



ПРОКАРИОТНЫЕ СООБЩЕСТВА ПОЧВОГРУНТОВ ОТВАЛОВ КУРСКОЙ МАГНИТНОЙ АНОМАЛИИ

© Е.А. Иванова¹⁻³, Е.В. Першина², Д.В. Карпова⁴, А.К. Тхакахова¹, А.Д. Железова¹, О.Б. Рогова¹,
М.В. Семенов¹, А.И. Стифеев⁵, Д.А. Никитин¹, Т.В. Колганова⁶, Е.Е. Андронов^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Федеральный исследовательский центр «Почвенный институт им. В.В. Докучаева» Российской академии сельскохозяйственных наук, Москва;

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Пушкин, Санкт-Петербург;

³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Агрофизический научно-исследовательский институт», Санкт-Петербург;

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва;

⁵ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курская государственная сельскохозяйственная академия им. А.А. Иванова», Курск;

⁶ Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр „Фундаментальные основы биотехнологии“ Российской академии наук», Москва

Для цитирования: Иванова Е.А., Першина Е.В., Карпова Д.В., и др. Прокариотные сообщества почвогрунтов отвалов Курской магнитной аномалии // Экологическая генетика. – 2020. – Т. 18. – № 3. – С. 331–342. <https://doi.org/10.17816/ecogen17901>.

Поступила: 26.11.2019

Одобрена: 23.01.2020

Принята: 23.09.2020

✿ Проанализированы физико-химические параметры, растительное сообщество и структура прокариотных комплексов микробиомов однолетних (с растительным покровом и без него), 25- и 50-летних эмбриональных почв (техноземов), сформированных в районе Курской магнитной аномалии (КМА, Россия). Для анализа прокариотных сообществ использовали метод полимеразной цепной реакции в реальном времени (qPCR) и высокопроизводительное NGS-секвенирование библиотек переменного V4 участка генов *16S* рРНК. В процессе почвообразования, наряду с увеличением содержания органического углерода и азота, наблюдалось постепенное увеличение копий гена *16S* рРНК архей и численности бактериальных таксонов, принадлежащих к семействам *Bradyrhizobiaceae*, *Blastocatellaceae*, *Xantobacteriaceae*. Анализ биоразнообразия выявил специфическую кластеризацию микробиомов — образцы однолетних отвалов без растительности формировали отдельную группу, при этом остальные техноземы в целом имели сходную структуру и разнообразие прокариотных сообществ, значительно отличающихся от зрелой почвы. Содержание тяжелых металлов и количество бактерий в ходе почвообразования существенным образом не изменялось. Полученные результаты показывают, что пятидесяти лет недостаточно для развития почвы на отвалах вскрышных пород, установления в ней экологически безопасного уровня тяжелых металлов и восстановления функционирования почвенной экосистемы.

✿ **Ключевые слова:** почвенный микробиом; хроносерия; эмбриональные почвы; техноземы; секвенирование ампликонных библиотек гена *16S* рРНК; техногенные отвалы горных пород.

PROKARYOTIC COMMUNITIES OF TECHNOZEMS OF THE SPOIL HEAPS OF KURSK MAGNETIC ANOMALY

© Е.А. Ivanova¹⁻³, Е.В. Pershina², Д.В. Karpova⁴, А.К. Tkhakakhova¹, А.Д. Zhelezova¹, О.Б. Rogova¹,
М.В. Semenov¹, А.И. Stifeev⁵, Д.А. Nikitin¹, Т.В. Kolganova⁶, Е.Е. Andronov^{1,2}

¹V.V. Dokuchaev Soil Science Institute, Moscow, Russia;

²All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Saint Petersburg, Pushkin, Russia;

³Agrophysical Research Institute, Saint Petersburg, Russia;

⁴M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;

⁵Horticulture and Plant Protection, Kursk, Russia;

⁶Federal Research Center “Fundamentals of Biotechnology” of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Cite this article as: Ivanova EA, Pershina EV, Karpova DV, et al. Prokaryotic communities of technozems of the spoil heaps of Kursk magnetic anomaly. *Ecological genetics*. 2020;18(3):331-342. <https://doi.org/10.17816/ecogen17901>.

Received: 26.11.2019

Revised: 23.01.2020

Accepted: 23.09.2020

✿ **Background.** Spoil heaps chronosequences are convenient models to analyze the succession of microbiome during restoration of anthropogenically disturbed landscapes. The investigation of the heavy metal content in lands with mining activity, can be used as an indicator of ecosystem recovery. **Materials and methods.** Objects were technozems of 1-year, 25- and 50-year-old embryonic soils, and control soil under forest. Quantitative polymerase chain reaction (qPCR) and NGS-sequencing of V4 region of 16S rRNA gene were applied. **Results.** During the soil-forming process, an increase organic carbon and nitrogen, as well as a gradual increase archaeal 16S rRNA gene copies and in the number of *Bradyrhizobiaceae*, *Blastocatellaceae*, *Xantobacteriaceae*. Although we found a number of taxa that increased during soil-forming process (*Thaumarchaeota*, *Bradyrhizobiaceae*, *Blastocatellaceae*, *Xantobacteriaceae*), technozems of different ages had a similar structure and diversity of prokaryotic communities, differing from a nature soil. Biodiversity analysis revealed that technozems generally had a similar structure and diversity of prokaryotic communities, significantly differing from the mature soil a specific clusterization of microbiomes. The HM contents and bacterial abundances remained at the same level in chronosequence. **Conclusions.** The 50 years of soil development on overburden spoil heaps is not enough for the recovery from HM contamination and restoration of soil ecosystem functioning.

✿ **Keywords:** soil microbiome; chronosequence; embryonic soils; technozems; 16S rRNA amplicon sequencing; technogenic rock dumps.

ВВЕДЕНИЕ

Исследования микробиомов в ходе первичного почвообразовательного процесса на участках добычи горных пород широко представлены в работах ученых последних 20 лет. Интерес к этим объектам связан с огромными площадями нарушенных земель, являющихся результатом добычи полезных ископаемых, а также с выявлением ключевой роли микроорганизмов в обеспечении жизнедеятельности и развития растительного сообщества. Микробные сообщества рассматриваются как индикаторы различных этапов восстановления почв техногенных ландшафтов [1–4]. Для изучения микробной сукцессии в ходе почвообразовательных процессов часто используется метод хроносений, предполагающий сравнение пространственно разобщенных почвенных разностей [1, 5, 6]. Этот подход очень удобен и перспективен при изучении восстановления почв из отвалов вскрышных пород, сформированных в районах добычи, главным образом благодаря хорошо известной датировке образования отвальных комплексов и однородности состава отвалов вскрышных пород, служащих основой для формирования молодой почвы.

Экогенез на отвалах вскрышных пород в районах добычи часто характеризуется высоким содержанием тяжелых металлов (ТМ), влияющим на сукцессию микроорганизмов во время почвообразования/почвовосстановления. Тяжелые металлы, такие как Cd, As, Zn, Cr и Pb, зачастую токсичны для живых организмов [7, 8]. Загрязнение почв ТМ часто приводит к существенным изменениям в микробном разнообразии и структуре [9, 10] или уменьшению микробного богатства почв [11, 12].

Х. Li et al. [13] выявили дифференцированный ответ различных прокариотических групп на загрязнение ТМ. Археи из групп *Crenarchaeota* и *Euryarchaeota* характеризовались положительной корреляцией обилия с содержанием Cd и демонстрировали большее количество взаимодействий (диагностированное по большему числу связей в сетях взаимодействий) с другими членами микробного сообщества в образцах с относительно высоким содержанием ТМ [13]. Таким образом, можно предположить, что археи более устойчивы к загрязнению ТМ и вносят вклад в адаптацию почвенного микробиома к техногенным воздействиям.

На российские корпорации приходится около 40 % всех нарушенных земель. Российская Федерация является одним из крупнейших производителей железной руды, более половины из которых производится в районе Курской магнитной аномалии (КМА, Курская область). Основными материнскими породами для почвообразования здесь являются келловейские глины, покрытые лёссовидными глинами. Благоприятные физико-химические параметры делают лёссовидные субстраты пригодными для использования в сельском хозяйстве и мелиорации [14]. Исследования И.А. Стифеева и др. [14] продемонстрировали возможность использования отвалов Михайловского горно-обогатительного комбината для сельского хозяйства (с предварительным размещением на поверхности отвала гумусного слоя почвы, ранее удаленного с земель, отведенных под горнодобывающую промышленность).

В настоящее время большинство исследований микробных сообществ техноземов, расположен-

ных в КМА, проведены классическими методами, основанными на культивировании, охватывающими только 1–5 % общего разнообразия микроорганизмов почвы. Использование современных молекулярно-генетических методов для изучения динамики сукцессии микроорганизмов представляется весьма перспективным подходом к оценке адаптивных и эволюционных стратегий почвенного микробиома в ходе восстановления почвенных экосистем.

Целью данного исследования является анализ временной динамики содержания тяжелых металлов и структуры и численности прокариотических сообществ в молодых почвах (техноземах), сформировавшихся в районе КМА, на разных этапах почвообразования (1, 25, 50 лет).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследованы участки на отвалах лёссовидных суглинков — порода без растительности

(LL1, LL1b, b — багген) и отвалы с редким растительным покровом (LL1) возрастом 1 год, а также отвалы 25- (LL25), 50-летнего (LL50) возраста, и контрольная почва под лесополосой (N52,2592436; E35,3708321). Отбор проб производился в трех повторностях из верхнего горизонта почвы (на глубине 0–10 см), варианты LL25, LL50 и контроль отбирались на двух глубинах: 0–5 (Up) и 5–10 (Down) см. Проведено геоботаническое описание растительности исследуемых участков, в образцах определены значения основных физико-химических параметров (описано в [14]) (табл. 1, 2).

Выделение ДНК проводили с использованием набора DNA PowerSoil® (MO BIO, США), включая механическое разрушение образца почвы с использованием гомогенизатора Precellys 24 (Bertin Technologies, Франция). Средняя концентрация ДНК в образце составляла 50 нг/мл. Очищенные

Таблица 1

Описание растительности техноземов, сформированных на отвалах лёссовидных суглинков Курской магнитной аномалии

Образец (почва)	Геоботаническое описание
LL1 (технозем, Lithosol Technic)	Редкая растительность, отсутствие древесного и кустарникового ярусов. Синузии мать-и-мачехи (<i>Tusellago farfara</i>), солянки холмовой (<i>Salsola collina</i>), перекасти-поле (<i>Kali tragus</i>), горца почечуйного (<i>Polygonum persicaria</i>).
LL25 (подзолистый эмбриозем)	Древесный ярус: сосна обыкновенная (<i>Pinus sylvestris</i>), береза повислая (<i>Betula pendula</i>); подрост: сосна обыкновенная (<i>Pinus sylvestris</i>), осина обыкновенная (<i>Populus tremula</i>); травянистый ярус: синузия вейника седоватого (<i>Calamagrostis canescens</i>), ястребиночка обыкновенная (<i>Pilosella officinarum</i>), мать-и-мачеха (<i>Tussilago farfara</i>) и бодяк обыкновенный (<i>Cirsium vulgare</i>); существенная часть территории покрыта двумя видами мха
LL50 (гумусово-аккумулятивный эмбриозем)	Заросли березы повислой (<i>Betula pendula</i>) и осины обыкновенной (<i>Populus tremula</i>). Формула древостоя: 5В5Р; единичные растения — сосна обыкновенная (<i>Pinus sylvestris</i>); в подросте: дуб черешчатый (<i>Quercus robur</i>), осина обыкновенная (<i>Populus tremula</i>), сосна обыкновенная (<i>Pinus sylvestris</i>), береза повислая (<i>Betula pendula</i>); травянистый покров разрежен, большое количество засохших (угнетенных) деревьев (главным образом, сосна обыкновенная (<i>Pinus sylvestris</i>), синузия вейника наземного (<i>Calamagrostis epigeus</i>) и овсяницы луговой (<i>Festuca pratensis</i>), в промежутках — вегетирующая ястребиночка обыкновенная (<i>Pilosella officinarum</i>))
Контроль (серая лесная почва)	Древесный ярус: береза повислая (<i>Betula pendula</i>) и сосна обыкновенная (<i>Pinus sylvestris</i>), 7ВЗР. Травянистая растительность, характерная для широколиственных лесов: синузия козлятника лекарственного (<i>Galega gigantea</i>), тысячелистника обыкновенного (<i>Achillea millefolium</i>), вейника седоватого (<i>Calamagrostis canescens</i>), единичные растения — цикорий обыкновенный (<i>Cichorium intybus</i>) и подмаренник душистый (<i>Galium odoratum</i>); мятлик болотный (<i>Poa palustris</i>), мятлик луговой (<i>Poa pratensis</i>), ястребиночка обыкновенная (<i>Pilosella officinarum</i>), репешок волосистый (<i>Agrimonia pilosa</i>)

Таблица 2

Основные физико-химические характеристики вскрышных пород и контрольной почвы в регионе КМА, %

Образец	Na ₂ O, %	K ₂ O, %	P ₂ O ₅ , мг/кг	SO ₃ , %	Fe ₂ O ₃ , %	CO ₂ , %	C _{орг} , %	N _{общ} , %	C:N	K ₂ O, мг/кг	pH _{H₂O}	pH _{KCl}
LL1b	0,84	1,95	41,7	0,34	3,85	0,08	1,69	0,05	33,8	10,1	8,61	7,46
LL1	0,98	1,83	68,3	0,16	5,11	0,09	0,62	0,04	15,5	13,2	8,06	7,03
LL25_U	0,81	1,96	16,1	0,22	5,49	2,85	1,39	0,12	11,6	24,1	8,34	7,12
LL25_D	0,74	1,95	10,8	0,19	3,55	3,3	0,91	0,03	30,3	16,4	8,62	7,38
LL50_U	0,62	1,89	46,3	0,28	4,41	0,9	1,81	0,18	10,1	24,3	8,17	7,07
LL50_D	0,87	1,91	27,1	0,19	3,64	1,5	2,01	0,13	15,5	14,3	8,37	7,17
Control_U	0,84	1,97	15,9	0,28	3,11	0,05	1,69	0,18	9,4	21,1	5,98	5,10
Control_D	0,91	2,05	13,1	0,26	3,27	0,4	1,62	0,21	7,7	14,3	5,87	4,86

образцы ДНК (10–15 нг) использовали в качестве матриц в реакции ПЦР (температурный профиль: 95 °С — 30 с, 50 °С — 30 с, 72 °С — 30 с, всего 30 циклов) с использованием полимеразы Epcyclo (Eurogen, Россия) и универсальных праймеров F515 и R806 к варибельному участку V4 гена *16S* рРНК. Подготовка образцов и секвенирование выполнялись на приборе Illumina MiSeq (Illumina, США) в соответствии с рекомендациями производителя.

Последующую обработку данных проводили с использованием пакета программ QIIME [15]. Данный процесс включал в себя удаление низкокачественных последовательностей (длиной менее 200 нуклеотидов, с показателем качества менее 25), удлинённые гомополимерные повторы, небактериальные и химерные последовательности были исключены. В результате отобрано 14312 последовательностей; данные были нормализованы в соответствии с количеством последовательностей в библиотеке наименьшего размера (4700 последовательностей). Последовательности со сходством более 97 % были объединены в оперативные таксономические единицы (ОТЕ) с использованием алгоритма *de novo* (на основе метода «*uclust*»). Из каждого ОТЕ была выбрана одна последовательность для составления репрезентативного набора. Классификация репрезентативных последовательностей произведена с использованием байесовского классификатора рРНК и выравнивания алгоритма PyNast [15]. Специально разработанный набор «*Greengenes coresets*» [15] был использован для выравнивания последовательностей.

Альфа-разнообразие оценивали посредством расчета количества ОТЕ, а также индексов Фейта (филогенетическое разнообразие) и Шеннона. Достоверность различий в показателях альфа-разнообразия среди микробиомов оценивали с помощью *t*-критерия. Для анализа бета-разнообразия (оценки процента сходств/различий между микробиомами) использовали метод *Weighted Unifrac* [15]. Достоверность различий в наличии отдельных таксонов оценивалась с помощью нескольких парных тестов таблиц сопряженности частот ОТЕ. Алгоритм динамически выбирает либо *G*-критерий, либо точный критерий Фишера и применяет коррекцию *p*-значения Бонферрони.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ растительного сообщества

В ходе исследования было описано 22 вида растений (табл. 1). В техноземах (*Lithosols Technic*) 1-го года (начальные стадии почвообразования) преобладали травянистые формы, в то время как редколесье с преобладанием березы и тополя было характерно для более поздней стадии. В травяном ярусе на участках более старых отвалов преобладали *Calamagrostis* и *Achillea millefolium*, что согласуется с ранее описанными доминирующими видами в растительных сообществах нативных почв и техноземов в районе КМА [14, 17]. Было определено некоторое уменьшение численности видов по сравнению с предыдущими геоботаническими наблюдениями [14], что можно объяснить сезоном, во время которого проводилась экспедиция (отбор проб почвы проводился в сентябре): в это время большинство

растений уже находилось на терминальной стадии вегетации. Растительный покров на LL1 не превышал 3 %, LL25 и LL50 характеризовались 100 % растительным покровом (табл. 1).

Физико-химические свойства образцов

Исследованные отвалы характеризовались в основном слабо развитыми профилями литозолов (эмбриоземов) с выраженным накоплением органического вещества в верхнем слое почвы только на поздних стадиях (25 и 50 лет) сукцессии, а также в контрольной почве. Для одногодичных вариантов дифференциация почв по морфологически различным горизонтам не определялась, поэтому они отнесены к техноземам. рН техноземов был слабощелочным (8,0), тогда как рН контрольной почвы — слабокислым. Это связано с высоким содержанием карбонатов в породе. Содержание железа было высоким как в техноземах/эмбриоземах, так и в фоновых почвах; наблюдалась лишь слабая тенденция изменения содержания железа во времени (табл. 2), что может быть связано с низкой подвижностью железа в условиях естественного и слабощелочного рН [18].

Техно- и эмбриоземы, как правило, характеризовались более высоким содержанием микроэлементов по сравнению с фоновым значением, в то время как содержание ТМ оставалось приблизительно на одном и том же уровне для всех стадий хроносери по сравнению как с контрольной почвой (табл. 2, 3), так и с фоновыми значениями для изучаемого региона [21].

Содержание органического углерода и общего азота увеличивается с возрастом почвы. В отвальных породах практически отсутствует азот, а его накопление в почве происходит за счет симбиотических и свободно живущих микроорганизмов [19]. Поэтому увеличение содержания азота в почвах от самых ранних до самых поздних стадий техногенных ландшафтов связано с аналогичным накоплением органического углерода. Соотношение С:N в техноземах демонстрирует низкое обогащение почвенного органического вещества азотом, что характерно для горизонтов, содержащих слегка гумифицированные растительные остатки.

Согласно результатам Mantel-теста, практически все основные физико-химические параметры оказывают существенное влияние на структуру микробного сообщества (табл. 4).

Таблица 3

Содержание тяжелых металлов в вскрышных породах и контрольной почве в районе Курской магнитной аномалии

Образец	Ni	Cu	Zn	Ga	Pb	Rb	Sr	Y	Zr
LL1b	21	18	46	24	11	78	85	39	578
LL1	29	21	52	22	15	78	114	36	536
LL25_U	21	20	42	20	6	72	122	33	532
LL25_D	26	12	36	20	11	74	131	35	588
LL50_U	19	16	46	20	10	71	95	33	521
LL50_D	20	16	49	20	12	73	101	35	505
Control_U	19	19	42	14	11	78	100	37	567
Control_D	24	15	36	20	18	81	102	37	589
Фон	40	20	49	10	10	84	106	30	450

Примечание. Значения, выделенные жирным шрифтом, превышают фоновый уровень (согласно [15]).

Таблица 4

Статистические значения Mantel R-критерия для образцов эмбриоземов, сформированных на вскрышных отвалах Курской магнитной аномалии

C _{орг}	N _{общ}	рН	P _{подв}	CaCO ₃	Fe	Cu	Pb	Zn	Sr	Rb
Mantel R										
0,3	0,44	0,79	0,76	0,83	0,83	0,39	0,89	0,92	0,91	0,79
p-value										
0,0	0,01	0,01	0,00	0,003	0,004	0,02	0,003	0,00	0,001	0,00

Численность бактерий и архей

Наибольшее содержание копий бактериальных генов *16S* рРНК обнаружено в верхнем горизонте (0–5 см) контрольной почвы — $1,29 \cdot 10^{11}$ копий/г почвы. Количество копий бактериальных генов существенно не различалось в образцах отвалов разного возраста на глубине 0–5 см. Количество копий гена *16S* рРНК было минимальным в LL1b ($1,03 \cdot 10^8$ копий/г почвы) и в слое 5–10 см LL25 ($3,63 \cdot 10^9$ копий/г почвы) по сравнению с контролем и LL50 (рис. 1).

Другая тенденция обнаружена в отношении количества копий генов *16S* рРНК архей. В контрольной почве число генов архей составляло $2,25 \cdot 10^8$ и $8,51 \cdot 10^8$ копий/г почвы для слоев 0–5 и 5–10 соответственно. Количество копий археотных генов в верхних слоях отвалов среднего возраста было на порядок выше по сравнению с контрольной почвой. Минимальное количество копий археотных генов было определено в образце LL1b.

Анализ альфа- и бета-разнообразия отвалов лёссовидных суглинков

Наименьшее филогенетическое (индекс Фейта) и видовое (количество) разнообразие было определено в LL1, LL1b. Выявлено незначительное увеличение разнообразия с возрастом отвалов (от LL1 до LL50) в верхнем слое, однако выравнивание (согласно значениям индекса Шеннона) микробного сообщества в контрольной почве была самой высокой (рис. 2). Последнее может указывать на то, что каждая стадия педогенеза характеризовалась специфическим микробиомом с некоторым набором доминантных таксонов.

Многомерное шкалирование бета-разнообразия показало группирование образцов в три основных кластера — почву без растительности, контрольные образцы и образцы технозема с растительным покровом LL1, 25, 50 (рис. 3, *a, b*). Таким образом, наличие растений явилось существенным фактором формирования почвенного микробиома в техногенных отвалах. Однако различие микроб-

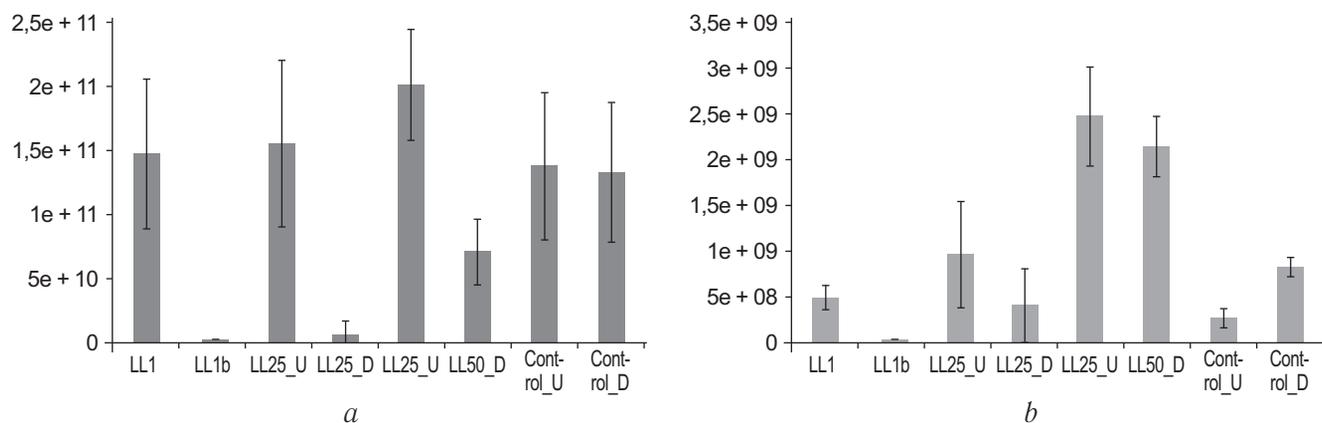


Рис. 1. Количество копий гена *16S* рРНК бактерий (*a*) и архей (*b*) в техноземах (LL1 и LL1LL1b) и эмбриоземах (LL25–50) отвалов Курской магнитной аномалии, а также в контрольной почве (control_U, control_D)

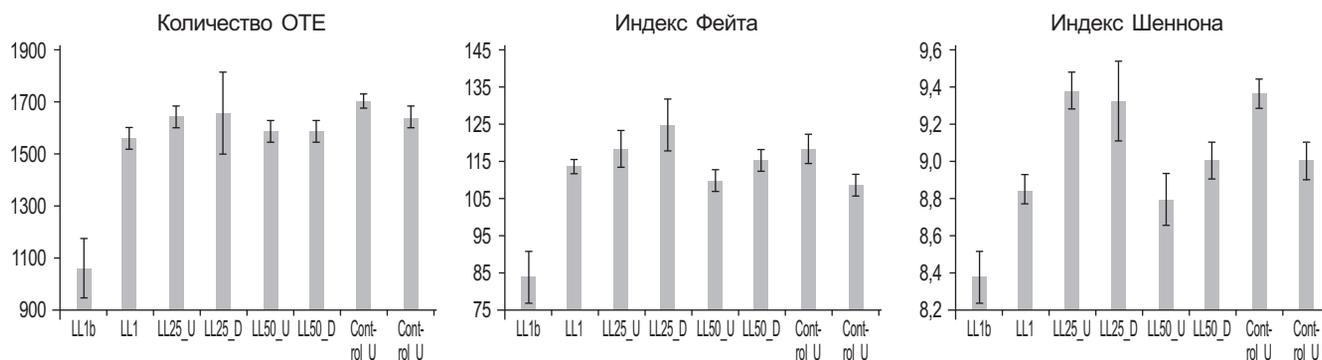


Рис. 2. Показатели альфа-разнообразия техноземов и эмбриоземов вскрышных пород Курской магнитной аномалии, а также в контрольной почве

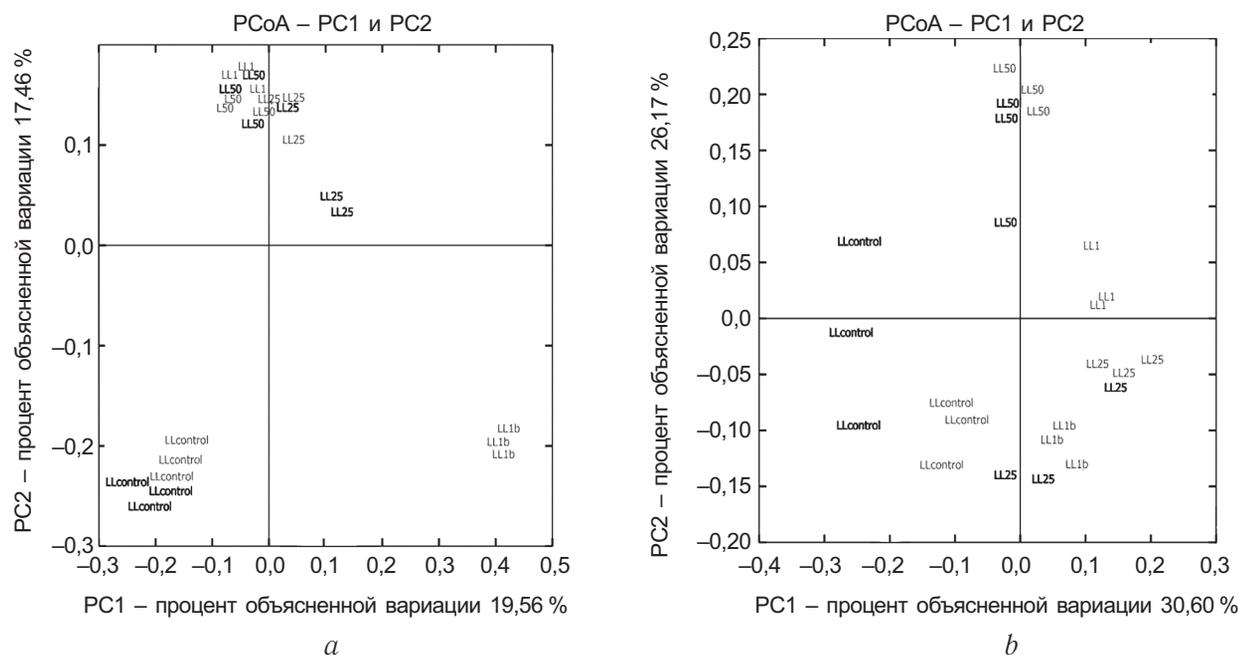


Рис. 3. PCoA-анализ невзвешенных (a) и взвешенных (b) расстояний Унигас микробных сообществ техноземов и эмбриоземов отвалов вскрышных пород Курской магнитной аномалии и в контрольной почве. Серым цветом обозначены слои 0–5 см, черным цветом – 5–10 см

ных сообществ, соответствующее определенной глубине, было отмечено только для более молодых отвалов (LL25). Выявлена бóльшая неоднородность нижних (5–10 см) слоев, наблюдаемая с возрастом, по сравнению с верхними (0–5 см) слоями (рис. 3, b), что можно объяснить началом формирования почвы в варианте LL25.

Анализ состава прокариотного сообщества почвенной хроносерии

При анализе таксономической структуры микробиома в образцах отвалов обнаружено 23 бактериальных и 2 археотных филума. Доминирующими филумами были протеобактерии (в среднем 28,8 %), бактериодеты (19,8 %), актинобактерии (18,4 %), ацидобактерии (8,3 %), хлорофлекси (4,3 %), веррукомикробии (8,0 %) и *Thaumarchaeota* (4,1 %) (рис. 4). Доля других филумов не превышала 3 %.

Содержание *Thaumarchaeota* относительно возросло в варианте LL50 (максимальное содержание в LL50_U 10,2 %) и в контрольных образцах. Вариант LL50 характеризовался более высоким содержанием Zn, который известен своим ингибирующим воздействием на микроорганизмы [7, 10]. Таким образом, этот элемент оказывает косвенное влияние на количество архей путем замещения

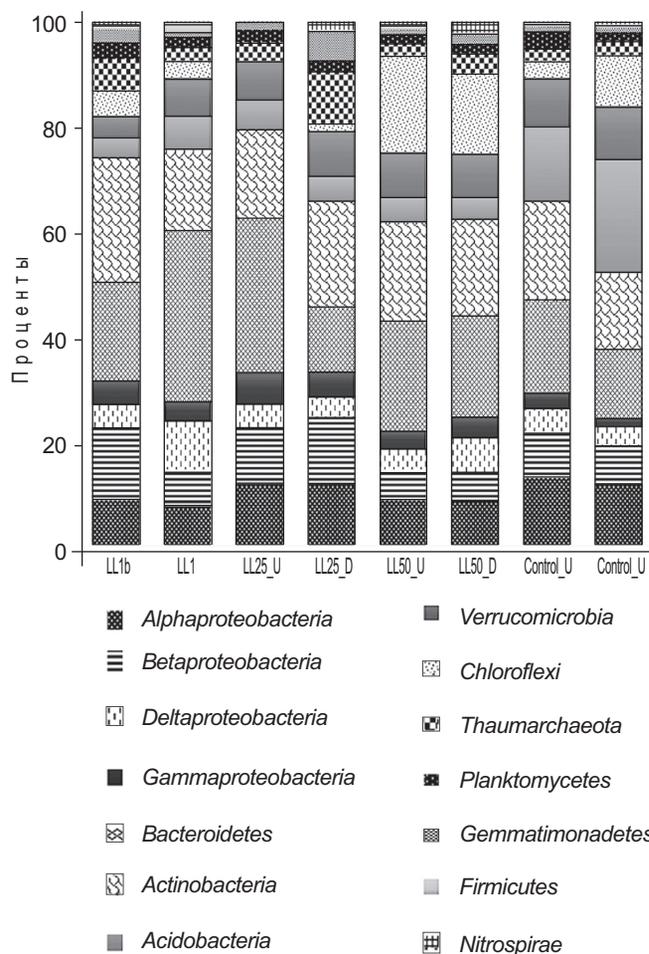


Рис. 4. Структура микробных сообществ изучаемых почв на уровне филумов

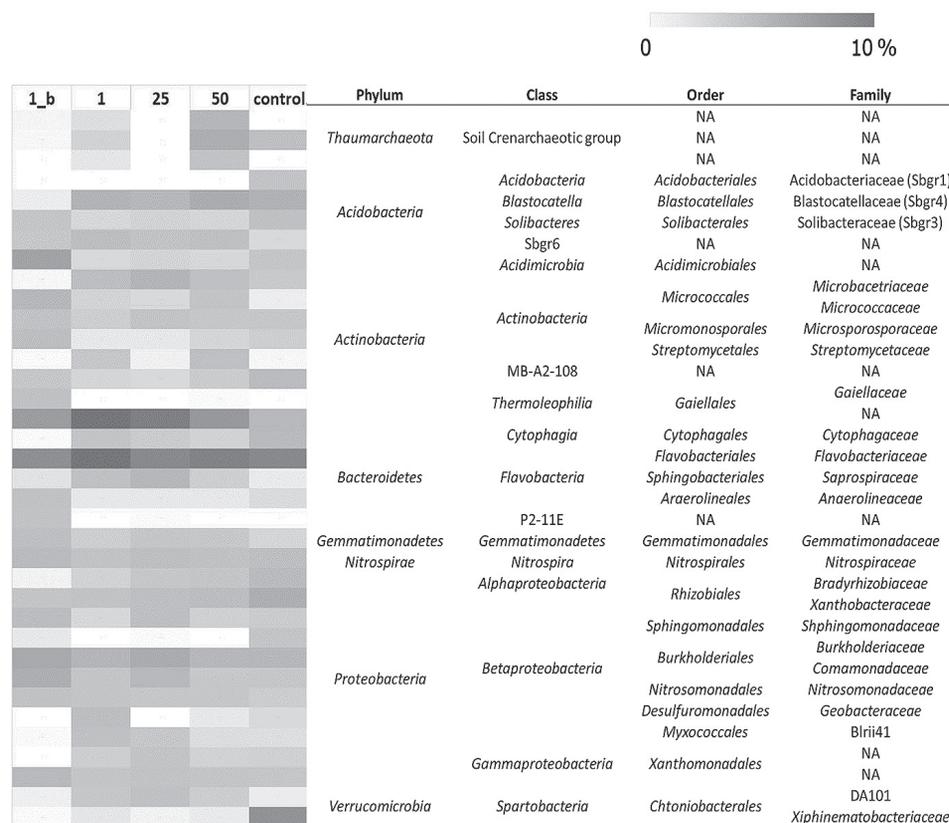


Рис. 5. Теплокарта доминантных таксонов, связанных с исследуемыми этапами почвообразования на отвалах Курской магнитной аномалии и в образцах контрольной почвы

ими экологических ниш, ранее занимаемых бактериями. Предыдущие исследования показали, что многие архейные группы характеризовались олиготрофной стратегией и могли выиграть конкуренцию за экологические ниши у бактерий в условиях энергетического стресса [20].

В процессе почвообразования в техноземах отмечалось снижение численности *Gemmatimonadetes*, *Bacteroidetes*, *Gammaproteobacteria* и *Betaproteobacteria*. В зрелой почве было определено относительное увеличение количества *Verrucomicrobia*. Некоторые исследования связывают обилие представителей данной группы с корнями растений, в то время как локальный пик относительного обилия веррукомикробий часто обнаруживается на глубине от 10 до 50 см, что, в свою очередь, может указывать на связь этой группы с динамикой органического углерода [21, 22]. Поскольку бета-протеобактерии и гамма-протеобактерии часто ассоциируются с копиотрофной стратегией [23], замена их более олиготрофными (альфа-протеобактериями и акцидобактериями) может указывать на переход к климаксовой стадии педогенеза. Бак-

терии, принадлежащие к филуму *Bacteroidetes*, часто участвуют в процессах минерализации растительных остатков и рассматриваются как типичные копиотрофы [23], что может объяснить уменьшение их численности в нижних (5–10 см) слоях почв.

Отвалы без растительного покрова (LL1, LL1b) характеризовались специфическим микробным составом. Относительно высокое содержание ионов SO_3^{2-} и Fe^{2+} может объяснить возникновение хемолитоавтотрофов — восстановителей серы (например, *Desulfurellaceae*). В данном варианте обнаружено самое низкое содержание акцидобактерий и увеличение относительного содержания актинобактерий. Последние представлены главным образом актиномицетами — *Streptomycetaceae* и *Micromonosporaceae* (рис. 5), которые способны образовывать споры и жить в неблагоприятных условиях с низким содержанием органического углерода и влаги. Доминирующими среди протеобактерий были *Nitrosomonadales* (*Betaproteobacteria*) и *Sphingomonadales* (*Alphaproteobacteria*), в контрольных образцах увели-

чилась доля *Rhizobiales* (*Alphaproteobacteria*) и *Burkholderiales* (*Betaproteobacteria*). *Burkholderiales* характеризуются широкими возможностями адаптации к окружающей среде и способностью использовать различные субстраты. Постепенное увеличение других типичных ризосферных микроорганизмов (например, *Bradyrhizobiaceae*, *Xanthobacteraceae*) с возрастом почвы может предполагать возможную роль этих бактерий в восстановлении почвы, а также маркировать определенную стадию педогенеза. *Bradyrhizobiaceae* были определены в составе «корового» компонента российских почв всех типов [24], поэтому наличие этого семейства бактерий может быть косвенным показателем климаксовой стадии почвенных экосистем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном исследовании проведено сравнение временной динамики содержания ТМ и структуры и численности прокариотических сообществ в технозомах, сформировавшихся в районах добычи железной руды в регионе КМА на разных этапах восстановления почвенной экосистемы. Отмечено постепенное увеличение содержания органического углерода и общего азота в почвах, а также обилие архей. В ходе почвообразовательного процесса в технозомах наблюдалось снижение содержания гамма-протеобактерий, бета-протеобактерий, гемматиамонадет и бактериоидетов. Несколько таксонов (*Thaumarchaeota*, *Bradyrhizobiaceae*, *Blastocatellaceae*, *Xantobacteriaceae*), напротив, постепенно увеличивали численность. Высокие концентрации Zn косвенно влияют на количество архей, способствуя, по-видимому, замещению ими экологических ниш, ранее занимаемых бактериями. Технозоны разных возрастов имели сходную структуру и разнообразие прокариотных сообществ, значительно отличающихся от зрелой почвы. Эти результаты показывают, что загрязнение ТМ оказывает долгосрочное деструктивное воздействие на микробные сообщества почв. По прошествии 50 лет на отвалах вскрышных пород не наблюдалось существенного снижения уровня загрязнения почв ТМ и восстановления функционирования почвенной экосистемы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Работа выполнена при поддержке РФФ, грант № 17-16-01057.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sourkova M, Frouz J, Fettweis U, et al. Soil development and properties of microbial biomass succession in reclaimed post mining sites near Sokolov (Czech Republic) and near Cottbus (Germany). *Geoderma*. 2005;129(1-2): 73-80. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.12.032>.
2. Dangi SR, Stahl PD, Wick AF, et al. Soil microbial community recovery in reclaimed soils on a surface coal mine site. *Soil Sci Soc Am J*. 2012;76(3):915-924. <https://doi.org/10.2136/sssaj2011.0288>.
3. Liu S, Liu W, Yang M, et al. The genetic diversity of soil bacteria affected by phytoremediation in a typical barren rare earth mined site of South China. *Springerplus*. 2016;5(1):1131. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2814-0>.
4. Смольникова В.В., Емельянов С.А. Биотехнологические основы оптимизации микрофлоры нефтезагрязненных субстратов // Юг России: экология, развитие. — 2010. — Т. 5. — № 3. — С. 106–110. [Smolnikova VV, Emilyanov SA. Biotechnological bases of optimization of microflora of the petropolluted substrata. *Ug Rossii: ecologia, rasvitiye*. 2010;5(3):106-110. (In Russ.)]
5. Frouz J, Novakova A. Development of soil microbial properties in topsoil layer during spontaneous succession in heaps after brown coal mining in relation to humus microstructure development. *Geoderma*. 2005;129: 54-64. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.12.033>.
6. Zhelezova A, Chernov T, Tkachkova A, et al. Prokaryotic community shifts during soil formation on sands in the tundra zone. *PLoS One*. 2019;14(4): e0206777. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206777>.
7. Appenroth KJ. Definition of «Heavy Metals» and their role in biological systems. *Soil Biology*. 2010;19:19-29. https://doi.org/10.1007/978-3-642-02436-8_2.
8. Сангаджиева Л.Х., Сангаджиева О.С., Даваева Ц.Д., и др. Тяжелые металлы в компонен-

- тах ландшафтов Калмыкии // Юг России: экология, развитие. – 2010. – Т. 5. – № 1. – С. 156–161. [Sangadjieva LH, Sangadjieva OS, Davaeva CD, et al. Heavy metals in the landscape components of the Kalmykia. *Ug Rossii: ecologia, rasvitie*. 2010;5(1):156-161. (In Russ.)]
9. Lorenz N, Hintemann T, Kramarewa T, et al. Response of microbial activity and microbial community composition in soils to long-term arsenic and cadmium exposure. *Soil Biol Biochem*. 2006;38(6):1430-1437. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.10.020>.
 10. Oliveira A, Pampulha ME. Effects of long-term heavy metal contamination on soil microbial characteristics. *J Biosci Bioeng*. 2006;102(3):157-161. <https://doi.org/10.1263/jbb.102.157>.
 11. Gołębiewski M, Deja-Sikora E, Cichosz M, et al. 16S rDNA pyrosequencing analysis of bacterial community in heavy metals polluted soils. *Microb Ecol*. 2014;67(3):635-647. <https://doi.org/10.1007/s00248-013-0344-7>.
 12. Колесников С.И., Ярославцев М.В., Спивакова Н.А., и др. Влияние загрязнения тяжелыми металлами на биологические свойства горных черноземов юга России // Юг России: экология, развитие. – 2012. – Т. 7. – № 2. – С. 103–109. [Kolesnikov SI, Yaroslavcev MV, Spivakova NA, et al. Influence of pollution by heavy metals on biological properties of mountain chernozems of the south of Russia. *Ug Rossii: ecologia, rasvitie*. 2012;7(2):103-109. (In Russ.)]
 13. Li X, Meng D, Li J, et al. Response of soil microbial communities and microbial interactions to long-term heavy metal contamination. *Environ Pollut*. 2017;231(Pt 1):908-917. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.057>.
 14. Стифеев А.И., Никитина О.В., Бессонова Е.А., Кемов К.Н. Рекультивация нарушенных земель и технологии их реабилитации на территории Центрального Черноземья // Международный сельскохозяйственный журнал. – 2017. – № 6. – С. 34–38. [Stifeev AI, Nikitina OV, Bessonova EA, Kemov KN. Recultivacia narushennyh zemel i tehnologii ih rehabilitacii na territorii Centralnogo Chernozemya. *Mezhdunarodnyi sel'skokhoziaistvennyi zhurnal*. 2017;(6):34-38. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.24411/2587-6740-2017-16008>.
 15. Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. Correspondence QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. Intensity normalization improves color calling in SOLiD sequencing. *Nature Publishing Group*. 2010;7(5):335-336. <https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>.
 16. DeSantis TZ, Hugenholtz P, Larsen N, et al. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Appl Environ Microbiol*. 2006;72(7):5069-5072. <https://doi.org/10.1128/AEM.03006-05>.
 17. Стифеев А.И., Головастикова А.В., Бессонова Е.А. Изменение состава и структуры микробного сообщества в условиях техногенного ландшафта отвалов Михайловского ГОКа КМА // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2011. – № 4. – С. 40–41. [Stifeev AI, Golovastikova AV, Bessonova EA. Ismenenia sostava i struktury mikrobnogo soobshchestva v usloviyah tehnogenogo landshafta otvalov Mihaylovskogo GOKa KMA. *Vestnik Kurskoy gosudarstvennoy sel'kokozyaystvennoy akademii*. 2011;(4):40-41. (In Russ.)]
 18. Бриндукова Е.Е. Закономерности аккумуляции валовых и подвижных форм тяжелых металлов в черноземе типичном юго-западной Лесостепи: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. – Курск, 2010. – 19 с. [Brindukova EE. Zakonomernosti akumuliyatsii valovykh i podvizhnykh form tyazhelykh metallov v chernozeme tipichnom yugo-zapadnoy Lesostepi. [dissertation abstract] Kursk; 2010. 19 p. (In Russ.)]. Доступно по: <https://search.rsl.ru/ru/record/01004617735>. Ссылка активна на 02.02.2020.
 19. Boldt-Burisch K, Naeth MA, Schneider BU, et al. Linkage between root systems of three pioneer plant species and soil nitrogen during early reclamation of a mine site in Lusatia, Germany. *Restoration Ecology*. 2015; 23(4):357-365. <https://doi.org/10.1111/rec.12190>.
 20. Семенов М.В., Манучарова Н.А., Степанов А.Л. Распределение метаболически активных представителей прокариот (архей и бактерий) по профилям чернозема и бурой

- полупустынной почвы // Почвоведение. — 2016. — № 2. — С. 239–248. [Semenov MV, Manucharova NA, Stepanov AL. Distribution of metabolically active prokaryotes (Archaea and Bacteria) throughout the profiles of chernozem and brown semidesert soil. *Pochvovedenie*. 2016;(2):239-248. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.7868/S0032180X16020106>.
21. Bergmann GT, Bates ST, Eilers KG, et al. The under-recognized dominance of Verrucomicrobia in soil bacterial communities. *Soil Biol Biochem*. 2011;43(7):1450-1455. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.03.012>.
22. Semenov MV, Chernov TI, Tkhakakhova AK, et al. Distribution of prokaryotic communities throughout the Chernozem profiles under different land uses for over a century. *Appl Soil Ecol*. 2018;127:8-18. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.03.002>.
23. Elliott DR, Thomas AD, Hoon SR, Sen R. Niche partitioning of bacterial communities in biological crusts and soils under grasses, shrubs and trees in the Kalahari. *Biodiversity Conservat*. 2014;23(7):1709-1733. <https://doi.org/10.1007/s10531-014-0684-8>.
24. Pershina EV, Ivanova EA, Korvigo IO, et al. Investigation of the core microbiome in main soil types from the East European plain. *Sci Total Environ*. 2018;631:1421-1430. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.136>.

✿ Информация об авторах

Екатерина Андреевна Иванова — канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела биологии и биохимии почв ФГБНУ ФИЦ «Почвенный институт им. В.В. Докучаева», Москва; научный сотрудник лаборатории микробиологического мониторинга и биоремедиации почв, ФГБНУ ВНИИСХМ, Пушкин, Санкт-Петербург; научный сотрудник отдела моделирования адаптивных агротехнологий, ФГБНУ АФИ, Санкт-Петербург. E-mail: ektrnivanova@gmail.com.

Елизавета Владимировна Першина — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологического мониторинга и биоремедиации почв, ФГБНУ ВНИИСХМ, Пушкин, Санкт-Петербург. E-mail: microbioliza@gmail.com.

Дина Вячеславовна Карпова — д-р с.-х. наук, ведущий научный сотрудник кафедры эрозии оценки почв факультета почвоведения, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва. E-mail: karpovad@mail.ru.

Азида Клементовна Тхакахова — канд. с.-х. наук, старший научный сотрудник отдела биологии и биохимии почв, ФГБНУ ФИЦ «Почвенный институт им. В.В. Докучаева», Москва. E-mail: azida271183@mail.ru.

Алена Дмитриевна Железова — канд. биол. наук, научный сотрудник отдела биологии и биохимии почв, ФГБНУ ФИЦ «Почвенный институт им. В.В. Докучаева», Москва. E-mail: alferrum@mail.ru.

Ольга Борисовна Рогова — канд. биол. наук, научный сотрудник отдела биологии и биохимии почв, ФГБНУ ФИЦ «Почвенный институт им. В.В. Докучаева», Москва. E-mail: olga_rogova@inbox.ru.

Михаил Вячеславович Семенов — канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела биологии и биохимии почв, ФГБНУ ФИЦ «Почвенный институт им. В.В. Докучаева», Москва. E-mail: gosmv@rambler.ru.

Анатолий Иванович Стифеев — д-р с.-х. наук, главный научный сотрудник кафедры экологии, садоводства и защиты растений, ФГБОУ ВО «Курская ГСХА», Курск. E-mail: stifeev09.2015@yandex.ru.

✿ Authors and affiliations

Ekaterina A. Ivanova — PhD of Biology, Senior Researcher of the Department of Biology and Biochemistry of Soils, V.V. Dokuchaev Soil Institute, Moscow, Russia; Research Scientist of the Laboratory of Microbiological Monitoring and Bioremediation of Soils, All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Pushkin, Saint Petersburg, Russia; Research Scientist of the Department of the Modelling of Adaptive Agrotechnologies, Agrophysical Research Institute, Saint Petersburg, Russia. E-mail: ektrnivanova@gmail.com.

Elizaveta V. Pershina — PhD of Biology, Senior Researcher of the Laboratory of Microbiological Monitoring and Bioremediation of Soils, All-Russian Research Institute of an agricultural microbiology; Pushkin, Saint Petersburg, Russia. E-mail: microbioliza@gmail.com.

Dina V. Karpova — Dr. Sc. of Agricultural Sciences, of the Department of Soil Erosion and Conservation of the Faculty of Soil Science of Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia. E-mail: karpovad@mail.ru.

Azida K. Tkhakakhova — PhD of Biology, Senior Researcher of the Department of Biology and Biochemistry of Soils, V.V. Dokuchaev Soil Institute, Moscow, Russia. E-mail: azida271183@mail.ru.

Alyona D. Zhelezova — PhD of Biology, Senior Researcher of the Department of Biology and Biochemistry of Soils, V.V. Dokuchaev Soil Institute, Moscow, Russia. E-mail: alferrum@mail.ru.

Olga B. Rogova — PhD of Biology, Senior Researcher of the Department of Biology and Biochemistry of Soils, V.V. Dokuchaev Soil Institute, Moscow, Russia. E-mail: olga_rogova@inbox.ru.

Mikhail V. Semenov — PhD of Biology, Senior Researcher of the Department of Biology and Biochemistry of Soils, V.V. Dokuchaev Soil Institute, Moscow, Russia. E-mail: gosmv@rambler.ru.

Anatoly I. Stifeev — Dr. Sc. of Agricultural Sciences, Chief Researcher of the Department of Ecology, Gardening and Protection of Plants, Kursk Agricultural Academy, Kursk, Russia. E-mail: stifeev09.2015@yandex.ru.

✿ Информация об авторах

Дмитрий Алексеевич Никитин — канд. биол. наук, научный сотрудник отдела биологии и биохимии почв. ФГБНУ ФИЦ «Почвенный институт им. В.В. Докучаева», Москва. E-mail: dimnik90@mail.ru.

Татьяна Владимировна Колганова — канд. техн. наук, старший научный сотрудник, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», Москва. E-mail: info@fbras.ru.

Евгений Евгеньевич Андронов — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела биологии и биохимии почв, ФГБНУ ФИЦ «Почвенный институт им. В.В. Докучаева», Москва; заведующий лабораторией микробиологического мониторинга и биоремедиации почв, ФГБНУ ВНИИСХМ, Пушкин, Санкт-Петербург. E-mail: eeandr@gmail.com.

✿ Authors and affiliations

Dmitry A. Nikitin – PhD of Biology, Researcher of the Department of Soil Biology and Biochemistry. V.V. Dokuchaev Soil Institute, Moscow, Russia. E-mail: dimnik90@mail.ru.

Tatiana V. Kolganova – PhD of Technical Sciences, Senior Researcher, Institute of Bioengineering, Federal Research Center “Fundamentals of Biotechnology” of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia; E-mail: info@fbras.ru.

Evgeny E. Andronov – PhD of Biology, Leading Researcher of the Department of Biology and Biochemistry of Soils, V.V. Dokuchaev Soil Institute, Moscow, Russia; Manager of the Laboratory of Microbiological Monitoring and Bioremediation of Soils, All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Pushkin, Saint Petersburg, Russia. E-mail: eeandr@gmail.com.