

Прокариотные сообщества при самозаращении хранилища отходов предприятия химической промышленности

И. Г. ШИРОКИХ^{1, 2, 3}, Н. А. БОКОВ^{2, 3}, Е. В. ДАБАХ^{1, 2}, Л. В. КОНДАКОВА^{1, 2},
А. А. ШИРОКИХ^{2, 3}, Т. Я. АШИХМИНА^{1, 2}

¹Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН
167982, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28

²Вятский государственный университет
610000, Киров, ул. Московская, 36

³Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого
610007, Киров, ул. Ленина, 166а
E-mail: irgenal@mail.ru

Статья поступила 27.06.2023

После доработки 21.08.2023

Принята к печати 03.10.2023

АННОТАЦИЯ

Методом высокопроизводительного секвенирования по технологии Illumina исследовано разнообразие прокариот в образцах почв, отобранных с трех пространственно удаленных площадок мониторинга на территории бывшего хвостохранилища жидких отходов химического производства вблизи г. Кирово-Чепецка, Кировская область. Проведена оценка таксономического богатства и филогенетического разнообразия микробных сообществ техногенных почв в сравнении с аллювиальной почвой – природным аналогом той, что была нарушена в результате размещения отходов химического предприятия. Анализ показателей таксономического богатства и разнообразия продемонстрировал более низкие их значения в формирующихся на отходах почвах в сравнении с природной почвой фонового участка. Были определены 26 бактериальных и 2 архейных филума прокариот, составившие более 95 % от числа классифицированных последовательностей. Доминировали филумы *Actinobacteria* (22–41 %) и *Proteobacteria* (20–26 %). На уровне высших таксонов в техногенных почвах по сравнению с сообществом природной аллювиальной почвы выявлены тренды изменения представленности филумов: уменьшение доли *Verrucomicrobia* и увеличение доли *Cyanobacteria*. Наибольшие различия между сообществами техносолей и фоновой почвы выявлены на уровне порядков, семейств и родов. Для каждого из четырех микробиомов определены общие и уникальные роды. Обнаруженные различия в составе и структуре прокариотного компонента микробных сообществ нарушенных почв связаны с комплексом их физико-химических свойств (гранулометрический состав, pH почвенного раствора, содержание C_{орг}, состав токсикантов промышленного происхождения, режим влажности и др.) и характером растительного покрова. Полученные результаты представляют интерес для разработки новых подходов в будущих исследованиях связи почвенной микробиоты с изменениями экосистем, вызванными деятельностью человека.

Ключевые слова: производственные отходы, техногенные почвы, прокариоты, высокопроизводительное секвенирование, Illumina, 16S рРНК, биоразнообразие, таксономическая структура.

ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение окружающей среды отходами промышленного производства является на сегодняшний день самым мощным фактором, дестабилизирующим природные экосистемы. Количество производственных отходов, которые генерируют российские промышленные компании, согласно отчетам предприятий за 2021 г. составило 8,45 млрд т, из них 178,1 млн т приходится на отходы химических производств [Российские предприятия..., 2022]. Хвостохранилища, предназначенные для хранения не подлежащих утилизации промышленных отходов, могут быть источником загрязнения атмосферы, грунтовых и поверхностных вод, экосистем токсикантами промышленного происхождения. По данным Росприроднадзора, к настоящему времени негативному индустриальному воздействию в России подверглось 1,8 млн га земель, в том числе 10,7 тыс га – в Кировской области [Российская промышленность ..., 2022].

Для предотвращения загрязнения окружающей среды проводят рекультивацию территории, технический этап которой заключается в перекрытии отходов грунтами, которые играют роль почвообразующей породы для формирующихся почв. В то время как в зональных почвах основные свойства определяются природно-климатическими условиями конкретной зоны, в почвах техногенных ландшафтов особое значение среди факторов почвообразования имеют геогенные (прежде всего свойства породы) [Соколов и др., 2012]. Важную роль в восстановлении почв играют также биотические факторы, такие как растительный покров и сопряженные с ним почвенные микробные сообщества, роль которых в почвенном генезисе долгое время недооценивалась [Андронов и др., 2015].

Посттехногенные экосистемы можно рассматривать как естественные модели восстановления микробных сообществ и получать фактическую информацию о скорости и направленности почвообразования в разнообразных субстратно-фитоценоотических комбинациях. В связи с этим процесс восстановления биоценоза на исходно неоднородном по составу и генезису субстрате, не перекрытом плодородным слоем, может служить моделью для анализа эволюционного потенциала микробиома в процессе почвообразования [Андронов

и др., 2015; Дмитракова и др., 2018]. Исследование микробных сообществ в контексте почвенной метагеномики открыло новые перспективы в понимании эволюции почвенного покрова и формирования почвенного плодородия [Daniel, 2005; Fiere, Jackson, 2006; Zhang et al., 2011; Fierer et al., 2012]. В отечественной литературе данный подход уже довольно широко реализуется для индикации изменений, вызываемых сельскохозяйственной эксплуатацией почв [Тхакахова и др., 2015; Першина и др., 2016; Налиухин и др., 2018; Орлова и др., 2019; Шахназарова и др., 2020]. Анализ таксономической структуры микробиоты, участвующей в восстановительных процессах техногенно нарушенных почв, на основе изучения полиморфизма гена *16S* рРНК посвящены лишь отдельные работы российских авторов [Дмитракова и др., 2018; Манучарова и др., 2021].

Цель работы – сравнительная характеристика таксономической структуры прокариотных сообществ, формирующихся в процессе самовосстановления почвенного покрова на засыпанной территории бывшего хвостохранилища жидких отходов химического производства, с сообществом природной ненарушенной почвы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования явился верхний слой (0–10 см) почвы, относящейся к техногенным поверхностным образованиям, группе натурфабрикаты, подгруппе литостраты [Шишов и др., 2004], или Technosols по WRB [IUSS Working Group WRB, 2014]. Для анализа было отобрано методом конверта по пять образцов с каждой площадки мониторинга на территории засыпанного в 2012 г. хранилища жидких отходов производства химических предприятий г. Кирово-Чепецка Кировской области, расположенного на северо-западной окраине Вятско-Камской провинции подзоны дерново-подзолистых почв южной тайги. Хвостохранилище находится в долине р. Вятки в зоне подтопления (GPS координаты: 58°33'17" с. ш., 49°56'24" в. д.). Оно представляло собой водоем, площадь зеркала воды в котором составляла около 51 тыс. м², максимальные глубины достигали 10 м, объем жидких отходов оценивался в 275 тыс. м³.

После заполнения котлована твердым материалом – песком, глиной, гипсом с примесью извести, образовалась площадка с выраженным микрорельефом (чередование бугорков и западин), которая уже через год начала зарастать сорной растительностью, характерной для окружающего ландшафта. Исследовали три смешанных образца (СГ, СУ1 и СУ2), отражающих разнообразие формирующихся растительных ассоциаций на территории засыпанного хвостохранилища. Эталонном для сравнения служил образец (ФП), отобранный из верхнего горизонта (0–10 см) слабокислой аллювиальной гумусовой почвы (Fluvisols) особо охраняемой природной территории – ГПЗ “Нургуш” (фоновый участок), также расположенного в долине р. Вятки, но ниже по течению. На всех участках отбора образцов проводили геоботаническое описание, определяли общее проективное покрытие (ПП), гранулометрический состав почвы полевым методом [Розанов, 2004], основные агрохимические показатели почв (табл. 1).

Выделение тотальной почвенной ДНК и ампликонное секвенирование участка V4 гена *16S* рРНК выполнены в Центре коллективного пользования “Технологии и клеточная биология” ФГБНУ ВНИИСХМ (Санкт-Петербург, г. Пушкин). Выделение и очистку ДНК осуществляли в соответствии с методикой, разработанной во ВНИИСХМ [Pinaev et al., 2022].

Очищенный препарат ДНК служил в качестве матрицы в реакции ПЦР с универсальными праймерами к варибельному участку V4 гена *16S* рРНК F515 GTGCCAGCMGCGCG-GTAA и R806 GGACTACVSGGGTATCTAAT [Bates et al., 2011]. Все праймеры имели служебные последовательности, содержащие линкеры и баркоды, необходимые для секвенирования по технологии Illumina.

Подготовку проб и секвенирование на приборе Illumina MiSeq (Illumina, США) проводили согласно рекомендациям производителя с использованием набора реактивов MiSeq® ReagentKit v3, методом парно-концевого чтения генерацией не менее 20000 парных прочтений на образец.

Обработку данных секвенирования проводили с использованием автоматизированного алгоритма QIIME 2 [Bolyen et al., 2019]. Для удаления технических последовательностей в полученных сиквенсах использовали пла-

гин *q2-cutadapt*. При помощи инструментов программы проверяли качество секвенирования и создавали библиотеку сиквенсов. Исправление ошибок с использованием плагина DADA2 [Callahan et al., 2016] достигалось за счет удаления химерных последовательностей, фильтрации последовательностей с низкими показателями достоверности прочтения, объединения прямых и обратных прочтений и процесса шумоподавления. В ходе последующего биоинформационного анализа проводили классификацию репрезентативных последовательностей по таксонам с восстановлением исходных фило типов (ASV, Amplicon sequence variant) и дальнейшей таксономической классификацией полученных ASV. Использовали базу нуклеотидных последовательностей GreenGenes, версия 13.8, адаптированную к праймерам F515/R806. Порог классификации составлял 99 %. Для визуализации результатов изучения состава сообществ на разных таксономических уровнях использовали сайт view.qiime2.org.

Для оценки таксономического богатства/биоразнообразия и сравнительной оценки прокариотных сообществ при помощи того же алгоритма QIIME 2 рассчитаны индексы альфа- и бета-разнообразия, при расчете которых проводили нормализацию выборок по образцу с наименьшей глубиной секвенирования (13000 последовательностей). Альфа-разнообразие характеризовали с помощью нескольких показателей: индексов Шеннона, Чоу1, Фишера, Пиелу и Симпсона [Мэгарран, 1992], и по количеству обнаруженных таксонов – аналога видового богатства. Для оценки бета-разнообразия использовали метрику “weighted UniFrac”, позволяющую определить процент сходства/различия между парами сравниваемых сообществ [Lozupone et al., 2007]. Результат представлен с использованием метода многомерной статистики – анализа главных компонент РСоА. Диаграмма построена по методу неметрического многомерного шкалирования (non metric multidimensional scaling – NMDS) на основе метрики сходства “weighted UniFrac”.

Количество общих родов в списках, полученных на платформе QIIME 2, визуализировали также с помощью диаграмм Венна. Сравнение списков для четырех образцов проводили с построением диаграмм с помощью интерак-

Т а б л и ц а 1
Особенности почв и растительности на площадках мониторинга

Особенности компонентов биocenоза	Площадка мониторинга почв и растительности			
	СТ	СУ1	СУ2	ФП
Морфологические особенности почв	Красно-бурый средний суглинок	Супесь, подстилаемая карбонатным суглинком	Супесь	Коричневато-серый суглинок на пойменной террасе
	Мелкокомковатая структура	Глубина подстилки сильно варьирует	На поверхности слой слабо-разложившихся органических остатков, ниже – минеральная толща серо-сизого цвета	Аллювиальные отложения из песков с гравием и галькой в основании, перекрытые сверху суглинком
Особенности химического состава почв	pH _{KCl} 7,7	pH _{KCl} 7,4	pH _{KCl} 6,2	pH _{KCl} 5,6
	C _{орг} – 1,6 %	C _{орг} – 4,6 %	C _{орг} – 5,0 %	C _{орг} – 3,2 %
Особенности растительного покрова	As 10,1 мг/кг (ОДК 10 мг/кг)	Sr 397–1150 мг/кг (фон 118 мг/кг), NO ₃ ⁻ – 260 мг/кг (ПДК 140 мг/кг)	–	–
	ПП 85 %	ПП 100 %	ПП 100 %	ПП 100 %
	Неустойчивая растительная ассоциация. В 2022 г. доминирующие виды <i>Agropyron repens</i> Beauv., <i>Lathyrus pratensis</i> L.	Устойчивая ассоциация <i>Agropyron repens</i> Beauv.	Устойчивая гидрофильная группировка <i>Phragmites communis</i> Trin	Устойчивая ассоциация <i>Tilia cordata</i> Mill. (<i>T. parvifolia</i> Ehrh.) – <i>Matteuccia struthiopteris</i> L. Tod

тивного инструмента InteractiVenn (<http://www.interactivenn.net/>) [Heberle et al., 2015].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате секвенирования последовательностей фрагмента гена *16S* рРНК получены четыре ампликонные библиотеки, содержащие в общей сложности 177613 нуклеотидных последовательностей, из которых после удаления стандартных последовательностей и праймеров, проверки качества, фильтрации и шумоподавления в дальнейшем анализе использовали 83045 (табл. 2).

По результатам классификации репрезентативных последовательностей по таксонам с восстановлением исходных филоотипов получено 60452 ASV, с варьированием их количества, в зависимости от образца, от 13433 до 17937 (в среднем 15113). Для всех образцов достигнута достаточно большая глубина секвенирования (более 13000 последовательностей в образце). Анализ кривых разрежения (зависимость количества таксонов от количества сиквенсов) показал практически полное определение таксономического состава уже для выборок в 5000 сиквенсов (рис. 1). Для всех четырех субстратов кривые выходят на плато, что свидетельствует о том, что полученных данных вполне достаточно для оценки разнообразия микроорганизмов в образцах. В целом кривые разрежения имеют сходную форму и демонстрируют более высокое в сравнении с другими образцами таксономическое богатство в образце природной аллювиальной почвы, представляющей собой аналог той, что была нарушена вследствие размещения хранилища с жидкими отходами химического производства.

Анализ показателей таксономического богатства продемонстрировал меньшее количе-

ство выявленных таксонов в молодых почвах техногенного ландшафта (385–411) по сравнению с природной почвой (465) фонового участка (табл. 3). Как и ожидалось, величина индекса Чоа1, оценивающего максимально возможное видовое богатство, в природной почве была выше, чем в микробиомах формирующихся почв. Судя по соотношению этих показателей, в результате секвенирования удалось выявить более чем 99 % таксономического богатства исследуемых субстратов.

Индексы Шеннона, Фишера и Симпсона демонстрировали сходные результаты в разделении прокариотных сообществ по уровню разнообразия и выравненности. Максимальные значения соответствовали фоновой почве, минимальные – СУ2. Согласно оценке степени выравненности прокариотных сообществ с помощью индекса Пиелу, ФП отличалась от молодых почв также большей выравненностью таксономической структуры. Индексы Шеннона и Фишера, отражающие не только количество таксонов, но и их относительное обилие в сообществе, показали лучшие результаты в сравнении с индексом Симпсона, который служит также мерой доминирования, поскольку его величина полностью определяется долей 1–2 наиболее многочисленных видов [Шитиков, Розенберг, 2005]. Индекс Симпсона в качестве меры разграничения сообществ по разнообразию уступал другим, по-видимому, в силу того, что в почвенном метагеноме на низких таксономических уровнях обычно отсутствуют четко выраженные доминанты.

Индекс Фишера используют также для определения соотношения между числом особей и числом видов в биоценозе [Экологический энциклопедический словарь, 1989]. Более высокое значение индекса Фишера ($F = 93,6$), обнаруженное в ФП, может означать боль-

Т а б л и ц а 2
Количественные результаты биоинформатического анализа ДНК-библиотек

Площадка мониторинга почв и растительности / Код библиотеки	Общее количество видов	Количество последовательностей			Ампликон-сиквенс варианты (ASV)
		после фильтрации	после шумоподавления	после слияния парноконцевых ридов	
ФП	53313	42293	37323	28365	17937
СТ	41240	33285	27164	18196	14173
СУ1	44902	36174	29920	19511	14909
СУ2	38158	30930	23449	16973	13433

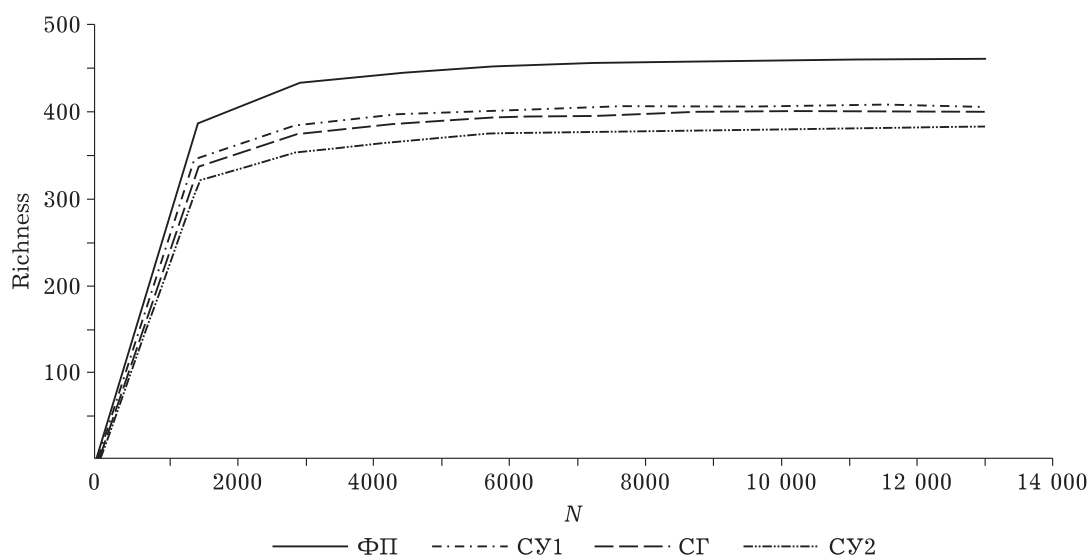


Рис. 1. Зависимость числа обнаруженных таксонов (Richness) от количества сиквенсов (N).
Обозначения см. в табл. 1

шее число редких видов (с небольшой плотностью) по сравнению с часто встречающимися видами с большой плотностью. В то же время меньшие значения индекса Фишера ($F = 74,1-80,3$) в нарушенных почвах, напротив, указывают на то, что число часто встречающихся видов превышает в данных сообществах число видов редких.

В образцах молодых почв на насыпных материалах и природной аллювиальной почвы выявлены на основе таксономической базы данных GreenGenes представители 26 бактериальных и двух архейных филумов прокариот. Доминировали в исследованных микробных сообществах филумы *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Chloroflexi*, *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes*, *Verrucomicrobia*, *Planctomycetes* и архейный филум *Crenarcheota*, которые составили в совокупности около 95 % от всего числа классифици-

рованных последовательностей (рис. 2). Абсолютными доминантами по представленности таксонов от общего количества выявленных прокариот были филумы *Actinobacteria* (22–41 %) и *Proteobacteria* (20–26 %). Представители филума *Actinobacteria* являются основными деструкторами растительного опада, завершая сложный процесс его конвейерной переработки [Barka et al., 2016], в то время как протеобактерии, наряду с различными патогенными и свободноживущими организмами, включают представителей, ответственных за деградацию ряда органических загрязнителей и разложение органических отходов в поверхностных слоях свалок [Sharma et al., 2021]. От 8 до 21 % всех выявленных прокариот занимали *Chloroflexi* – нитчатые анаэробные фотосинтезирующие бактерии, которые, согласно данным литературы, часто встречаются в составе активного ила очистных

Т а б л и ц а 3
Индексы таксономического богатства и разнообразия прокариот в образцах техносолей и фоновой почвы

Площадка мониторинга почв и растительности	Индекс разнообразия			Выявленные таксоны (богатство)	Индекс Фишера	Индекс Пielу
	Чао1	Шеннона	Симпсона			
ФП	466	8,48	0,9966	465	93,6	0,959
СГ	403	8,25	0,9960	403	78,3	0,953
СУ1	411	8,24	0,9956	411	80,3	0,949
СУ2	385	8,08	0,9954	385	74,1	0,940

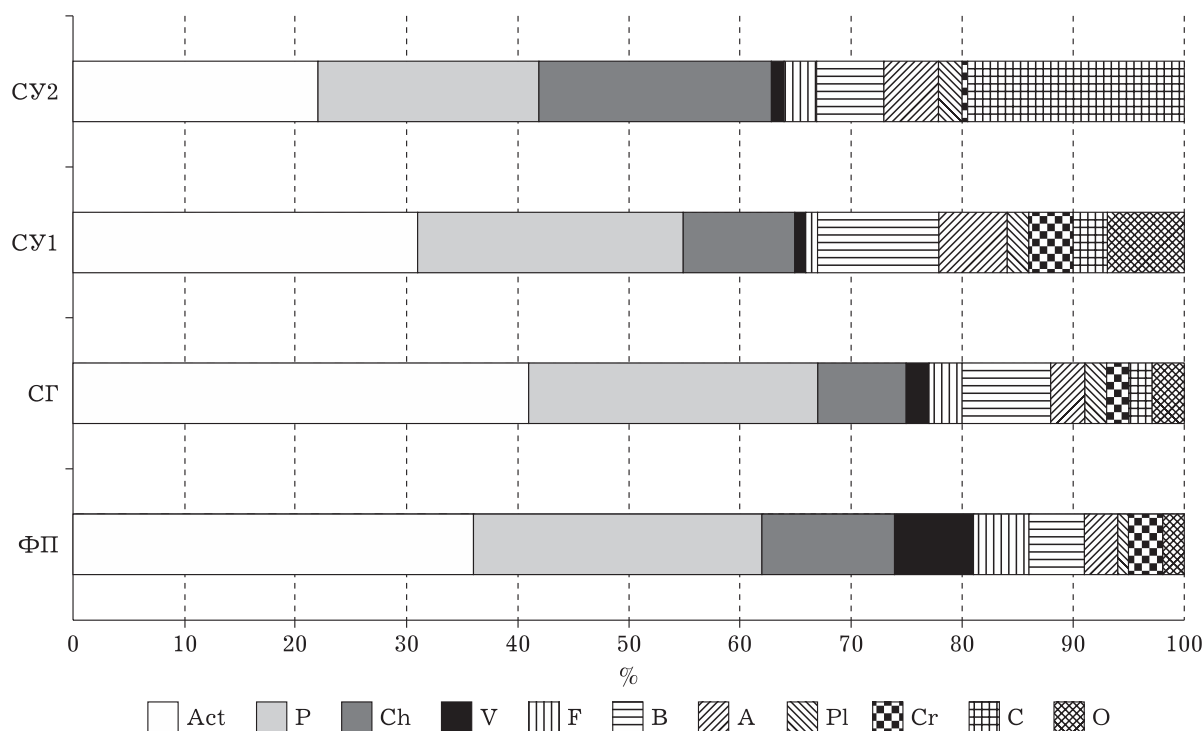


Рис. 2. Сравнительное обилие доминирующих филумов: Act – Actinobacteria; P – Proteobacteria, Ch – Chloroflexi, V – Verrucomicrobia, F – Firmicutes, B – Bacteroidetes, A – Acidobacteria, Pl – Planctomycetes, Cr – Crenarchaeota, C – Cyanobacteria, O – другие

сооружений, предназначенных для удаления азота и фосфора. Отдельные представители *Chloroflexi* могут использовать галогенированные органические вещества, например токсичные хлорированные этены и полихлорированные бифенилы, в качестве акцепторов электронов [Speirs et al., 2019].

Представители филумов *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes*, *Verrucomicrobia*, *Planctomycetes* обнаружены в исследуемых микробиомах в меньших количествах (от 1 до 14 %). Остальные филумы представлены не во всех образцах и имели низкое относительное обилие (доли процента от общего числа последовательностей фрагментов гена 16S рРНК).

Оценка таксономического состава прокариот на уровнях высокого ранга выявила в техногенных почвах ряд отличий от сообщества ФП. Прокариотные сообщества техносолей отличала более высокая доля *Cyanobacteria* (2–14 %) и более низкая – *Verrucomicrobia* (1–2 %) – группы со слабо изученной экологией, среди которых много некультивируемых видов [Bergman et al., 2011]. Предполагается, что *Verrucomicrobia* являются олиготрофами,

адаптированными к недостатку органического вещества [Zhang et al., 2017].

От 0,5 до 4 % в техносолях и 3 % в ФП приходилось на долю представителей архейного филума *Crenarchaeota*, большинство членов которого являются экстремофилами. Увеличение в прокариотном сообществе доли экстремофильной группы предложено считать индикатором экологической нестабильности почвы [Першина и др., 2016]. Представители другого филума археот – *Euryarchaeota* – отмечены только в сообществе участка СУ2, представляющего собой западину с избыточным увлажнением и слегка подкисленной почвой (рН 6,0), и не встречались в других исследованных микробиомах. В литературе отмечалось, что относительное обилие эвриархеот на всех таксономических уровнях существенно зависит от реакции почвенного раствора и содержания в почве влаги [Hang-Wei et al., 2013].

Анализ разнообразия доминирующих филумов на более низких таксономических уровнях показал, что в классе актинобактерий во всех микробиомах доминировали представители порядка Actinomycetales (97–100 %). Самыми многочисленными в природ-

ной почве ФП были представители семейств Micromonosporaceae (17 %), Microbacteriaceae (15 %) и Nocardioidaceae (13 %). По 11 % от всех актинобактерий ФП приходилось на долю Thermomonosporaceae и Pseudonocardiaceae. На уровне рода наиболее многочисленные актиномицетные последовательности отнесены к *Agromyces*, *Nocardioides*, *Salinibacterium*, *Pseudonocardia*. В техногенных почвах удельный вес представителей семейств Microbacteriaceae (20–26 %) и Nocardioidaceae (15–26 %) был значительно выше, а доля Micromonosporaceae (2–8 %), напротив, ниже, чем в ФП. Только в техносолях отмечены неидентифицированные представители семейства Intrasporangiaceae, наиболее многочисленного в суглинистой почве участка СГ. Согласно литературным источникам, некоторые представители Intrasporangiaceae участвуют в процессах биоремедиации и биологическом удалении фосфатов из сточных вод [Stackebrandt et al., 2014]. Возможно, их обнаружение в почве СГ, с более высоким содержанием химического аналога фосфора – мышьяка (см. табл. 1), не является случайным.

Протеобактерии разных классов присутствовали в микробиомах в различных соотношениях. Относительное обилие класса Alphaproteobacteria (от 53 до 71 %) составляло более 50 % среди протеобактерий в каждом из сообществ. В фоновой почве наиболее многочисленными среди альфапротеобактерий были порядки Rhizobiales (34 %), Rhodospirillales (38 %) и Sphingomonadales (17 %). В техногенных почвах к ним присоединились бактерии порядка Rhodobacterales (от 4 до 18 % от всех сиквенсов Alphaproteobacteria). В литературе имеются сведения об обнаружении *Rhodobacterales* (в основном относящихся к родам *Dinoroseobacter* и *Loktanella*) на малых высотах Тибетского плато, где они доминировали в микрофототрофных сообществах напочвенных корок, особенно – при невысоком обилии цианобактерий. Авторы отмечают устойчивую положительную связь *Rhodobacterales* с содержанием в почве Cl^- [Yang, Hu, 2022].

В техносолях, где уровень pH выше по сравнению с ФП, относительное обилие Alphaproteobacteria сокращалось, а представителей классов Betaproteobacteria и Gammaproteobacteria, напротив, возрастало. Это согласуется с результатами широкомасштаб-

ных исследований, проведенных в Новой Зеландии и показавших, что численность Alphaproteobacteria, в отличие от других классов протеобактерий, уменьшалась по мере того, как почвы становились менее кислыми [Hermans et al., 2017]. Betaproteobacteria в основном представлены семейством Comamonadaceae (от 23 до 40 %), которое включает аэробных органотрофов, анаэробных денитрификаторов и микроорганизмы, участвующие в анаэробном окислении водорода с Fe(III)-редукцией. Большинство из них – типичные обитатели водной и почвенной среды [Moon et al., 2018]. В отличие от техногенных почв, в ФП наиболее представительными среди Betaproteobacteria были семейства Oxalobacteraceae и Burkholderiaceae (34 и 15 % соответственно). Количество последовательностей, соотношенных с семейством Comamonadaceae, в ФП составило лишь 13 % от всех сиквенсов Betaproteobacteria.

Среди Gammaproteobacteria классифицированные последовательности соотносились в основном с порядками Pseudomonadales и Xanthomonadales, причем в сообществе оглеенной почвы пониженного участка СУ2 представители Pseudomonadales выявлены не были. В ФП лидировали по численности представители семейства Sinobacteraceae, за ними следовали род *Pseudomonas* и неидентифицированные представители семейства Xanthomonadaceae (51, 21 и 12 % от всех сиквенсов гаммапротеобактерий соответственно).

По относительному обилию Deltaproteobacteria техногенные почвы (от 14 до 21 %) практически не отличались от природной (18 % от всех протеобактерий). Основная доля во всех микробиомах принадлежала представителям порядка Мухососcales (43–53 %), отнесенным к семействам Polyangiaceae, Syntrophobacteraceae, Entotheonellaceae. Представители последнего семейства в нарушенных микробиомах СУ1 и СУ2 не обнаруживались, а в почве СГ их доля по сравнению с ФП была меньше в 10 раз. Это согласуется с результатами изучения состава прокариот в почвах разновозрастных парков Пекина. Обилие Entotheonellaceae в почвах естественных лесопарков было гораздо выше, чем в молодых почвах городских скверов [Yan et al., 2021].

Представители филума *Bacteroidetes* встречались во всех образцах, составляя от 5 %

в ФП до 6–11 % в техносолях. Среди них преобладали сиквенсы, отнесенные к семействам Chitinophagaceae, Sphingobacteriaceae, Cytophagaceae, а также к порядку Flavobacteriales.

От 1,3 до 2,2 % всех сиквенсов в нарушенных почвах и до 5,4 % в ФП составляли последовательности, отнесенные к филуму *Firmicutes*, большинство из которых представляли порядки Bacillales и Clostridiales. Относительное обилие рода *Clostridium*, напротив, увеличивалось с 7 % от всех *Firmicutes* в ФП до 15–27 % в техносолях. Присутствие клостридий рассматривают как косвенный индикатор наличия в почве дополнительных анаэробных экологических ниш (в частности, анаэробных зон внутри почвенных комочков), что может свидетельствовать о развитости ее агрегатной структуры [Першина и др., 2016].

На долю филума *Acidobacteria* в исследованных микробиомах приходилось от 3 до 6 % всего выявляемого бактериального комплекса. Согласно данным литературы, ацидобактерии распространены повсеместно, но известна их приуроченность к местообитаниям с повышенной кислотностью, в том числе загрязненных тяжелыми металлами [Hermans et al., 2017]. В ФП, отличавшейся среди рассматриваемых субстратов наиболее низким уровнем pH, этот филум был представлен таксономическими группами *Acidobacteria-6*, *Chloracidobacteria* и порядком Solibacterales – ацидофильными и олиготрофными бактериями, способными к гидролитическому расщеплению широкого спектра биополимеров [Dedysh, Sininghe Damste, 2018], обладающими большим набором генов, отвечающих за мобилизацию минерального фосфора [Bergkemper et al., 2016]. В техногенных почвах СГ, СУ1 и СУ2 соответственно 17, 19 и 64 % приходилось на долю подгрупп ацидобактерий, не имеющих культивируемых представителей.

Значительную долю от общего количества сиквенсов в микробиомах техногенных почв занимал филум *Cyanobacteria*, представленный преимущественно семействами Nostocaceae и Oscillatoriothyracaceae, тогда как в ФП цианобактерии обнаружены в незначительном количестве (0,09 %). Цианобактерии и водоросли обеспечивают начальные этапы формирования почв при зарастании отвалов, при этом ведущая роль в этом процессе принадлежит цианобактериям [Микроорганизмы...,

2018; Кондакова, Дабах, 2020]. При сравнении участков СГ и СУ1 с пониженным участком СУ2 доля цианобактерий увеличивалась от 2 до 14 %, очевидно, в связи с большей увлажненностью последнего. В техносолях последовательности цианей соотнесены на уровне рода с *Dolichospermum*, *Nostoc*, *Anabena*, *Phormidium*. По результатам предыдущих исследований видового состава почвенных микроредотрофов методом прямого микроскопирования, в почвах данных участков доминировали виды *Phormidium autumnale* (СГ, СУ1 и СУ2) и *Leptolyngbya angustissima* (СГ и СУ2). Почва участка СУ2 отличалась наиболее широким спектром доминантов, включающим, помимо упомянутых, влаголюбивые виды *Leptolyngbya foveolarum*, *Phormidium uncinatum*, *P. inundatum*, *Anabaena sphaerica* f. *sphaerica*, *Calothrix elenkinii*, *Stigonema ocellatum* [Кондакова, Дабах, 2022].

Таким образом, при сравнении микробных сообществ природной фоновой и техногенно нарушенных почв на уровне высших таксонов – филумов и классов – значительных различий в их составе и количественной представленности, за несколькими исключениями (более низкая доля Verrucomicrobia, более высокая доля Cyanobacteria, смещение соотношения классов протеобактерий), не наблюдалось. Гетерогенность по таксономическому составу прокариот просматривалась в сравниваемых микробиомах на уровне порядков, семейств и родов. Это может быть связано с вариативностью физико-химических параметров насыпных почвогрунтов, создающей многообразие экологических ниш. По-видимому, формирование определенной структуры микробных сообществ является результатом совокупного действия комплекса эдафических факторов и типа растительности. Так, высоким относительным обилием порядка Acidimicrobiales (филум *Actinobacteria*, класс Acidimicrobia), многие представители которого вовлечены в окислительно-восстановительные реакции круговорота железа, отличалось сообщество красно-бурого среднего суглинка с низким содержанием органического вещества и наличием в почве мышьяка на уровне ОДК 10 мг/кг (СГ). Сообщество подстилаемой карбонатным суглинком супеси с повышенным содержанием нитратного азота и стронция (СУ1) отличалось наибольшей среди исследо-

ванных образцов представленностью аммиак-окисляющих архей (АОА). Особой специфичностью характеризовался микробиом оглеенной супеси СУ2, отличающейся от других техносолей более низким положением в рельефе, наиболее низким уровнем pH, повышенным содержанием органического вещества и избыточным увлажнением, обусловившим формирование на данной площадке гидрофильной растительной ассоциации (см. табл. 1). В составе прокариотного сообщества СУ2 обнаружены представители архейного филума *Euryarchaeota*, которые не встречались в других микробиомах, и самая высокая среди сравниваемых сообществ доля филума *Cyanobacteria* (14 %). В СУ2, в отличие от других техногенных почв, в бактериальных комплексах которых не выявлялись представители семейства *Entothionellaceae*, обычно ассоциированные с природными ненарушенными почвами, данные представители присутствовали, хотя и на порядок в меньшем обилии, чем в ФП.

Сравнение таксономической структуры микробных сообществ техносолей и природной фоновой почвы проведено также с использо-

ванием диаграмм Венна (рис. 3), на которых показано количество родов, общих и уникальных для сравниваемых образцов. К числу общих для всех исследованных микробиомов был отнесен 61 род прокариот. В долевого соотношении они составили 16,1 % от всей совокупности полученных ASV. В число общих вошли АОА – некультивируемые микроорганизмы, осуществляющие первую стадию хемолитоавтотрофной нитрификации, которые представляют собой функционально важную группу микроорганизмов во многих экосистемах [Ayub et al., 2022]. На уровне рода АОА классифицированы как “*Candidatus Nitrososphaera*”, “*Candidatus Nitrosopolaris*” и “*Candidatus Nitrocosmicus*” [Spang et al., 2012]. Наиболее высоким содержанием АОА (4 %) отличалась почва СУ1, выделяющаяся высоким содержанием нитратного азота (260 мг/кг). Положительная связь между обилием архей и количеством в почве доступного азота ранее уже была отмечена рядом авторов [Bates et al., 2011; Тхакахова и др., 2015].

Из числа актинобактерий общими для всех микробиомов являлись представители родов

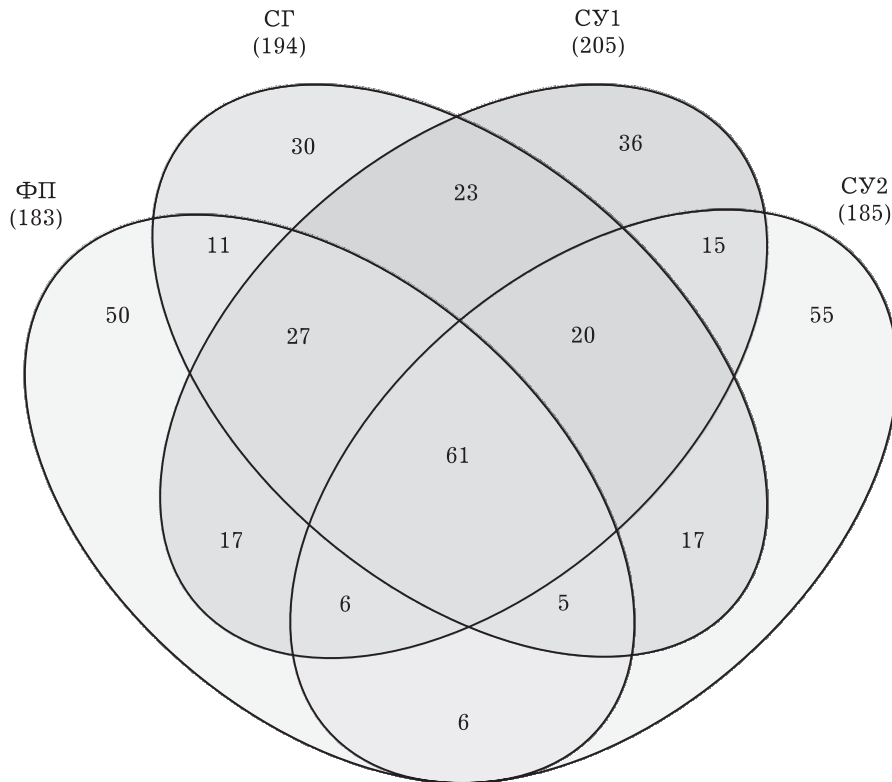


Рис. 3. Диаграмма Венна, отображающая число общих и уникальных родов в образцах техносолей (СУГ, СУ1 и СУ2) и природной фоновой почвы (ФП). В скобках приведено общее количество ASV

Microbacterium, *Salinibacterium*, *Agromyces*, *Pseudonocardia*, *Nocardioides*, *Streptomyces*, *Mycobacterium*, неидентифицированные представители семейств *Conexibacteraceae*, *Solirubrobacteraceae*, *Micromonosporaceae*, *Gaiellaceae* и порядка *Acidimicrobiales*.

Среди представителей других таксономических групп к общим отнесены роды *Kaistobacter*, *Chloracidobacterium*, *Rhodoplanes*, *Devosia*, *Nitrospira*, *Pedobacter*, *Pirellula*, *Planctomyces* и минорные виды *Sphingopyxis alaskensis*, *Flavobacterium succinicans*, *Reyranella massiliensis*, *Clostridium bowmani*.

При анализе таксономической структуры почвенного микробиома некоторые авторы выделяют коровый (консервативный) и акцессорный (лабильный) компоненты [Тхакахова и др., 2015]. Микроорганизмы-индикаторы почв, процессов или условий при анализе данных ампликонного секвенирования предложено искать среди акцессорного компонента, связанного, вероятно, в большей степени с условиями среды обитания микроорганизмов, чем коровый компонент, характеризующийся общностью состава в большинстве, если не во всех почвенных субстратах.

По количеству уникальных родов, не встречающихся в других микробиомах, почвенные сообщества прокариот различались следующим образом: в образце СУ2 – 14,5 %, в ФП – 13,2 %, в СГ и СУ1 – 7,9 и 9,5 % от всех классифицированных последовательностей соответственно.

Образец фоновой почвы содержал 50 уникальных родов, принадлежащих широкому

таксономическому спектру (в порядке снижения количества последовательностей): *Thermomonosporaceae*, *Ktedonobacteria* JG30-KF-AS9, *Rhizobiales*, *Chloroflexi* FFCH4570, *Acidimicrobiales* AKIW874, *Cellulomonas xylanilytica*, *Koribacteraceae*, и ряду некультивируемых бактерий, преимущественно отнесенных к *Acidobacteria* и *Chloroflexi*.

Из 30 родов, уникальных для СГ, наиболее многочисленными являлись некультивируемые бактерии *Pedosphaerales* Ellin517, *Chloroflexi* TK17 и mle1-48, *Acidobacteria*-6, CCU21, RB25, актинобактерии *Microthrixaceae*, планктомицеты, галофильный и психротолерантный вид *Marinomonas primoryensis* и факультативный метилотроф *Methylobacterium organophilum*.

В подстилаемой карбонатами СУ1, отличающейся высоким содержанием стронция и нитратного азота, уникальными были 36 родов, среди которых высоким обилием характеризовались *Nitrosovibrio*, *Myxococcus*, “*Candidatus Protochlamydia*”, *Ardenscatena*.

По количеству уникальных родов все другие микробиомы превосходило прокариотное сообщество СУ2 (55 родов). Наиболее многочисленными в нем были *Anaerolinea thermolitos* и другие культивируемые и некультивируемые представители *Anaerolineaceae*, цианобактерии порядка *Chroococcales* и рода *Phormidium*, нитчатые зеленые несерные бактерии *Chloroflexaceae* и представительная группа бактерий, вовлеченных в круговорот серы (*Desulfobulbaceae*, *Chromatiaceae*, *Thiobacillus*), некультивируемые представители *Crenarchaeota*, *Alphaproteobacteria* BD7-3, *Deltaproteobacteria* NB1-j и JTB38.

Выявленные особенности сравниваемых микробиомов хорошо подтверждаются результатами ординации микробных сообществ, выполненной методом главных компонент (рис. 4). Полученный 3D график характеризует более 95 % общей изменчивости родового состава прокариот в исследуемых образцах. Наиболее близко в ординационном пространстве расположены друг к другу сообщества образцов СГ и СУ1, которые объединяет сходный характер растительного покрова (в основе ассоциаций в том и другом случае пырей ползучий (*Agropyron repens*)), а также наличие в почве поллютантов в концентрациях, превышающих ОДК и ПДК – мышьяка в СГ и стронция в СУ1.

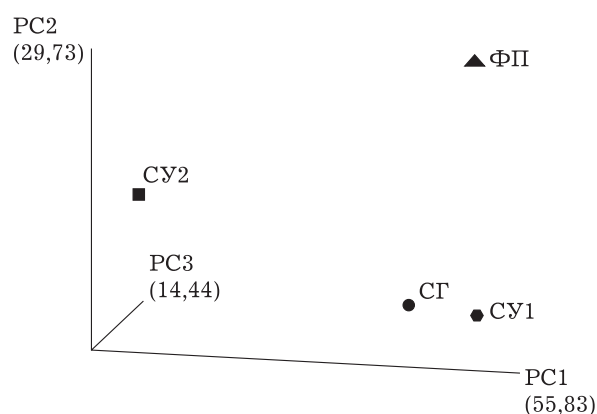


Рис. 4. Ординация почвенных прокариотных сообществ техносолей (СГ, СУ1 и СУ2) и природной фоновой почвы (ФП), выполненная методом главных компонент

Оба почвенных микробиома характеризуются реакцией среды, близкой к нейтральной, но почвы различаются по гранулометрическому составу, содержанию $C_{орг}$ и нитратного азота (см. табл. 1). На более значительном расстоянии от первых двух и друг от друга располагаются точки, соответствующие образцам ФП и СУ2, различающимся между собой по составу растительного покрова (липняк и заросли тростника). Вместе с тем для обоих участков характерны слабокислая реакция среды ($pH_{сол}$ 5,6 и 6,2), повышенное в сравнении с другими микробиомами содержание $C_{орг}$ (3,2 и 2,8 %), отсутствие высоких концентраций поллютантов и периодическое воздействие на почву избыточного увлажнения.

В целом, данная диаграмма демонстрирует выраженные различия в составе прокариот между образцами, различающимися по целому ряду параметров. Расположенные близко друг к другу почвы на площадках мониторинга СТ, СУ1 и СУ2 и природная почва ФП значительно различались по характеру растительного покрова, гранулометрическому составу, содержанию органического вещества и кислотности, наличию поллютантов, соответственно, сравнительный анализ таксономического состава сообществ прокариот продемонстрировал имеющиеся между ними различия на уровне таксонов как высокого, так и низкого ранга.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе данных высокопроизводительного секвенирования изучено разнообразие и определена таксономическая структура прокариотных сообществ техногенных почв на территории засыпанного хранилища жидких отходов химического производства. Спустя двенадцать лет после заполнения котлована твердым материалом – песком, глиной с примесью извести и гипсом, в процессе самозаращения территории сорной растительностью, характерной для окружающего ландшафта, в молодых почвах с еще не оформленным профилем сформировались микробные сообщества, отличные от природной аллювиальной почвы особо охраняемой природной территории – ГПЗ “Нургуш” (новый участок).

В сравнении с условным фоном, микробиомы молодых почв характеризовались меньши-

ми разнообразием и выравненностью прокариотных сообществ, преобладанием в структуре часто встречающихся видов над редкими. Несмотря на сходство с природной аллювиальной почвой по составу доминантов, техносоли на уровне таксонов высокого ранга характеризовались меньшей долей в составе прокариотного комплекса представителей филума *Verrucomicrobia* и большей – филума *Cyano-bacteria*. В техносолях выявлено смещение состава протеобактерий в сторону большей представительности классов *Betaproteobacteria* и *Gammaproteobacteria* при сокращении доли *Alphaproteobacteria*. Между пространственно разобщенными прокариотными сообществами формирующихся почв также выявлены различия на уровне порядков, семейств и родов, связанные, по всей видимости, с исходной гетерогенностью насыпных грунтов по гранулометрическому составу, кислотности, наличию поллютантов. Выявленные особенности техногенных почв вносят вклад в понимание разнообразия, состава и структуры прокариотного компонента на начальном этапе почвообразовательного процесса. Вместе с тем в работе показано, что техническая рекультивация хвостохранилища с использованием рыхлых природных материалов (песка и глины), а также нетоксичных отходов производства (извести и гипса) при самозаращении достаточно быстро возвращает микробное сообщество к состоянию, близкому к исходному микробиому природной почвы в условиях особо охраняемой природной территории.

Полученные результаты могут быть в дальнейшем использованы при биоиндикации, в оценке процесса восстановления почвенных экосистем, нарушенных в результате деятельности промышленных предприятий, для разработки новых подходов в будущих исследованиях связи почвенной микробиоты с изменениями экосистем, вызванными деятельностью человека.

Работа выполнена в рамках государственного задания Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН по теме “Структура и состояние компонентов техногенных экосистем подзоны южной тайги” (государственная регистрация в ЕГИСУ № 122040100032-5) и частично в рамках государственного задания “Федерального аграрного научного центра Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого”, № FNWE-2022-0005.

ЛИТЕРАТУРА

- Андронов Е. Е., Иванова Е. А., Першина Е. В., Орлова О. В., Круглов Ю. В., Белимов А. А., Тихонович И. А. Анализ показателей почвенного микробиома в процессах, связанных с почвообразованием, трансформацией органического вещества и тонкой регуляции вегетационных процессов // Бюл. Почвенного ин-та им. В. В. Докучаева. 2015. № 80. С. 83–94.
- Дмитракова Я. А., Абакумов Е. В., Першина Е. В., Иванова Е. А., Андронов Е. Е. Динамика растительного сообщества и микробиома хроносерий посттехногенных почв в известняковом карьере в условиях рекультивации // С.-х. биология. 2018. Т. 53, № 3. С. 557–569. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.3.557rus>
- Кондакова Л. В., Дабах Е. В. Мониторинг альго-цианобактериальных сообществ на техногенной территории // Теорет. и прикл. экология. 2022. № 1. С. 84–90. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2022-1-084-090>
- Кондакова Л. В., Дабах Е. В., Кислицына А. П. Формирование биоценоза на техногенных отходах // Теорет. и прикл. экология. 2020. № 4. С. 129–135. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2020-4-120-135>
- Манучарова Н. А., Ксенофонтова Н. А., Белов А. А., Каменский Н. Н., Арзамазова А. В., Зенова Г. М., Кинжаев Р. Р., Трофимов С. Я., Степанов А. Л. Прокариотный компонент нефтезагрязненной торфяной олиготрофной почвы при разном уровне минерального питания // Почвоведение. 2021. № 1. С. 80–89. <https://doi.org/10.31857/S0032180X2101010X> [Manucharova N. A., Ksenofontova N. A., Belov A. A., Kamenskiy N. N., Arzamazova A. V., Zenova G. M., Kinzhaev R. R., Trofimov S. Ya., Stepanov A. L. Prokaryotic component of oil-contaminated oligotrophic peat soil under different levels of mineral nutrition: biomass, diversity, and activity // Eurasian Soil Sci. 2021. Vol. 54, N 1. P. 89–97. <https://doi.org/10.1134/S1064229321010105>]
- Микроорганизмы как агенты биомониторинга и биоремедиации загрязненных почв / Т. Я. Ашихмина и др.; под общ. ред. Т. Я. Ашихминой, Л. И. Домрачевой. Киров: Науч. изд-во ВятГУ, 2018. 254 с.
- Мэгарран Э. Экологическое разнообразие и его измерение. М.: Мир, 1992. 181 с.
- Налиухин А. Н., Хамитова С. М., Глинушкин А. П., Авдеев Ю. М., Снетилова В. С., Лактионов Ю. В., Белозеров Д. А. Изменение метабенома прокарриотного сообщества как показатель плодородия пахотных дерново-подзолистых почв при применении удобрений // Почвоведение. 2018. № 3. С. 331–337.
- Орлова О. В., Чирак Е. Л., Воробьев Н. И., Свиридова О. В., Лисина Т. О., Андронов Е. Е. Таксономический состав и организация микробного сообщества дерново-подзолистых почв после внесения соломы зерновых культур и использования препарата Баркон // С.-х. биология. 2019. Т. 54, № 1. С. 47–64.
- Першина Е. В., Иванова Е. А., Нагиева А. Г., Жиенгалиев А. Т., Чирак Е. Л., Андронов Е. Е., Сергалиев Н. Х. Сравнительный анализ микробиомов природных и антропогенно-нарушенных почв Северо-Западного Казахстана // Почвоведение. 2016. № 6. С. 720–732 [Pershina E. V., Ivanova E. A., Nagieva A. G., Zhiengaliev A. T., Chirak E. L., Andronov E. E., Sergaliev N. Kh. A comparative analysis of microbiomes in natural and anthropogenically disturbed soils of northwestern Kazakhstan // Eurasian Soil Sci. 2016. Vol. 49, N 6. P. 673–684. <https://doi.org/10.1134/S1064229316060090>].
- Розанов Б. Г. Морфология почв: учебник для высш. шк. М.: Академический проект, 2004. 432 с.
- Российская промышленность на четверть увеличила негативное воздействие на почву [Электронный ресурс]. URL: <https://finexpertiza.ru/press-service/researches/2022/neg-vozd-na-poch/>
- Российские предприятия в 2021 году произвели рекордное количество отходов [Электронный ресурс]. URL: <https://finexpertiza.ru/press-service/researches/2022/rek-kol-otkhod-pred/>
- Соколов Д. А., Кулижский С. П., Доможакова Е. А., Госсен И. Н. Особенности формирования почв техногенных ландшафтов в различных природно-климатических зонах юга Сибири // Вестн. Том. гос. ун-та. 2012. Т. 364. С. 225–229.
- Тхакахова А. К., Чернов Т. И., Иванова Е. А., Кутюва О. В., Когут Б. М., Завалин А. А. Изменение метабенома прокарриотного сообщества черноземов под воздействием минеральных удобрений // Докл. РАСХН. 2015. № 6. С. 20–23. [Tkhakakhova A. K., Chernov T. I., Ivanova E. A., Kutovaya O. V., Kogut B. M., Zavalin A. A. Changes in the metagenome of the prokaryotic community of chernozems under the influence of mineral fertilizers // Russian Agricult. Sci. 2016. Vol. 42. P. 62–65]
- Шахназарова В. Ю., Орлова Н. Е., Орлова Е. Е., Банкина Т. А., Якконен К. Л., Рижия Е. Я., Кичко А. А. Изменения таксономического состава и структуры прокарриотного сообщества агродерново-подзолистой почвы при внесении биоугля // С.-х. биология. 2020. Т. 55, № 1. С. 163–173.
- Шитиков В. К., Розенберг Г. С. Оценка биоразнообразия: попытка формального обобщения // Количественные методы экологии и гидробиологии (сб. науч. тр., посвящ. памяти А. И. Баканова). Тольятти: СамНЦ РАН, 2005. С. 91–129.
- Шишов Л. Л., Тонконогов В. Д., Лебедева И. И., Герасимова М. И. Классификация и диагностика почв России. Смоленск: Ойкумена, 2004. 342 с.
- Экологический энциклопедический словарь / Под ред. И. И. Дедю. Кишинев: Гл. ред. Молд. сов. энцикл., 1989. 406 с.
- Ayub H., Kang M.-J., Farooq A., Jung M.-Y. Ecological Aerobic Ammonia and Methane Oxidation Involved Key Metal Compounds, Fe and Cu // Life. 2022. Vol. 12, N 11. P. 1806. <https://doi.org/10.3390/life12111806>
- Barka E. A., Vatsa P., Sanchez L., Gaveau-Vaillant N., Jacquard C., Klenk H. P., van Wezel G. P. Taxonomy, physiology, and natural products of *Actinobacteria* // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2016. Vol. 80, N 1. P. 1–43. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00019-15>
- Bates S. T., Berg-Lyons D., Caporaso J. G., Walters W. A., Knight R., Fierer N. Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soil // The ISME Journal. 2011. Vol. 5, N 5. P. 908–917. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.171>
- Bergkemper F., Kublik S., Lang F., Kruger J., Vestergaard G., Schlöter M., Schulz S. Novel oligonucleotide primers reveal a high diversity of microbes which drive phosphorous turnover in soil // J. Microbiol. Methods. 2016. Vol. 125. P. 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.04.011>

- Bergman G. T., Bates S. T., Eilers K. G., Lauber C. L., Caporaso J. G., Walters W. A., Knight R., Fierer N. The under-recognized dominance of *Verrucomicrobia* in soil bacterial communities // *Soil Biol. Biochem.* 2011. Vol. 43, N 7. P. 1450–1455. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.03.012>
- Bolyen E., Rideout J. R., Dillon M. R., Bokulich N. A., Abnet C. C., Al-Ghalith G. A., ... Caporaso J. G. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2 // *Nat. Biotechnol.* 2019. Vol. 37. P. 852–857 <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>
- Callahan B. J., McMurdie P. J., Rosen M. J., Han A. W., Johnson A. J. A., Holmes S. P. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data // *Nat. Methods.* 2016. Vol. 13, N 7. P. 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Daniel R. The metagenomics of soil // *Nat. Rev. Microbiol.* 2005. Vol. 3. P. 470–478.
- Dedysh S. N., Sinninghe Damste J. S. Acidobacteria. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, 2018. P. 1–10. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0027685>
- Fierer N., Jackson R. B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities // *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* 2006. Vol. 103. P. 626–631.
- Fierer N., Leff J. W., Adams B. J., Nielsen U. N., Bates S. T., Lauber C. L., Owens S., Gilberte J. A., Wall D. H., Caporaso J. G. Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes // *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* 2012. Vol. 109, N 52. P. 21390–21395. <https://doi.org/10.1073/pnas.1215210110>
- Hang-Wei H., Li-Mei Z., Chao-Lei Y., Ji-Zheng H. Contrasting Euryarchaeota communities between upland and paddy soils exhibited similar pH-impacted biogeographic patterns // *Soil Biol. Biochem.* 2013. Vol. 64. P. 18–27. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.04.003>
- Heberle H., Meirelles G. V., da Silva F. R., Telles G. P., Minghim R. InteractiVenn: a web-based tool for the analysis of sets through Venn diagrams // *BMC Bioinform.* 2015. Vol. 16. P. 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12859-015-0611-3>
- Hermans S. M., Buckley H. L., Case B. S., Curran-Courane F., Taylor M., Lear G. Bacteria as emerging indicators of soil condition // *Appl. Environmental Microbiol.* 2017. Vol. 83 (1). e02826-16. <https://doi.org/10.1128/AEM.02826-16>
- IUSS Working Group WRB (2014). World reference base for soil resources 2014. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World soil resources reports. No. 106. FAO, Rome.
- Lozupone C. A., Hamady M., Kelley S. T., Knight R. Quantitative and qualitative β diversity measures lead to different insights into factors that structure microbial communities // *Appl. Environmental Microbiol.* 2007. Vol. 73, N 5. P. 1576–1585. <https://doi.org/10.1128/AEM.01996-06>
- Moon K., Kang I., Kim S., Kim S. J., Cho J. C. Genomic and ecological study of two distinctive freshwater bacteriophages infecting a Comamonadaceae bacterium // *Sci. Rep.* 2018. Vol. 8, N 1. P. 7989. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26363-y>
- Pinaev A. G., Kichko A. A., Aksenova T. S., Safronova V. I., Kozhenkova E. V., Andronov E. E. RIAM: A Universal Accessible Protocol for the Isolation of High Purity DNA from Various Soils and Other Humic Substances // *Methods and Protocols.* 2022. Vol. 5, N 6. P. 99. <https://doi.org/10.3390/mps5060099>
- Sharma P., Tripathi S., Chandra R. Metagenomic analysis for profiling of microbial communities and tolerance in metal-polluted pulp and paper industry wastewater // *Bioresource Technol.* 2021. Vol. 324. P. 124681. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124681>
- Spang A., Poehlein A., Offre P., Zumbärgel S., Haidner S., Rychlik N., Nowka B., Schmeisser C., Lebedeva E. V., Rattei T., Böhm C., Schmid M., Galushko A., Hatzenpichler R., Weinmaier T., Daniel R., Schlepper C., Spieck E., Streit W., Wagner M. The genome of the ammonia-oxidizing *Candidatus Nitrososphaera gargensis*: insights into metabolic versatility and environmental adaptations // *Environmental Microbiol.* 2012. Vol. 14, N 12. P. 3122–3145. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02893.x>
- 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. Vol. 10. P. 2015. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02015>
- Stackebrandt E., Scheuner C., Göker M., Schumann P. Family Intrasporangiaceae. The Prokaryotes–Actinobacteria: Fourth edition. Berlin: Springer, 2014. P. 397–424. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30138-4_176
- Yan B., Lu Q., He J., Qi Y., Fu G., Xiao N., Li J. Composition and interaction frequencies in soil bacterial communities change in association with urban park age in Beijing // *Pedobiologia.* 2021. Vol. 84. P. 150699. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2020.150699>
- Yang H., Hu C. Soil Chemistry and Nutrients Influence the Distribution of Aerobic Anoxygenic Phototrophic Bacteria and Eukaryotic Phototrophic Microorganisms of Physical Soil Crusts at Different Elevations on the Tibetan Plateau // *Microbial Ecol.* 2022. Vol. 83. P. 100–113. <https://doi.org/10.1007/s00248-021-01734-7>
- Zhang B., Penton C. R., Xue C., Quensen J. F., Roley S. S., Guo J., Garoutte A., Zheng T., Tiedje J. M. Soil depth and crop determinants of bacterial communities under ten biofuel cropping systems // *Soil Biol. Biochem.* 2017. Vol. 112. P. 140–152. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.04.019>
- Zhang C., Xue S., Liu G. B., Zhang C. S. Effects of slope aspect on soil chemical and microbial properties during natural recovery on abandoned cropland in the Loess plateau, China // *Advanced Materials Research.* 2011. Vol. 356–360. P. 2422–2429. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.356-360.2422>

Prokaryotic communities during self-overgrowing of a chemical industry waste storage facility

I. G. SHIROKIKH^{1, 2, 3}, N. A. BOKOV^{2, 3}, E. V. DABAKH^{1, 2}, L. V. KONDAKOVA^{1, 2},
A. A. SHIROKIKH^{2, 3}, T. Ya. ASHIKHMINA^{1, 2}

¹*Institute of Biology of the Komi Science Centre
of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences
167982, Syktyvkar, Kommunisticheskaya str., 28*

²*Vyatsky State University
610000, Kirov, Moskovskaya str., 36*

³*Federal Scientific Agricultural Center of the North-East named N. V. Rudnitsky
610007, Kirov, Lenin str., 166a*

The method of high-performance sequencing using the Illumina technology investigated the diversity of prokaryotes in three soil samples (Technosols) selected on the territory of the former tailings of liquid waste of chemical production near the city of Kirovo-Chepetsk, Kirov region. The assessment of the taxonomic richness and phylogenetic diversity of microbial communities formed in the process of regenerative succession of the technogenic landscape, in comparison with the alluvial soil (Fluvisols) – a natural analogue of the one that was disturbed as a result of the disposal of waste from a chemical enterprise. The analysis of the indicators of taxonomic richness and diversity demonstrated their lower values in the soils formed on waste in comparison with the natural soil of the background site. 26 bacterial and 2 archaeal phyla of prokaryotes were identified, accounting for more than 95 % of the number of classified sequences. The phylum *Actinobacteria* (22–41 %) and *Proteobacteria* –20–26 %) dominated. At the level of higher taxa in disturbed soils, compared with the community of natural alluvial soil, trends in the representation of phylum were revealed: a decrease in the proportion of *Verrucomicrobia* and an increase in the proportion of *Cyanobacteria*. The greatest differences between the communities of technosols and background soil were revealed at the levels of orders, families and genera. Common and unique genera have been identified for each of the four microbiomes. The detected differences in the composition and structure of the prokaryotic component of microbial communities of disturbed soils are related to the complex of their physical-chemical properties (granulometric composition, pH of soil solution, C_{org} content, composition of toxicants of industrial origin, humidity regime, etc.) and the nature of vegetation cover. The results obtained are of interest for the development of new approaches in future studies of the relationship of soil microbiota with ecosystem changes caused by human activity.

Key words: industrial waste, technogenic soils, prokaryotes, high-throughput sequencing, Illumina, 16S rRNA, biodiversity, taxonomic structure.