solanum lycopersicum* L.)

© 2025. А. А. Антонов¹, аспирант, А. А. Ванькова¹, к. б. н., доцент, Е. Н. Баранова^{1,2,3}, к. б. н., в. н. с., Л. В. Куренина², к. б. н., в. н. с., Е. В. Платонова⁴, н. с.,
¹РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, 127434, Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49,
²ФГБНУ ВНИИСБ, 127550, Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 42,
³ГБС им. Н.В. Цицина РАН, 127276, Россия, г. Москва, ул. Ботаническая, д. 4,
⁴ООО «НПП Биосфера», 119571, Россия, г. Москва, пр-т Вернадского, д. 96,
 e-mail: antonov4B@yandex.ru

Выращивание генетически модифицированных растений может быть сопряжено с рисками для окружающей среды, включая почвенные микроорганизмы, которые выполняют важные биосферные функции. В работе использовали трансгенные растения томата (*Solanum lycopersicum* L.) селекционной линии, полученной из сорта Ямал, с геном синтеза холиноксидазы *codA*, кодирующим устойчивость к осмотическому стрессу. Контролем служили нетрансформированные растения той же селекционной линии. После 20 недель выращивания в почвенной культуре проводили ампликонное секвенирование 16S рРНК тотальной ДНК из ризосферы. Анализ таксономического разнообразия и структуры бактериального сообщества ризосферы показал увеличение доли доминантного филума Proteobacteria (с 62 до 64%) и снижение Bacteroidetes (с 19 до 17%) у трансгенных растений по сравнению с контролем. В ризосфере генномодифицированных растений не выявлены классы Spartobacteria и Chloroflexia, присутствующие у контрольных растений, но обнаружены классы Caldilineae и Holophagaе, отсутствующие в ризосфере контрольных растений. Таксономический анализ на родовом уровне выявил у генномодифицированных растений сокращение долевого участия родов *Sphingomonas*, *Rhizomicrobium*, *Pseudolabris* (на 0,6–1,2%) и увеличение относительного обилия родов *Deviosia* и *Bauldia* (на 1,2–1,3%). В ризосфере трансгенных растений исчезли роды *Sphingobium*, *Pedomicrobium*, присутствующие у контрольных растений, и появились рр. *Micavibrio* и *Chryseolinea*. Индекс разнообразия Шеннона составил 8,62 и 8,77, Чao1 – 1075 и 1122 у контрольных и трансгенных растений соответственно. Таким образом, в ризосфере изученных трансгенных растений выявлены изменения состава и структуры бактериального комплекса, которые могут привести к нарушению функций микробной системы почвы.

Ключевые слова: бактерии, ризосфера, томат, трансгенные растения, холиноксидаза.

Transgenic tomato (*Solanum lycopersicum* L.) rhizosphere bacterial community structure

© 2025. А. А. Antonov¹ ORCID: 0000-0002-7684-0503, А. А. Vankova¹ ORCID: 0000-0001-5473-9714, Е. Н. Baranova^{1,2,3} ORCID: 0000-0001-8169-9228, Л. В. Kurenina² ORCID: 0000-0001-5359-8665, Е. В. Platonova⁴ ORCID: 0009-0000-7666-5453,
¹RSAU-MTAA, 49, Timiryazevskaya St., Moscow, Russia, 127434,
²ARRIAB, 42, Timiryazevskaya St., Moscow, Russia, 127550,
³MBG RAS, 4, Botanicheskaya St., Moscow, Russia, 127276,
⁴LLC “NPP Biosfera”, 96, Vernadsky prospect, Moscow, Russia, 119571,
 e-mail: antonov4B@yandex.ru

The cultivation of genetically modified plants may involve risks to the environment, including soil microorganisms that perform important biospheric functions. The work used transgenic tomato (*Solanum lycopersicum* L.) of a breeding line obtained from the Yamal variety, with the *codA* choline oxidase synthesis gene encoding resistance to osmotic stress. Plants of the same breeding line of the original variety used as control. After 20 weeks of cultivation in a soil culture, amplicon sequencing of 16S rRNA of total DNA from the rhizosphere was performed. Analysis of the taxonomic diversity and structure of the bacterial community of the rhizosphere showed an increase in the proportion of the Proteobacteria dominant phylum (from 62 to 64%) and a decrease in Bacteroidetes (from 19 to 17%) in transgenic plants compared with the control. The classes Spartobacteria and Chloroflexia present in control plants were not detected in the rhizosphere of genetically modified plants. Classes Caldilineae and Holophagae absent in the rhizosphere of control plants were detected. Taxonomic analysis at the generic level revealed in genetically modified plants a decrease in the share of the gg *Sphingomonas*, *Rhizomicrobium*, *Pseudolabris* (by 0.6–1.2%) and an increase in the relative abundance of the gg *Deviosia* and *Bauldia* (by 1.2–1.3%). The gg *Sphingobium* and *Pedomicrobium* present in control plants were undetected in the rhizosphere of transgenic plants, and the gg *Micavibrio* and *Chryseolinea* were found out. The Shannon diversity index was 8.62 and 8.77, Chao1 – 1075 and 1122 in control and transgenic plants, respectively. The revealed changes in the composition and structure of the bacterial complex in the rhizosphere of the studied transgenic plants may lead to disruption of the functions of the soil microbial system.

Keywords: bacteria, rhizosphere, tomato, transgenic plants, choline oxidase.

Обеспечение растущего населения нашей планеты продуктами питания и сырьём для промышленности – главная задача сельского хозяйства. В качестве одного из решений этой сложной проблемы предлагается коммерческое возделывание генетически модифицированных растений. Методы генной инженерии позволяют получать растения с новыми ценными свойствами, такими как высокая урожайность, устойчивость к гербицидам сплошного действия, болезням и вредителям, стрессовым условиям окружающей среды [1–4]. При этом существуют экологические риски для биосферы, оценить которые в настоящее время не представляется возможным вследствие недостаточной изученности проблемы.

Ризосфера – тонкий слой почвы, непосредственно прилегающий к корням растений, формирующийся под действием корневых экссудатов [5, 6]. Корневые экссудаты растений оказывают мощное воздействие на микроорганизмы ризосферы. Колонизация корней и свойства бактерий зависят от генетически обусловленных пропорций определённых компонентов корневых экссудатов. Существует достаточно экспериментальных доказательств того, что в зависимости от состава корневых экзометаболитов меняется структура микробного сообщества в ризосфере [7–13]. Биоразнообразие и функции микробного сообщества в ризосфере трансгенных растений могут претерпевать изменения вследствие селективного стимулирования микроорганизмов, способных утилизировать продукты, синтез которых индуцирован трансформацией [14]. Одним из актуальных вопросов биобезопасности при выращивании трансгенных культур, таких как рапс, картофель, люцерна, является мониторинг и выявление изменений в структуре микробного сообщества в корневой зоне почвы

[15]. Анализ опубликованных результатов исследований по этой теме достаточно противоречив. Так, в некоторых работах авторы не выявили влияния трансгенных растений на микробиом ризосферы [14, 16–18]. Однако, в других – положительный эффект наблюдался [7, 19–22]. Одной из причин неоднозначности полученных результатов является дизайн экспрессионных векторов, используемых для трансформации растений. Состав корневых экссудатов трансгенных растений может существенно измениться, если продукт экспрессии введённого трансгена функционирует в тканях корня растения. Таким образом, результаты исследований на данную тему сильно разнятся или противоречат друг другу. Вопрос о безопасности генетически модифицированных растений остаётся дискуссионным.

Цель работы – изучить воздействие трансгенных растений томата на структуру бактериального сообщества ризосферы для оценки возможного экологического риска для микробного ценоза почвы.

Материалы и методы исследования

Растительный материал. Для проведения исследования использовали растения томата (*Solanum lycopersicum* L.): трансгенные (с геном фермента холиноксидазы (*codA*) из почвенной бактерии *Arthrobacter globiformis*) и нетрансгенные селекционной линии, полученной из сорта Ямал. Семена исходной селекционной линии томата любезно предоставлены Г.Ф. Монахосом на Селекционной станции им. Н.Н. Тимофеева (г. Москва). Трансгенные растения были получены во Всероссийском научно-исследовательском институте сельскохозяйственной биотехнологии (г. Москва) методом агробактериальной трансформации

[23]. В качестве экспрессионной плазмиды использовали стандартный вектор pVI, содержащий целевой ген *codA* и маркерный ген NPTII. Эти растения были клонально микро-размножены *in vitro* на среде Мурасиге-Скуга [24].

Трансгенные растения и нетрансгенный контроль, также полученный клональным микроразмножением *in vitro*, были пересажены для адаптации в вегетационные сосуды объёмом 300 мл, содержащие смесь торфа и песка 3:1 (рис. 1). Растения постепенно адаптировались к условиям внешней среды, их выращивали в теплице при естественном освещении. После адаптации растения культивировали в сосудах на протяжении 20 недель в торфяной низинной окультуренной почве до начала массового цветения.

Молекулярно-генетический анализ.

Подтверждение трансгенности растительного материала. Геномную ДНК выделяли из листьев томата с помощью набора реагентов «ДНК-Экстра-4» (ЗАО «Синтол», Россия). Для амплификации использовали два праймера: CHL-For (5'-ACAACCTCTCCTGCATCATCATCATCGCCTTCT-3') и CHL-Rev (5'-GCATCAACAGCTTCGGCGTAT-3') (ЗАО «Синтол», Россия). Смесь для амплификации содержала 1 мкл ДНК (20–100 нг); 1 мкл

Taq-полимеразы (5000 единиц/мл); 4 мкл 10× ПЦР буфера с MgCl₂; 1,5 мкл смеси dNTP (2,5 мМ); 0,5 мкл каждого праймера (0,25 мМ) и 13 мкл деионизированной воды (общий объём реакции 20 мкл). Использовали реагенты SibEnzyme (НПО «Сибэнзим», Россия). Амплификацию проводили при следующих условиях: начальная денатурация при 95 °С в течение 2 мин; затем 40 циклов: денатурация при 95 °С – 30 с, отжиг при 60 °С – 45 с, элонгация при 72 °С – 2 мин, финальная элонгация – 72 °С в течение 5 мин. Продукты ПЦР анализировали методом электрофореза в 1,4% агарозном геле с добавлением бромистого этидия. Размер полученных фрагментов ДНК определяли визуально путём сравнения с маркером (100 bp + 1,5 kb) (НПО «Сибэнзим», Россия) [23].

Выделение ДНК из ризосферы и амплификация. При подготовке образцов ризосферы для анализа вегетирующие растения извлекали из сосудов вместе с почвой, крупные комья отделяли от корней. Затем ризосферную почву вручную стряхивали с поверхности корешков, тщательно перемешивали и отбирали среднюю пробу. Геномную ДНК из почвы выделяли с использованием набора FastDNA SPIN Kit for soil (MP Biomedicals, США) в соответствии с рекомендациями производи-

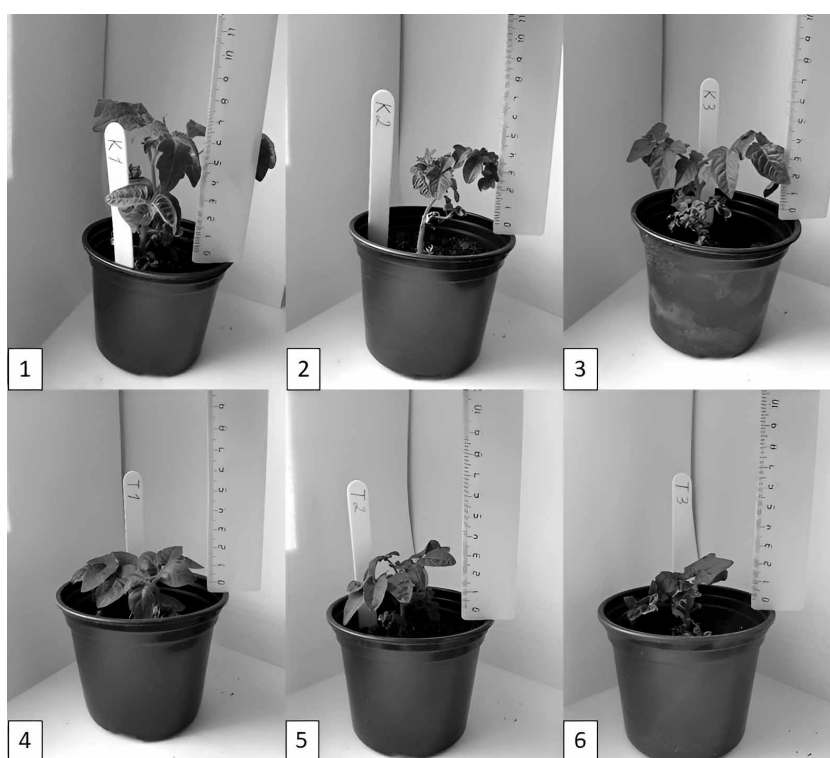


Рис. 1. Контрольные (1–3) и трансгенные (4–6) растения в вегетационных сосудах на 26 сутки культивирования / Fig. 1. Control (1–3) and transgenic (4–6) plants in vegetative pots on the 26th day of cultivation

теля. Для амплификации гипервариабельного V3–V4 участка гена 16S рибосомальной РНК использовали смесь праймеров GPro341F (5'-CCTACGGGNBGCASCAG-3') и GPro806R (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAATCC-3') концентрацией 0,625 мкМ каждого. Амплификацию проводили в объёме 25 мкл в смеси, содержащей 5× KTN-mix (Eurogen) 5 мкл, смесь праймеров 2 мкл, 50× SYBR (ЗАО «Евроген», Россия) 0,5 мкл, в амплификаторе в реальном времени CFX96 Touch (Bio-Rad, США) при следующих условиях: начальная денатурация 3 мин при 95 °С; 35 циклов: денатурация 30 с при 95 °С, отжиг 30 с при 57 °С, элонгация 30 с при 72 °С; финальная элонгация 5 мин при 72 °С.

Синтез библиотек для секвенирования.

Амплификацию ПЦР продукта, полученного на первом этапе, с целью индексирования библиотек проводили в объёме 25 мкл в смеси, содержащей 5× KTN-mix (ЗАО «Евроген», Россия) 5 мкл, смесь праймеров 2 мкл, 50× SYBR (ЗАО «Евроген», Россия) 0,5 мкл, в амплификаторе в реальном времени CFX96 Touch (Bio-Rad, США) при следующих условиях: первичная денатурация 3 мин при 95 °С; 7 циклов: денатурация 30 с при 95 °С, отжиг 30 с при 55 °С, элонгация 30 с при 72 °С; заключительная элонгация 5 мин при 72 °С. Для амплификации использовали индексы, рекомендованные производителем: Nextera Index Kit (Illumina, США).

Секвенирование на платформе Illumina.

Ампликоны после второго этапа очищались с использованием магнитных частиц AMPure XP (КАРАBiosystems, США). Анализ библиотек проводился на секвенаторе Illumina MiSeq (Illumina, США) методом парно-концевого чтения генерацией не менее 10 000 парных прочтений на каждый образец с использованием следующих реактивов: MiSeq Reagent Kit v2 nano и MiSeq v2 Reagent Kit (500 Cycles PE) (Illumina, США).

Обработка данных. Полученные данные ампликонного секвенирования обрабатывались по алгоритму QIIME 1.9.1. Использован алгоритм классификации операционных таксономических единиц (ОТЕ) с открытым референсом (Open-reference OTU), порог классификации 97%. Для таксономической идентификации последовательностей использовались базы данных Silva версии 132 и Unite v8.

Результаты и обсуждение

В результате проведённых исследований в ризосфере контрольных растений выявлено

948 таксономических операционных единиц (ОТУ), у генетически модифицированных растений – 1017 OTU. Индекс Шеннона составил 8,62 и 8,77; Чео1 – 1075 и 1122 у контрольных и трансгенных растений соответственно. Количество выявленных OTU и индексы разнообразия показывают большее богатство видов в ризосфере трансгенных растений по сравнению с контрольными. Как видно на диаграмме (рис. 2), таксономическая структура бактериального сообщества ризосферы трансгенных и контрольных растений на уровне филумов довольно схожа. В микробиомах изученных растений были выявлены следующие филумы: Proteobacteria (62,1 и 64,2%), Bacteroidetes (19,0 и 17,2%), Verrucomicrobia (4,6 и 4,2%), Actinobacteria (3,2 и 4,0%), Acidobacteria (2,6 и 2,4%), Chloroflexi (2,0 и 1,4%), Gemmatimonadetes (1,6 и 1,7%), Saccharibacteria (0,7 и 1,9% у контрольных и генномодифицированных растений соответственно). В ризосфере трансгенных растений происходит увеличение доли представителей доминантного филума Proteobacteria и снижение относительной доли Bacteroidetes по сравнению с контролем. Представленность остальных филумов не превышает 10% от общего числа сиквенсов, различия между контролем и трансгенными растениями составляют менее процента, однако многие представители данных филумов выполняют важные экологические функции.

Так, представители филума Verrucomicrobia широко распространены в почвах, способны к трансформации полисахаридов, азотфиксации, окислению метана и, таким образом, вносят значительный вклад в глобальные циклы углерода и азота [25]. Бактерии филума Chloroflexi ассимилируют CO₂ в процессе аноксигенного фотосинтеза, играют важную роль в разложении сложных органических соединений, что имеет значение для поддержания других бактериальных популяций [26]. Актинобактерии секретируют разнообразные экзоферменты, что обуславливает их высокую биологическую активность в почве, где они выступают, прежде всего, как деструкторы органических веществ, включая такие сложные биополимеры, как хитин, лигнин, целлюлоза, гумусовые вещества. Многие представители этого филума способны продуцировать антибиотики, фитогормоны и другие биологически активные вещества, вступать в разнообразные взаимоотношения с растениями [27].

В микробиоме генетически модифицированных растений отсутствовали бактерии клас-

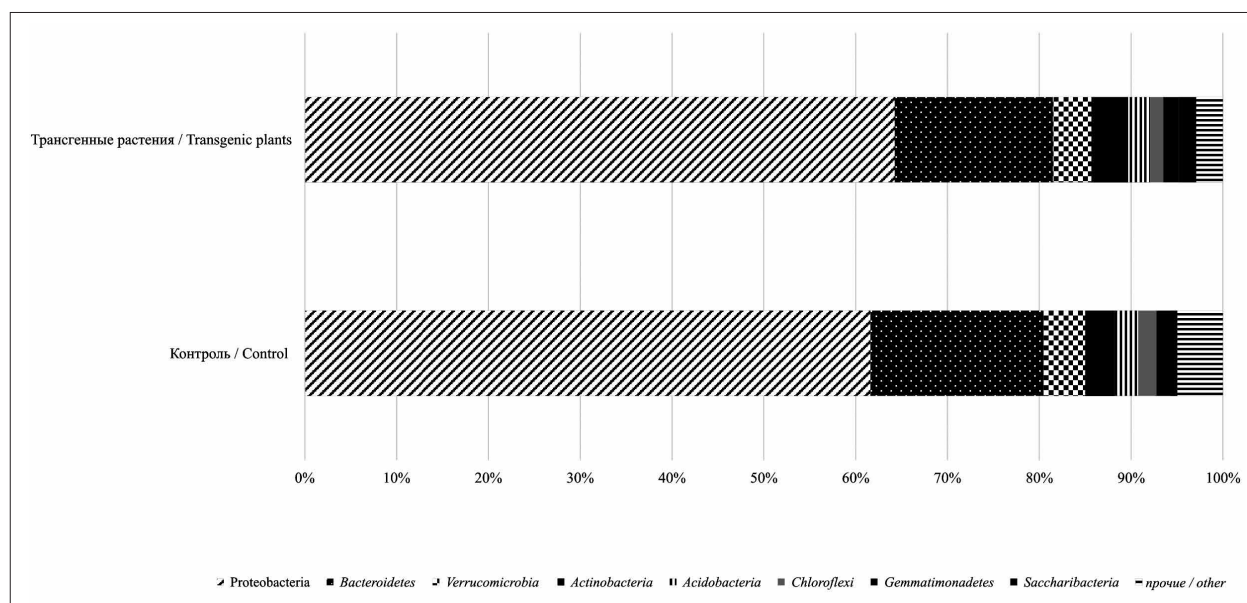


Рис. 2. Структура бактериального сообщества ризосферы трансгенных и контрольных растений на уровне филумов, % / **Fig. 2.** Bacterial community structure in the rhizosphere of transgenic and control plants at the phylum level, %

сов *Spartobacteria* (филум *Verrucomicrobia*) и *Chloroflexia* (филум *Chloroflexi*), выявленные в ризосфере на контроле. При этом, в составе ризосферного микробиома трансгенных растений идентифицированы представители классов *Caldilineae* (филум *Chloroflexi*) и *Holophagae* (филум *Acidobacteria*), отсутствующие в ризосфере контрольных растений. Бактерии классов *Caldilineae* и *Holophagae* являются солеустойчивыми и выделялись из грунтов морского побережья и засоленных почв [28–30], их появление, возможно, связано с изменениями в химическом составе корневых экссудатов, обусловленными геном, отвечающим за синтез осмотически активного соединения.

Таксономическое разнообразие бактериального сообщества ризосферы на родовом уровне характеризуется преобладанием *Sphingomonas*, *Rhizomicrobium*, *Pseudolabris*, *Deviosia*, *Bauldia*, доля каждого изменяется в пределах от 2,1 до 6,7%. В ризосфере трансгенных растений наблюдается сокращение долевого участия бактерий *Sphingomonas*, *Rhizomicrobium*, *Pseudolabris* на 0,6–1,2% и увеличение *Deviosia*, *Bauldia* на 1,2–1,3%. В составе микробиома ризосферы генетически модифицированных растений не выявлены бактерии родов *Sphingobium*, *Pedomicrobium*, присутствующие у контрольных растений, но обнаружены новые члены сообщества родов *Micavibrio*, которые являются хищными бактериями, и *Chryseolinea*. Таким образом, наибольшие изменения происходят внутри

класса *Alphaproteobacteria*, представители которого вступают в тесные взаимоотношения с растениями и выполняют важные экологические функции.

Заключение

На основании проведённых исследований можно сделать вывод, что трансгенные по гену холиноксидазы растения томата могут воздействовать на структуру бактериального комплекса ризосферы. Предположительно, это связано с изменением состава корневых экссудатов. Растение формирует свой микробиом и обеспечивает конкурентное преимущество бактериям, способным утилизировать новые компоненты корневых выделений. Представители большей части родов, идентифицированных с помощью проведённого анализа, относятся к типичной почвенной и эпифитной микробиоте, которая осуществляет деструкцию органических веществ, синтез физиологически активных соединений и участвует в биогеохимическом круговороте веществ. Выявленные изменения в филогенетической структуре класса *Alphaproteobacteria* могут повлечь за собой уменьшение доступности некоторых элементов питания для растений и изменение скорости разложения органических веществ в почве. Роль обнаруженных в ризосфере генетически модифицированных растений хищных бактерий рода *Micavibrio* ещё предстоит выяснить.

Работа выполнена в рамках государственного задания FGUM-2022-0003; РФ 122042700002-6 Министерства высшего образования и науки Российской Федерации.

References

- Peng M., Lin X., Xiang X., Ren H., Fan X., Chen K. Characterization and evaluation of transgenic rice pyramided with the *Pi* Genes *Pib*, *Pi25* and *Pi54* // *Rice*. 2021. V. 14. Article No. 78. doi: 10.1186/s12284-021-00512-w
- Mishra V., Mishra R., Shamra R.S. Ribosome inactivating proteins – an unfathomed biomolecule for developing multi-stress tolerant transgenic plants. // *Int. J. Boil. Macromol.* 2022. V. 210. P. 107–122. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.05.004
- Yang Y., Yu T.F., Ma J., Chen J., Zhou Y.B., Chen M., Ma Y.Z., Wei W.L., Xu Z.S. The soybean *bZIP* transcription factor gene *GmbZIP2* confers drought and salt resistances in transgenic plants // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. No. 2. Article No. 670. doi: 10.3390/ijms21020670
- Chouhan R., Ahmed S., Gandhi S.G. Over-expression of PR proteins with chitinase activity in transgenic plants for alleviation of fungal pathogenesis // *J. Plant Pathol.* 2023. V. 105. No. 1. P. 69–81. doi: 10.1007/s42161-022-01226-8
- Semenov M.V., Nikitin D.A., Stepanov A.L., Semenov V.M. The structure of bacterial and fungal communities in the rhizosphere and root-free loci of gray forest soil // *Pochvovedenie*. 2019. No. 3. P. 355–369 (in Russian). doi: 10.1134/S0032180X19010131
- Kuzyakov Ya., Razavi B.S. Rhizosphere size and shape: temporal dynamics and spatial stationarity // *Soil Biol. Biochem.* 2019. V. 135. No. 9. P. 343–360. doi: 10.1016/j.soilbio.2019.05.011
- Shirokikh I.G., Nazarova Ya.I., Ogorodnikova S.Yu., Baranova E.N. Changes in the structure of the rhizosphere complexes of actinomycetes of transgenic tomato (*Solanum lycopersicum* L., Solanaceae, Solanales) with the gene *Fe-SOD1* // *Povolzhskiy Journal of Ecology*. 2016. No. 3. P. 341–351 (in Russian). doi: 10.18500/1684-7318-2016-3-341-351
- Bais H.P., Weir T.L., Perry L.G., Gilroy S., Vivanco J.M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2006. V. 57. P. 233–266. doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159
- Zverev A.O., Pershina E.V., Shapkin V.M., Kichko A.K., Mitrofanova O.P., Kobylanskii V.D., Yuzikhin O.S., Belimov A.A., Andronov E.E. Molecular analysis of the rhizosphere microbial communities from gramineous plants grown on contrasting soils // *Microbiology*. 2020. V. 89. No. 2. P. 231–241 (in Russian). doi: 10.31857/S0026365620010188
- Bulgarelli D., Garrido-Oter R., Munch P.C., Weiman A., Dröge J., Pan Y., McHardy A.C., Schulze-Lefert P. Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley // *Cell host microbe*. 2015. V. 17. P. 392–403. doi: 10.1016/j.chom.2015.01.011
- Zharkova E.K., Vankova A.A., Selitskaya O.V., Malankina E.L., Drenova N.V., Zhelezova A.D., Khlyustov V.K., Belopukhov S.L., Zhevnerov A.V., Sviridova L.A., Fomina T.N., Kozlov A.V. Bacterial communities of *Lamiaceae* L. medicinal plants: structural features and rhizosphere effect // *Microorganisms*. 2023. V. 11. No. 1. Article No. 197. doi: 10.3390/microorganisms11010197
- Lundberg D.S., Lebeis S.L., Paredes S.H., Yourstone S., Gehring J., Malfatti S., Tremblay J., Engelbrekton A., Kunin V., del Rio T.G., Edgar R.C., Eickhorst T., Ley R.E., Hugenholtz P., Tringe S.G., Dangl J.L. Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome // *Nature*. 2012. V. 488. P. 86–90. doi: 10.1038/nature11237
- Dobrovolskaya T.G., Golovchenko A.V., Lysak L.V., Yurchenko E.N. Taxonomic structure of bacterial communities of rhizospheric soil under bog plants // *Lomonosov Soil Science Journal*. 2020. V. 2. P. 45–52 (in Russian). doi: 10.3103/S0147687420020039
- Li P., Dong J., Yang S., Bai L., Wang J., Wu G., Wu X., Yao Q., Tang X. Impact of β -carotene transgenic rice with four synthetic genes on rhizosphere enzyme activities and bacterial communities at different growth stages // *Eur. J. Soil Biol.* 2014. V. 65. P. 40–46. doi: 10.1016/j.ejsobi.2014.09.002
- Savage J.A., Clearwater M.J., Haines D.F., Klein T., Mencuccini M., Sevanto S., Turgeon R., Zhang C. Allocation, stress tolerance and carbon transport in plants: how does phloem physiology affect plant ecology? // *Plant Cell Environ.* 2016. V. 39. No. 4. P. 709–725. doi: 10.1111/pce.12602
- Heuer H., Kroppenstedt R.M., Lottmann J., Berg G., Smalla K. Effects of T4 lysozyme release from transgenic potato roots on bacterial rhizosphere communities are negligible relative to natural factors // *Appl. Environ. Microbiol.* 2002. V. 68. No. 3. P. 1325–1335. doi: 10.1128/AEM.68.3.1325-1335.2002
- Dunfield K.E., Germida J.J. Seasonal changes in the rhizosphere microbial communities associated with field-grown genetically modified canola (*Brassica napus*) // *Appl. Environ. Microbiol.* 2003. V. 69. No. 12. P. 7310–7318. doi: 10.1128/AEM.69.12.7310-7318.2003
- Shirokikh I.G., Nazarova Y.I., Raldugina G.N., Gulevich A.A., Baranova E.N. Analysis of actinobiota in the tobacco rhizosphere with heterologous choline oxidase gene from *Arthrobacter globiformis* // *Izvestiya RAN. Seriya biologicheskaya*. 2022. V. 2. P. 199–207 (in Russian). doi: 10.31857/S1026347022010139
- Zhao X., Jiang Y., Liu Q., Yang H., Wang Z., Zhang M. Effects of drought-tolerant *Ea-DREB2B* transgenic sugarcane on bacterial communities in soil // *Front. Microbiol.* 2020. V. 11. Article No. 704. doi: 10.3389/fmicb.2020.00704
- Motavalli P.P., Kremer R.J., Fang M., Means N.E. Impact of genetically modified crops and their manage-

ment on soil microbially mediated plant nutrient transformations // J. Environ. Qual. 2004. V. 33. No. 3. P. 816–824. doi: 10.2134/jeq2004.0816

21. Dunfield K.E., Germida J.J. Impact of genetically modified crops on soil- and plant-associated microbial communities // J. Environ. Qual. 2004. V. 33. No. 3. P. 806–815. doi: 10.2134/jeq2004.0806

22. Lebedev V., Lebedeva T., Tikhonova E., Shestibratov K. Assessing impacts of transgenic plants on soil using functional indicators: twenty years of research and perspectives // Plants. 2022. V. 11. Article No. 2439. doi: 10.3390/plants11182439

23. Gulevich A.A., Kurenina L.V., Baranova E.N. The application of targeting of Fe-dependent superoxide dismutase and choline oxidase enzymes into chloroplast as a strategy for effective plant protection against abiotic stresses // Russian Agricultural Sciences. 2018. No. 1. P. 7–12 (in Russian). doi: 10.3103/S1068367418020076

24. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue culture // Physiol. Plant. 1962. V. 15. P. 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

25. Cabello-Yeves P.J., Ghai R., Mehrshad M., Picazo A., Camacho A., Rodriguez-Valera F. Reconstruction of diverse verrucomicrobial genomes from metagenome datasets of freshwater reservoirs // Front. Microbiol. 2017. V. 8. Article No. 2131. doi: 10.3389/fmicb.2017.02131

26. Speirs L.B., Rice D.T., Petrovski S., Seviour R.J. The phylogeny, biodiversity, and ecology of the *Chloroflexi* in activated sludge // Front. Microbiol. 2019. V. 10. Article No. 2015. doi: 10.3389/fmicb.2019.02015

27. Grigoryan L.N., Bataeva Yu.V. Ecological features and biotechnological possibilities of soil actinobacteria (review) // Theoretical and Applied Ecology. 2023. No. 2. P. 6–19 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2023-2-006-019

28. Herlemann D.P., Lundin D., Labrenz M., Jürgens K., Zheng Z., Aspeborg H., Andersson A.F. Metagenomic de novo assembly of an aquatic representative of the verrucomicrobial class *Spartobacteria* // MBio. 2013. V. 4. No. 3. Article No. e00569-12. doi: 10.1128/mBio.00569-12

29. Harpke M., Pietschmann S., Costa F.S., Gansert C., Langenhorst F., Kothe E. Biomineralization by extremely halophilic and metal-tolerant community members from a sulfate-dominated metal-rich environment // Microorganisms. 2021. V. 10. No. 1. Article No. 79. doi: 10.3390/microorganisms10010079

30. Gao F., Li F., Tan J., Yan J., Sun H. Bacterial community composition in the gut content and ambient sediment of sea cucumber *Apostichopus japonicus* revealed by 16S rRNA gene pyrosequencing // PloS One. 2014. V. 9. No. 6. Article No. e100092. doi: 10.1371/journal.pone.0100092