

УДК 631.46

**БАКТЕРИАЛЬНЫЕ СООБЩЕСТВА ПОЧВ В ЗОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ
СОЛЕОТВАЛА ГОРОДА СОЛИКАМСКА, ПЕРМСКИЙ КРАЙ****© 2024 г. А. В. Назаров^а, Ю. И. Нечаева^а, Е. С. Корсакова^а,
А. А. Пьянкова^а, Е. Г. Плотникова^а**^аИнститут экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН,
Голева, 13, Пермь, 614081 Россия

*e-mail: nazarov@iegm.ru

Поступила в редакцию 08.12.2023 г.

После доработки 13.03.2024 г.

Принята к публикации 14.03.2024 г.

С использованием метода высокопроизводительного секвенирования гена 16S рРНК проанализирован таксономический состав бактериальных сообществ почвы (Technosol и Retisol) вблизи солеотвала калийного предприятия, г. Соликамск, Пермский край. Исследованы образцы почв без растений и ризосферы растений вида вейник наземный (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth) с участков, расположенных в 1–1.5, 8 м, 780 м и 11 км от солеотвала. Обнаружено, что во всех почвенных образцах преобладали бактерии филумов *Pseudomonadota*, *Bacteroidota*, *Actinomycetota*, *Acidobacteriota*, *Verrucomicrobiota*, *Gemmatimonadota*. Наибольшее влияние на таксономический состав бактериальных сообществ галитовые отходы оказывали на почвы участков в зоне засоления, расположенных на расстоянии 1–1.5 м. В образцах почвы без растений, отобранных на данных участках, относительно почв без засоления (на расстоянии 8, 780 м, 11 км от солеотвала), преобладали бактерии порядка “*Candidatus Actinomarinales*”, снижалась доля в бактериальных сообществах представителей филумов *Acidobacteriota*, *Verrucomicrobiota*, класса *Actinobacteria* и семейства *Chitinophagaceae*, увеличивалась доля бактерий семейства *Xanthomonadaceae*. В бактериальных сообществах ризосферы растений, произрастающих в зоне засоления, уменьшалась доля представителей филума *Acidobacteriota* и семейств *Chitinophagaceae*, *Enterobacteriaceae*, повышалась доля семейств *Xanthomonadaceae* и *Flavobacteriaceae*. Выявлено влияние солеотвала на бактериальные почвенные сообщества участков, находящихся на расстоянии 8 и 730 м от солеотвала, включали представителей порядка “*Candidatus Actinomarinales*” (1.4–1.6%), семейств *Nitrosomonadaceae* (3.0–6.1%), *Saprosiraceae* (1.0–1.9%), рода *Ilumatobacter* (1.6–2.8%) и некультивируемых бактерий семейства *Rhodanobacteraceae* (1.3–1.5%).

Ключевые слова: техногенное засоление, ризосфера, секвенирование ампликонных библиотек гена 16S рРНК, калийные предприятия

DOI: 10.31857/S0032180X24080066, **EDN:** KMWCQU**ВВЕДЕНИЕ**

Засоление – один из наиболее распространенных почвенно-деградационных процессов, в настоящее время не менее 10% поверхности континентов покрыто засоленными почвами, при этом из-за климатических изменений и антропогенного воздействия на окружающую среду отмечается тенденция к увеличению площади почв с повышенной минерализацией [10]. Известно, что засоление почв оказывает сильное воздействие на таксономический состав обитающих в них бактерий [22, 38]. Поэтому в настоящее время

актуальны исследования микробиомов засоленных почв с целью оценки их биоресурсного потенциала, изучения влияния засоления на таксономическую структуру почвенных микроорганизмов, а также для исследования механизмов функционирования микробных сообществ и микробно-растительных ассоциаций в условиях засоления. Однако имеющиеся метагеномные исследования ограничены изучением прокариотных сообществ почв и ризосферы растений аридных и семиаридных областей, где распространен процесс засоления [8, 9, 15, 23, 28, 34, 38–40].

Территория Соликамского района Пермского края относится к зоне умеренных широт, входит в состав Атлантико-континентальной области. Среднегодовые температуры воздуха в г. Соликамске колеблются в пределах 0.5–1.3°C, средняя температура июля 17.0–17.4°C, средняя температура января от –16.0 до –15.8°C, в году выпадает 470–550 мм осадков [16]. Соликамский район входит в почвенный подрайон Чердынско-Соликамских песчаных и супесчаных дерново-сильно- и среднеподзолистых почв, материнскими породами почв служат водно-ледниковые пески, подстилаемые покровными суглинками, ниже которых залегают пермские мергелистые глины, мергели и известняки [6]. Добыча и переработка калийной руды на Верхнекамском месторождении в Соликамском районе Пермского края приводит к образованию галитовых отходов, складированных в солеотвалы. На объектах ПАО “Уралкалий” накопленный объем данных отходов составляет 585.1 млн т, которые занимают более 12.3 тыс. га [5].

В результате растворения и выноса солей с солеотвалов вокруг них в радиусе 1–5 м возникают зоны засоления [1]. Таким образом, на территории солеразработок в условиях гумидного климата в среднетаежной зоне формируются почвы, имеющие повышенную щелочность (до pH 8.8) и солонцеватость (сумма солей в корнеобитаемых слоях местами достигает 3.7%) [3], являющиеся местообитанием для галофильных и галотолерантных растений и микроорганизмов [2, 7]. При этом таксономическая структура микробных сообществ этих почв, а также ризосферы произрастающих на них растений изучена недостаточно. В частности, ранее не проводилось изучение данных сообществ с помощью высокопроизводительного секвенирования, позволяющего получить детальные данные о таксономическом составе бактериальных сообществ, кроме того, не исследовано влияние солеотвала на почвы, находящиеся вне зоны засоления.

Цель работы – оценка таксономического состава бактериальных сообществ почв, находящихся вблизи складированных галитовых отходов и подвергающихся воздействию солей, с использованием высокопроизводительного секвенирования гена 16S рРНК. Исследованы образцы почвы без растений и ризосферы растений вида вейник наземный (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth), обнаруженного на всех изученных участках.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на территории района промышленных разработок Верхнекамского месторождения солей у солеотвала калийного предприятия ПАО “Уралкалий” (г. Соликамск, Пермский край). Площадь солеотвала – 112 га, год ввода в эксплуатацию – 1970 [3]. Почвенные образцы

отбирали в июне 2023 г с пяти площадок: 1 и 2 (участки расположены в 1–1.5 м от солеотвала), 3, 4 и 5, находящиеся в 8, 730 м и 11 км от солеотвала соответственно. Отбор проб образцов почвы без растений и почвы с растениями проводили согласно методическим рекомендациям [11]. Образцы почвы без растений отбирали в 10 повторностях массой 100–200 г, на расстоянии 5–10 см от корней растений. Для анализа образцов ризосферы растения в количестве не менее 10 экземпляров выкапывали из почвы и стряхивали непрочно удерживающуюся на корнях землю, оставляя почвенный материал, прочно связанный с корнями. Все почвенные образцы изымали из верхнего горизонта глубиной 0–15 см, помещали в стерильные пакеты в емкости с хладагентами и доставляли в лабораторию, где хранили при температуре –80°C до выделения ДНК.

Почва участков 1 и 2, расположенных в 1–1.5 м от солеотвала, представляет собой техногенный грунт (Technosol), образовавшийся в результате сдвига верхнего гумусового горизонта с подзолистой почвы и поступления в грунт с солеотвала солей и глинистой породы. Почва остальных изученных участков (3–5) супесчаная подзолистая (Eutric Retisol). Характеристики почвы приведены в табл. 1.

Анализ физико-химических параметров почвы проводили по общепринятым руководствам: pH водной вытяжки потенциометрическим методом [ГОСТ 26423-85], концентрацию HCO_3^{3-} – титрованием раствором серной кислоты [ГОСТ 26424-85], SO_4^{2-} – гравиметрическим методом [ГОСТ 26425-85], Cl^- – аргентометрическим методом по Мору [ГОСТ 26426-85], содержание Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ и K^+ – атомно-абсорбционной спектроскопией водных вытяжек из почвы на приборе AA-6300 (Shimadzu, Япония) [14].

Тотальную ДНК из образцов выделяли с применением набора реактивов Fast DNA spin kit for soil (MP Biomedicals, Франция) согласно инструкции производителя. Средняя концентрация ДНК в образцах почвы составляла 3 мкг/мл (засоленная почва) и 79 мкг/мл (незасоленная почва). В образцах ризосферы растений вейника наземного, произрастающих на засоленной и незасоленной почве, концентрация ДНК составляла около 10 мкг/мл.

Методом ПЦР-РВ анализировали количества копий генов 16S рРНК бактерий в образцах почвы без растений и ризосферы растений вейника наземного (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth). При амплификации бактериальных генов 16S рРНК использовали праймеры Eub338 (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') и Eub518 (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3') [24]. ПЦР-РВ проводили в присутствии красителя Sybr Green I в наборе реактивов 2X Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (Thermo Scientific, США) на

Таблица 1. Географическое положение, агрохимические характеристики отобранной почвы и характеристика растительности участков

Показатель	Номер участка				
	1	2	3	4	5
Место отбора пробы	1–1.5 м от солееотвала	1–1.5 м от солееотвала	8 м от солееотвала	730 м от солееотвала	11 км от солееотвала
Географические координаты	59°38'01" N 56°45'30" E	59°38'1" N 56°45'35" E	59°38'01" N 56°45'37" E	59°37'56" N 56°44'12" E	59°43'43" N 56°42'46" E
Na ⁺ , смоль(экв)/кг	0.16	0.77	0.07	0.04	0.01
K ⁺ , смоль(экв)/кг	0.12	0.19	0.07	0.05	0.01
Ca ²⁺ , смоль(экв)/кг	9.52	9.22	0.44	0.24	0.08
Mg ²⁺ , смоль(экв)/кг	6.37	5.03	0.04	0.05	0.05
Cl ⁻ , смоль(экв)/кг	0.68	0.58	0.19	0.12	0.03
HCO ₃ ⁻ , смоль(экв)/кг	0.23	0.27	0.17	0.12	0.03
SO ₄ ²⁻ , смоль(экв)/кг	18.63	16.77	0.28	0.20	0.11
pH	6.2	6.3	6.0	6.0	6.1
Сумма токсичных солей, %	0.636	0.543	0.012	0.013	0.006
Характеристика растительности участка	Растительная группировка с преобладанием <i>Rusciniella</i> sp. Проктивное покрытие растений на участке 5–10%	Растительная группировка с преобладанием <i>Rusciniella</i> sp. Проктивное покрытие растений на участке 5–10%	Луг с доминированием <i>Calamagrostis epigeios</i> . Проктивное покрытие растений на участке 50%.	Луг с доминированием <i>Bromopsis inermis</i> . Проктивное покрытие растений на участке 50%	Луг с доминированием <i>Calamagrostis epigeios</i> и <i>Bromopsis inermis</i> . Проктивное покрытие растений на участке 40%

приборе CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection Systems (Bio-Rad Laboratories, США). Определение для каждого образца делали в трех повторностях. Результаты количественной ПЦР обрабатывали с использованием программного обеспечения, прилагающегося к прибору CFX96 Touch™.

Для наиболее полного покрытия филогенетического разнообразия бактерий при амплификации V3-V4 вариабельных участков гена 16S рРНК использовали набор из 8 праймеров: GPro341F (5'-CCTACGGGNBGCASCAG-3'), GPro806R (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAATCC-3'), NR_16_341F1 (5'-TCGTCCGGCAGCGTGAGATGTGTATAAGAGACAGTGCCTACGGGNBGCASCAG-3'), NR_16_341F2 (5'-TCGTCCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCTGCCTACGGGNBGCASCAG-3'), NR_16_341F3 (5'-TCGTCCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGTGCCTACGGGNBGCASCAG-3'), NR_16_806R1 (5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGCCGGACTACNVCGTWTCTAATCC-3'), NR_16_806R2 (5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGCCGGACTACNVCGGTWTCTAATCC-3'), NR_16_806R3 (5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGAACCGGACTACNVCGTWTCTAATCC-3').

Анализ библиотек проводили на секвенаторе Illumina MiSeq (Illumina, США) методом парно-концевого чтения с использованием MiSeq v3 Reagent Kit (500 Cycles PE). Для демультиплексирования парных считываний использовали программное обеспечение Illumina. Проверку качества данных секвенирования производили с помощью программы FastQC версия 0.11.7 [17]. Фильтрацию некачественных последовательностей, генерация ASV, а также назначение таксономии проводили в программе QIIME2 2021.11 [20]. Удаление некачественных прочтений с усредненным качеством ниже 25, тримминг последовательностей, шумоподавление, удаление химерных прочтений, а также выявление вариантов последовательностей ампликонов (amplicon sequence variant, ASV) осуществляли с использованием программного пакета DADA2 [21], интегрированного в QIIME 2 версии 2021.11 [20]. Уникальные варианты последовательностей ампликонов (ASV) классифицировали методом q2-feature-classifier classify-sklearn [19] с помощью наивного байесовского классификатора таксономии, обученного на базе данных SILVA версии 138 [33]. В дальнейшем полученный набор данных применяли для определения альфа-разнообразия, а именно разнообразия (индексы Шеннона и Симпсона) и равномерности сообщества (равномерность Пиеллоу) с помощью QIIME 2 версии 2021.11. Значимость различий оценивали с помощью критерия Краскела–Уоллиса. Рисунки были сделаны с помощью пакета ggplot2 [37].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Агрохимические свойства почвы. В почвах участков 1 и 2, расположенных возле солеотвала, отмечено наличие сульфатного магниевого засоления с гипсом. В составе катионов преобладали Ca^{2+} и Mg^{2+} , в почве на участке 1 доля Na^+ и K^+ составляла 1.0 и 1.3%, на участке 2 – 5.4 и 2.2% соответственно. Основными компонентами солеотвалов являются NaCl (90.6–94.5%) и KCl (3.2–7.3%) [2]. Однако в почвах возле солеотвалов не редко наблюдается накопление SO_4^{2-} , а также Ca^{2+} и Mg^{2+} , что обусловлено их меньшей растворимостью и подвижностью по сравнению с Na^+ , K^+ и Cl^- [3]. Почвы участков 3, 4, 5 не засолены, но почвы участков 3 и 4 отличались повышенным содержанием хлоридов, сульфатов, бикарбонатов, Na^+ , K^+ и Ca^{2+} , по сравнению с почвой площадки 5, наиболее удаленной от солеотвала.

Погодной особенностью лета 2023 г. являлась аномальная засуха. В результате вымывания солей из почв при таянии снега, а также недостатка осадков, смывающих соли с солеотвала, в почвах участков 1 и 2 отмечено меньшее содержание солей натрия и калия и отсутствие защелачивания по сравнению с данными, полученными в предыдущие годы [2, 3].

Численность генов 16S рРНК бактерий. На участках вблизи солеотвала содержание копий бактериальных генов 16S рРНК в образцах ризосферы (обозначенных SR) составляло 7.3×10^{10} (образец 1SR) и 6.0×10^{10} (образец 2SR) копий/г почвы, в то время как в образцах почвы без растений 1S и 2S обнаружено 1.6×10^8 и 5.7×10^8 копий/г почвы, соответственно. Разница в количестве копий гена 16S рРНК бактерий между ризосферными и почвенными образцами с площадок без засоления (3, 4, 5) была менее значительной: $(4.1–6.3) \times 10^{10}$ копий/г почвы в образцах ризосферы растений вейника наземного и $(7.6–8.0) \times 10^9$ копий/г почвы в почве без растений.

Анализ альфа-разнообразия. Полученные в ходе расчетов показатели альфа-разнообразия не сильно варьировали в зависимости от образцов. Для почвенных образцов без растений индекс разнообразия Шеннона составлял 3.73–4.15, индекс Симпсона 0.97–0.98, индекс выравнивания Пиеллоу варьировал от 0.91 до 0.94. В образцах ризосферы показатели разнообразия значимо не отличались от таковых в образцах почвы: индекс Шеннона находился в диапазоне от 3.65 до 4.4, индекс Симпсона 0.97–0.99, а индекс выравнивания Пиеллоу 0.90–0.93. Показано, что образцы ризосферы (1SR и 2SR), отобранные в 1.5 м от солеотвала, характеризовались наибольшими показателями микробного разнообразия.

Анализ состава бактериальных сообществ почвы и ризосферы. На основании таксономического анализа были выявлены филумы бактерий, доля которых в

почвенных бактериальных сообществах превышала 1%. Во всех изученных образцах, как с засолением, так и без засоления, преобладали филумы *Pseudomonadota*, *Bacteroidota*, *Actinomycetota*, *Acidobacteriota*, *Verrucomicrobiota*, *Gemmatimonadota*, общее содержание которых составляло 84–97% (рис. 1). Образцы почвы без растений и без засоления (3S, 4S, 5S) содержали большую долю в бактериальном сообществе представителей филумов *Acidobacteriota* (8.6–16.8%) и *Verrucomicrobiota* (2.0–6.5%) по сравнению с почвой с засолением (1S, 2S), в которой доля данных филумов составляла 2.8–3.3 и 0.8–1.4%, соответственно. Известно, что представители филума *Acidobacteriota* доминируют преимущественно в кислых почвах [4, 12]. Поступающие в почву с солей карбонаты и бикарбонаты создают щелочную реакцию почвенного раствора [3], угнетающую данные бактерии. Так как в исследованных почвах не отмечалась зависимость pH от засоления, отмеченное уменьшение содержания в микробных сообществах бактерий филума *Acidobacteriota* очевидно является эффектом последствия (инерционного воздействия) повышенной щелочности

почвы, которая была до вымывания солей в весенний период. Уменьшение доли *Verrucomicrobiota* в бактериальных сообществах при засолении почвы может быть связано с негативным влиянием засоления на растения, приводящем к снижению плотности корней в почве [15], так как предполагается, что представители данного филума тесно ассоциированы с корневой системой растений [18]. Бактериальные сообщества ризосферы отличались меньшей долей представителей филума *Actinomycetota* (2.8–6.3%), по сравнению с образцами почвы без растений, где доля *Actinomycetota* была 8.5–23.0%. В ризосфере засоление, так же как в почве без растений, оказывало отрицательное воздействие на содержание бактерий филума *Acidobacteriota*. В условиях засоления в ризосфере доля *Acidobacteriota* составила 1.8–2.9%, а без засоления – 12.3–13.3%. В отличие от почвы без растений, в ризосферных бактериальных сообществах засоление не снижало долю бактерий филума *Verrucomicrobiota*, что подтверждает предположение о симбиотической связи бактерий данного таксона с растениями [15, 18]. Различия в таксономическом составе ризосферных

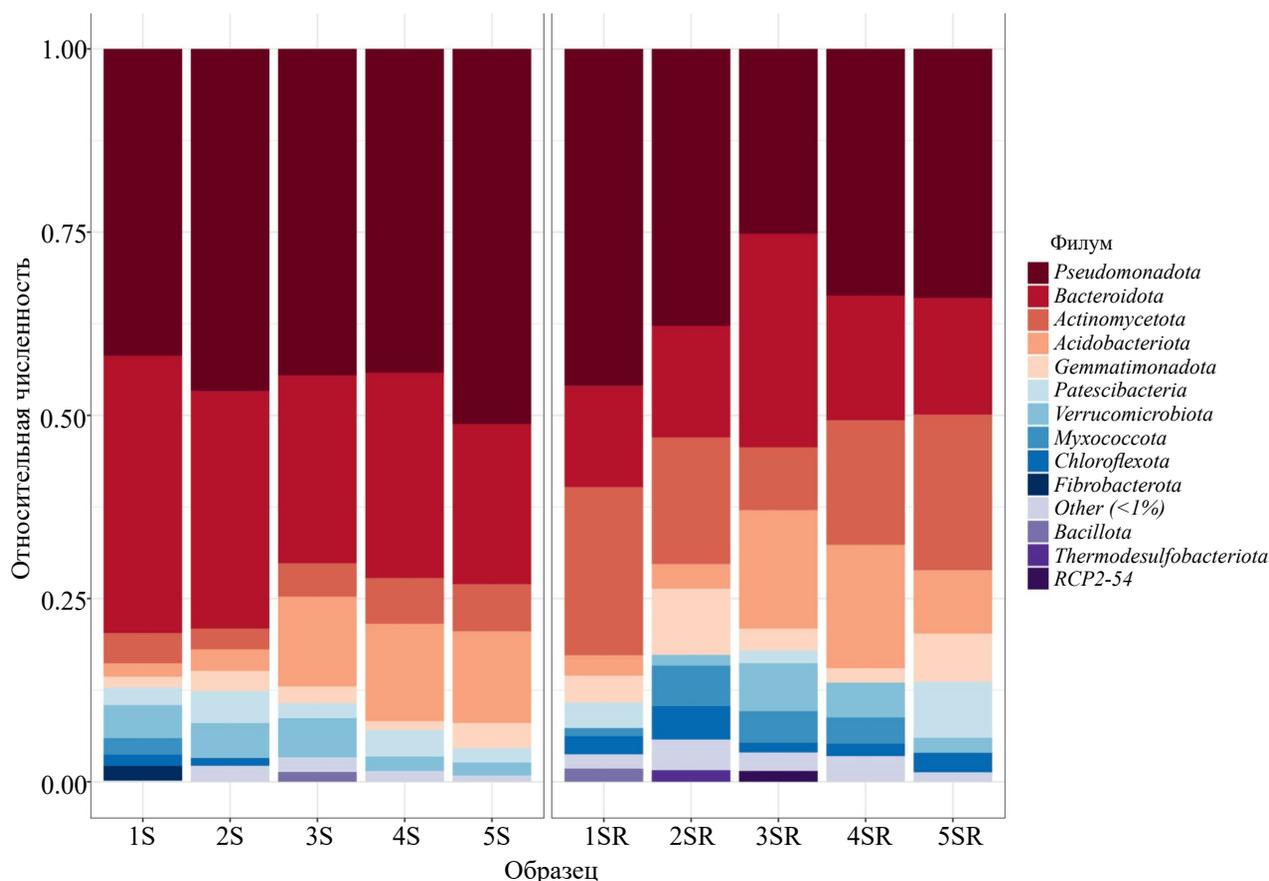


Рис. 1. Структура бактериальных сообществ изучаемых почв и ризосферы растений вейника наземного на уровне филумов. Таксоны, численность которых не превышает 1%, отмечены как Other. Образцы почвы без растений: 1S, 2S, 3S, 4S, 5S; образцы ризосферы: 1SR, 2SR, 3SR, 4SR, 5SR.

и неризосферных бактериальных сообществ почвы обусловлено поступлением от растений с корневыми выделениями в ризосферу органических веществ, которые являются источником питания для ризосферных бактерий [31].

По сравнению с образцами участков без засоления, на участках с техногенным засолением в почве без растений была снижена доля в бактериальных сообществах представителей класса *Actinomycetes*, без засоления она составляла 3.9–9.5%, при засолении – 0–0.6%. В то же время сообщества ризосферы растений, произрастающих на засоленных и незасоленных почвах, не отличались между собой по содержанию бактерий данного таксона (2.1–3.0% – на засоленных почвах, 2.3–4.5% – на почвах без засоления). Негативное воздействие засоления, снижающее долю в бактериальных сообществах представителей класса *Actinomycetes*, обнаружено ранее для аридных почв на примере прибрежных почв реки Хары, впадающей в гиперсолонное озеро Эльгон (Россия), и прибрежных почв озера Акколь (Казахстан) [8, 13]. Согласно некоторым данным, большинство почвенных бактерий класса *Actinomycetes* является гидролитами, активно разлагающими поступающую в почву органику [12]. Техногенное засоление уменьшает продуктивность растительных сообществ и, соответственно, количество растительного опада на участках 1 и 2, что негативно влияет на содержание бактерий класса *Actinomycetes* в почве без растений.

В почве без растений в большинстве изученных участков с засолением и без засоления преобладали бактерии семейств *Sphingomonadaceae* и *Microscillaceae* (рис. 2), а в ризосфере – бактерии семейств *Sphingomonadaceae*, *Microscillaceae*, *Pseudomonadaceae* (род *Pseudomonas*) и *Sphingobacteriaceae* (рис. 3). Почвы без растений участков с засолением отличались от незасоленных отсутствием представителей семейства *Chitinophagaceae*, доля которых в почвенных бактериальных сообществах на участках 3, 4 и 5 составляла 6.1–10.6%, а также преобладанием в сообществе представителей порядка “*Candidatus Actinomarinales*” и семейства *Xanthomonadaceae* (роды *Stenotrophomonas*, *Arenimonas*). Уменьшение доли в почвенном микробном сообществе бактерий семейства *Chitinophagaceae* под влиянием засоления и доминирование представителей семейства *Xanthomonadaceae* в засоленных почвах было отмечено ранее в работах [8, 15]. Ризосфера растений засоленных участков отличалась от ризосферы растений, произрастающих на незасоленной почве, пониженным содержанием представителей семейства *Chitinophagaceae* (1.3–2.4%), отсутствием бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, доля которых в ризосфере на участках без засоления составляла 5.1–7.1%, а также увеличением доли в бактериальных сообществах бактерий семейств *Xanthomonadaceae* (роды *Thermomonas*, *Pseudoxanthomonas*) и

Flavobacteriaceae (роды *Arenibacter*, *Confluentibacter*, *Flavobacterium*).

Характерными таксонами для техногенно-засоленной почвы (образцы почвы без растений, 1S и 2S) являлись также класс *Anaerolineae*, порядок *Oceanospirillales* (роды *Halomonas*, *Marinobacterium*), семейства *Acidithiobacillaceae*, *Bradymonadaceae*, *BD2–11_terrestrial_group*, *Cyclobacteriaceae*, *Diplorickettsiaceae* (род *Aquicella*), *Nitrosococcaceae*, *PAUC26f*, *Solimonadaceae* (род *Polycyclovorans*), *Woeseiaceae*, *Rhodobacteraceae*. Для образцов ризосферы растений, собранных с участков с техногенно засоленной почвой (1SR и 2SR), были характерны бактерии класса *Anaerolineae*, порядка *Oceanospirillales* (роды *Marinomonas*, *Blyi10*), семейств *PAUC26f*, *Alteromonadaceae* (роды *Rheinheimera*, *Paraglaciecola*), *Cyclobacteriaceae*, *Nitrosococcaceae*, *Rhodobacteraceae*, *Woeseiaceae* (табл. S1).

В почве без растений (участок 2), где отмечена наибольшая концентрация Na^+ , выявлены бактерии родов *Halomonas* и *Marinobacterium*. Известно, что бактерии данных родов – галотолерантные микроорганизмы, часто встречающиеся в местообитаниях с высокой соленостью, также обнаруженные и в почвах с повышенным содержанием хлорида натрия [15, 29].

Некоторые специфичные таксоны бактерий, развитие которых обусловлено поступлением солей с солеотвала, обнаружены также в подзолистых почвах участков, находящихся за зоной засоления в 8 и 730 м от солеотвала. В почве без растений выявлены представители порядка “*Candidatus Actinomarinales*”, доля которых в бактериальном сообществе почв участка 3 (8 м от солеотвала) составляла 1.6%, почв участка 4 (730 м от солеотвала) – 1.4%, для сравнения в бактериальных сообществах засоленных почв содержание “*Candidatus Actinomarinales*” было 8.5–18.4%. Представители порядка “*Candidatus Actinomarinales*” являются некультивируемыми бактериями с мало изученной физиологией, широко распространенными в морях и океанах [27], в последнее время обнаружены также в засоленных почвах [36, 41]. Выявлена положительная корреляция между численностью бактерий порядка “*Candidatus Actinomarinales*” и содержанием солей калия в почве [36]. В образцах почвы без растений и ризосферы с участков 3 и 4 обнаружено наличие представителей семейств: *Nitrosomonadaceae* (3.0–6.1%), *Saprospiraceae* (1.0–1.9%) и рода *Ilumatobacter* (1.6–2.8%). Также в этих образцах отмечено присутствие некультивируемых бактерий семейства *Rhodanobacteraceae* (1.3–1.5%), в то время как в ризосферном бактериальном сообществе участка 5 (11 км от солеотвала), данное семейство представлено родом *Luteibacter* (5.9%). Бактерии семейства *Nitrosomonadaceae* являются автотрофными нитрификаторами окисляющими аммоний до нитрита, развитие которых лимитирует низкая кислотность

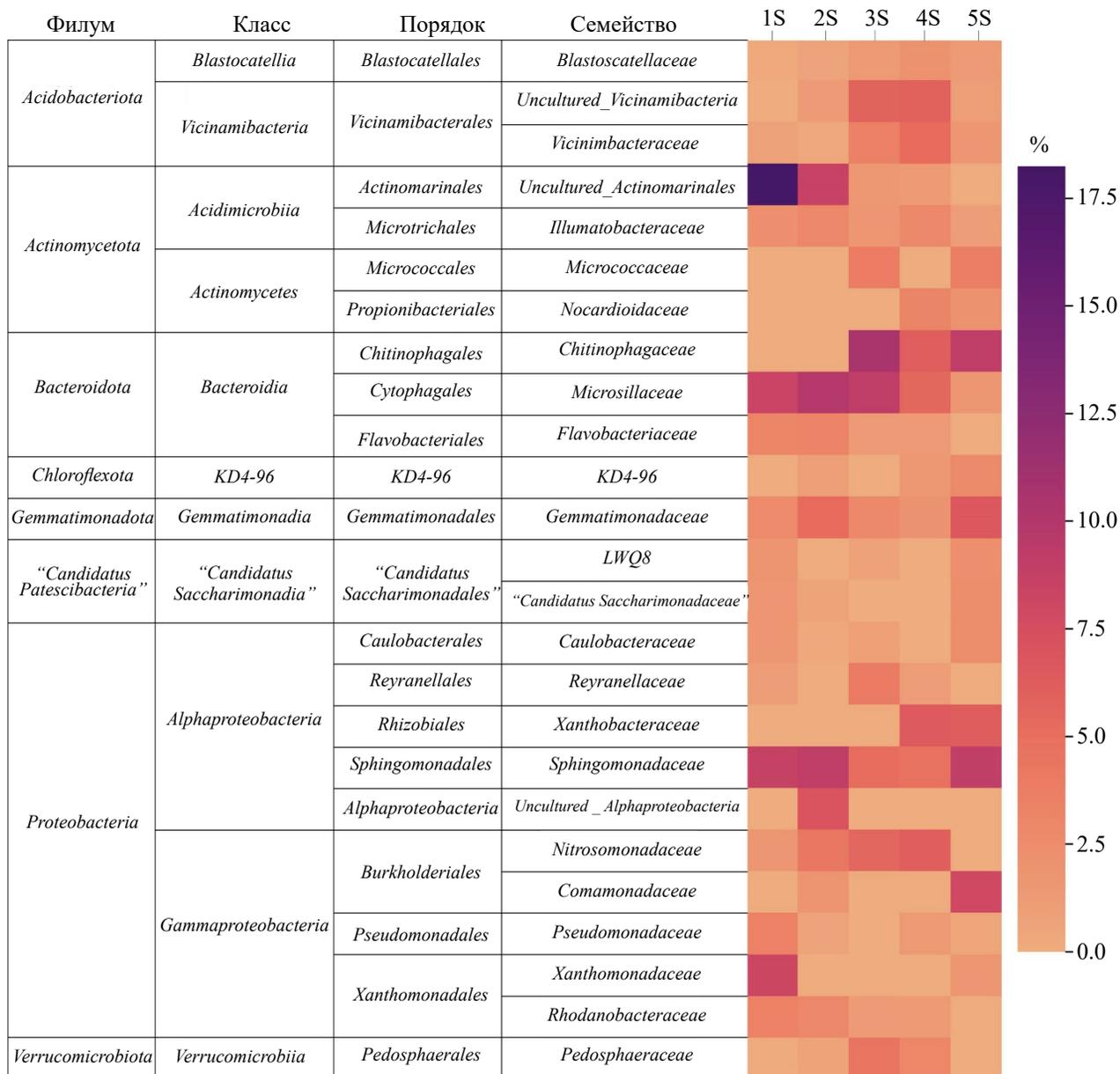


Рис. 2. Преобладающие семейства бактерий в почве без растений (показаны 25 семейств, характеризующихся наибольшим процентным содержанием). Тепловая карта отражает процентное содержание семейств в исследуемых образцах.

почвы. Повышение рН почвы при поступлении в нее карбонатов кальция и магния приводит к увеличению доли данных бактерий в почвенных микробных сообществах [32]. Внесение в почву карбоната кальция также приводило к увеличению численности в ней некультивируемых бактерий семейства *Rhodanobacteraceae* [26]. В ряде работ отмечено преобладание в микробоценозах засоленных почв и ризосферы растений, произрастающих в условиях засоления, представителей семейства *Saprosiraceae* и рода *Ilumatobacter* [13, 25, 30, 35].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые с использованием профилирования по гену 16S рРНК проведено исследование таксономической структуры бактериальных сообществ почв (в образцах почв без растений и ризосферы растений вейника наземного (*Calamagrostis epigeios* (L.)), находящихся под влиянием солелотвала на территории района промышленных разработок Верхнекамского месторождения солей (г. Соликамск, Пермский край). В результате поступления солей в почвах возле солелотвала

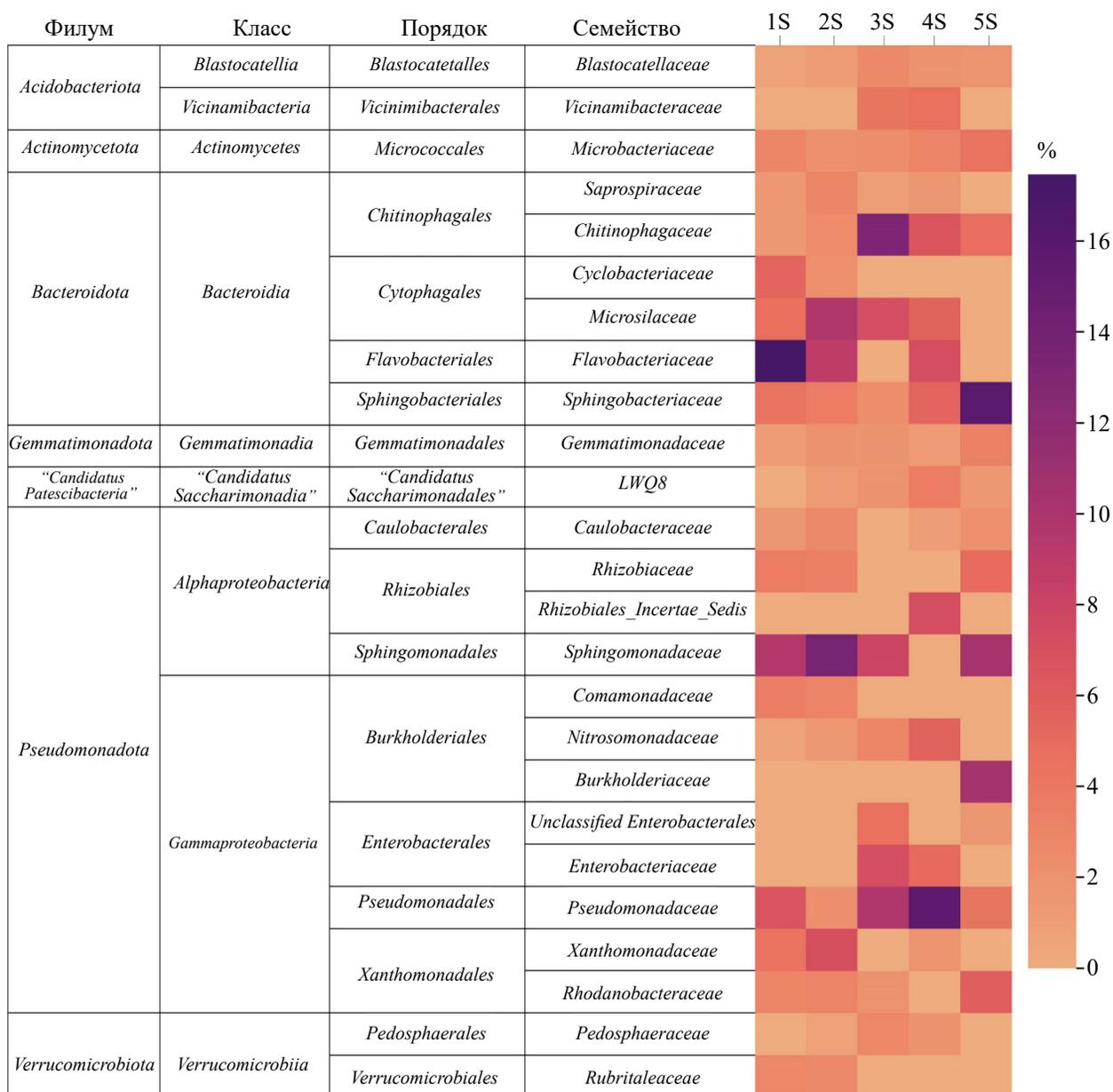


Рис. 3. Преобладающие семейства бактерий в ризосфере вейника наземного (показаны 25 семейств, характеризующихся наибольшим процентным содержанием). Тепловая карта отражает процентное содержание семейств в исследуемых образцах.

наблюдаются изменения таксономического состава почвенных бактерий. Наибольшее воздействие на биоразнообразие бактерий галитовые отходы оказывают в почвах участков, расположенных в непосредственной близости от солеотвала (1–1.5 м), где отмечено наличие засоления. В образцах почвы без растений, отобранных на данных участках, относительно почв без засоления, отмечено преобладание бактерий порядка "Candidatus Actinomarinales", снижение доли в бактериальных сообществах представителей филумов Acidobacteriota, Verrucomicrobiota, бактерий

класса Actinobacteria и семейства Chitinophagaceae, увеличение доли бактерий семейства Xanthomonadaceae. В бактериальных сообществах ризосферы растений, произрастающих на засоленных почвах, в сравнении с почвой без засоления, уменьшается доля представителей филума Acidobacteriota, семейства Chitinophagaceae и Enterobacteriaceae, повышается доля бактерий семейств Xanthomonadaceae и Flavobacteriaceae. В бактериальных сообществах подзолистых почв, находящихся от солеотвала в 8 и 730 м, обнаружено присутствие представителей семейств Nitrosomonadaceae, Saprospiraceae

и *Rhodanobacteraceae* (некультивируемые бактерии), бактерий рода *Plumatobacter*, а также порядка “*Candidatus Actinomarinales*”, что указывает на влияние галитовых отходов на бактериоценозы данных почв.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках гранта Российского научного фонда (проект № 23-24-00308).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Онлайн-версия содержит дополнительные материалы, доступные по адресу <https://doi.org/10.31857/S0032180X24080066>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бабошко А.Ю., Бачурин Б.А.* Тяжелые металлы в отходах калийной промышленности // Горный информационно-аналитический бюллетень (научнотехнический журнал). 2009. № 5. С. 369–376.
2. *Ерёмченко О.З., Лымарь О.А.* Почвенно-экологические условия зоны солеотвалов и адаптация к ним растений // Экология. 2007. № 1. С. 18–23.
3. *Ерёмченко О.З., Четина О.А., Кусакина М.Г., Шестаков И.Е.* Техногенные поверхностные образования зоны солеотвалов и адаптация к ним растений. Пермь: Перм. гос. нац. исслед. ун-т, 2013. 148 с.
4. *Иванова Е.А., Першина Е.В., Кутовая О.В., Сергалиев Н.Х., Нагиева А.Г., Жиенгалиев А.Т., Андронов Е.Е.* Сравнительный анализ микробных сообществ контрастных почвенных типов в условиях различных фитоценозов // Экология. 2018. № 1. С. 34–44.
5. *Копылов И.С.* Геоэкология, гидрогеология и инженерная геология Пермского края. Пермь: Перм. гос. нац. исслед. ун-т, 2021. 501 с.
6. *Коротаев Н.Я.* Почвы Пермской области. Пермь: Пермское книжное изд-во, 1962. 277 с.
7. *Корсакова Е.С., Ананьина Л.Н., Назаров А.В., Бачурин В.А., Плотникова Е.Г.* Разнообразие бактерий семейства *Halomonadaceae* района разработок Верхнекамского месторождения солей // Микробиология. 2013. Т. 82. № 2. С. 247–250.
8. *Кузнецова А.И., Иванова Е.А., Самылина О.С., Курбанова Ф.Г., Груздев Д.С., Канапацкий Т.А., Пименов Н.В.* Прокариотные сообщества засоленных почв Приэльбонья в почвенной катене вдоль реки Хары // Микробиология. 2020. № 6. С. 658–674.
9. *Кутовая О.В., Лебедева М.П., Тхакахова А.К., Иванова Е.А., Андронов Е.Е.* Метагеномная характеристика биологического разнообразия крайнеаридных пустынных почв Казахстана // Почвоведение. 2015. № 5. С. 554–554.
10. *Лопатовская О.Г., Сугаченко А.А.* Мелиорация почв. Засоленные почвы. Иркутск: Иркутский гос. ун-т, 2010. 101 с.
11. *Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Звягинцева Д.Г. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1991. 303 с.*
12. *Налиухин А.Н., Хамитова С.М., Глинушкин А.П., Авдеев Ю.М., Снетилова В.С., Лактионов Ю.В., Белозеров Д.А.* Изменение метагенома прокариотного сообщества как показатель плодородия пахотных дерново-подзолистых почв при применении удобрений // Почвоведение. 2018. № 3. С. 331–337.
13. *Першина Е.В., Тамазян Г.С., Дольник А.С., Пинаев А.Г., Сергалиев Н.Х., Андронов Е.Е.* Изучение структуры микробного сообщества засоленных почв с использованием высокопроизводительного секвенирования // Экологическая генетика. 2012. № 2. С. 32–40.
14. *Практикум по агрохимии / Под ред. Минеева В.Г. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2001. 689 с.*
15. *Чернов Т.И., Тхакахова А.К., Лебедева М.П., Железова А.Д., Бгажба Н.А., Кутовая О.В.* Микробиомы контрастных по засолению почв солонцового комплекса волго-уральского междуречья // Почвоведение. 2018. № 9. С. 1115–1124.
16. *Шкляев А.С., Балков В.А.* Климат Пермской области. Пермь: Пермское книжное изд-во, 1963. 163 с.
17. *Andrews S.* FastQC: A Quality control tool for high throughput sequence data. UK: Babraham Bioinformatics, Babraham Institute, 2010. 22 p.
18. *Bergmann 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. V. 43. P. 1450–1455. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.03.012>
19. *Bokulich N.A., Kaehler B.D., Rideout J.R., Dillon M., Bolyen E., Knight R., Gregory Caporaso J.* Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin // Microbiome. 2018. V. 6. P. 1–17. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0470-z>
20. *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. V. 37. P. 852–857.
<https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>
21. Callahan B.J. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data // Nature methods. 2016. V. 13. P. 581–583.
<https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
 22. Canfora L., Bacci G., Pinzari F., Lo Papa G., Dazzi C., Benedetti A. Salinity and bacterial diversity: to what extent does the concentration of salt affect the bacterial community in a saline soil // PLoS ONE. 2014. V. 9. P. e106662.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106662>
 23. Dhondge H.V., Barvkar V.T., Paul D., Dastager S.G., Pable A.A., Nadaf A.B. Exploring the core microbiota in scented rice (*Oryza sativa* L.) rhizosphere through metagenomics approach // Microbiol. Res. 2022. V. 263. P. 127157.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127157>
 24. Fierer N., Jackson J.A., Vilgalys R., Jackson R.B. Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays // Appl. Environ. Microbiol. 2005. V. 71. P. 4117–4120.
 25. Hernandez E.G., Baraza E., Smit C., Berg M.P., Salles J.F. Salt Marsh Elevation Drives root microbial composition of the native invasive grass *Elytrigia atherica* // Microorganisms. 2020. V. 8. P. 1619.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8101619>
 26. Högfors-Rönholm E., Christel S., Lillhonga T., Engblom S., Österholm P., Dopson M. Biodegraded peat and ultrafine calcium carbonate result in retained metals and higher microbial diversities in boreal acid sulfate soil // Soil Ecol. Lett. 2020. V. 2. P. 120–130.
<https://doi.org/10.1007/s42832-020-0039-1>
 27. Iranzo J., Rodriguez-Valera F. Genomes of the “*Candidatus Actinomarinales*” order: highly streamlined marine epipelagic *Actinobacteria* // Msystems. 2020. V. 6. P. 1110–1128.
<https://doi.org/10.1128/mSystems.01041-20>
 28. Kearl J., McNary C., Lowman J. S., Mei C., Aanderud Z.T., Smith S.T., Nielsen B.L. Salt-tolerant halophyte rhizosphere bacteria stimulate growth of alfalfa in salty soil // Front. Microbiol. 2019. V. 10. P. 1849.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01849>
 29. Luo Y.J., Xie B.S., Lv X.L., Cai M., Wang Y.N., Cui H.L., Cai H., Wu X.L. *Marinobacter shengliensis* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from oil-contaminated saline soil // Antonie Van Leeuwenhoek. 2015. V. 107. P. 1085–1094.
<https://doi.org/10.1007/s10482-015-0401-y>
 30. Luo J., Zhang Z., Hou Y., Diao F., Hao B., Bao Z., Wang L., Guo W. Exploring Microbial resource of different rhizocompartments of dominant plants along the salinity gradient around the hypersaline Lake Ejnir // Front. Microbiol. 2021. V. 12. P. 698479.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.698479>
 31. Lynch J.M. The Rhizosphere. Chichester / UK: John Wiley & Sons, 1992. 238 p.
 32. Nadeem S., Bakken L.R., Frostegard A., Gaby J.C., Dörsch P. Contingent effects of liming on N₂O-emissions driven by autotrophic nitrification // Front. Environ. Sci. 2020. V. 8. P. 598513.
<https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.598513>
 33. Quast C., Pruesse E., Yilmaz P., Gerken J., Schweer T., Yarza P., Peplies J., Glöckner F.O. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools // Nucleic Acids Res. 2013. V. 41. P. D590–D596.
<https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
 34. Rokins D.P., Gopal N.O., Anandham R., Saraswathi R. The impact of different planting systems on the bacterial diversity of rice cultivated in saline soil based on 16s rRNA gene-based metagenomic insights // Agriculture. 2022. V. 12. P. 1624.
<https://doi.org/10.3390/agriculture12101624>
 35. Song T., Liang Q., Du Z., Wang X., Chen G., Du Z., Mu D. Salinity gradient controls microbial community structure and assembly in coastal solar salterns // Genes. 2022. V. 13. P. 385.
<https://doi.org/10.3390/genes13020385>
 36. Sootahar M.K., Hamani M., Sardar M.F., Sootahar M.K., Fu Y., Rahim R., Sootahar J.K., Bhatti S.M., Abubakar S.A., Gao Y., Sun J. Seedlings rhizosphere microbial community as responded to acidic biochar amendment under saline conditions // Front. Microbiol. V. 12. P. 789235.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.789235>
 37. Wickham H. ggplot2: Elegant graphics for data analysis. New York: Springer-Verlag, 2016. 124 p.
 38. Xie K.H., Deng Y., Zhang S.C., Zhang W.H., Liu J.R., Xie Y.L. Prokaryotic community distribution along an ecological gradient of salinity in surface and subsurface saline soils // Sci Rep. 2017. V. 7. P. 13332.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-13608-5>
 39. Yang J., Li W., Teng D., Yang X., Zhang Y., Li Y. Metagenomic insights into microbial community structure, function, and salt adaptation in saline soils of arid land, China // Microorganisms. 2022. V. 10. P. 2183.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms>
 40. Zeng F., Zhu Y., Zhang D., Zhao Z., Li Q., Ma P., Zhang G., Wang Y., Wu S., Guo S., Sun G. Metagenomic analysis of the soil microbial composition and salt tolerance mechanism in Yuncheng Salt Lake, Shanxi Province // Front. Microbiol. 2022. V. 13 P. 1004556.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1004556>
 41. Zhang Y., Sun X., Qian C., Li L., Shang X., Xiao X., Gao Y. Impact of petroleum contamination on the structure of saline soil bacterial communities // Current Microbiology. 2022. V. 79. P. 351.
<https://doi.org/10.1007/s00284-022-03057-3>

Soil Bacterial Communities in the Zone of Influence of Salt Dump (Solikamsk, Perm Krai)

A. V. Nazarov¹, Yu. I. Nechaeva¹, E. S. Korsakova¹, A. A. Pyankova¹, and E. G. Plotnikova¹

¹*Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS, Perm, 614081 Russia*

*e-mail: nazarov@iegm.ru

Using the method of high-throughput sequencing of the 16S rRNA gene, the taxonomic composition of soil bacterial communities (Technosol and Retisol) near the salt dump of a potassium enterprise (Solikamsk, Perm region) was analyzed. Soil samples without plants and the rhizosphere of plants of the species *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth) from areas located 1–1.5, 8, 780 m and 11 km from the salt dump were studied. It was found that bacteria from the phyla *Pseudomonadota*, *Bacteroidota*, *Actinomycetota*, *Acidobacteriota*, *Verrucomicrobiota* and *Gemmatimonadota* predominated in all soil samples. Halite waste had the greatest impact on the taxonomic composition of bacterial communities on the soils of areas (in the salinity zone) located in the immediate vicinity of the salt dump (1–1.5 m). In soil samples without plants collected in these areas, relative to soils samples without salinity (at a distance of 8, 780 m, 11 km from the salt dump), bacteria of the order “*Candidatus Actinomarinales*” predominated; the proportion in the bacterial communities of representatives of the phyla *Acidobacteriota*, *Verrucomicrobiota*, class *Actinobacteria* and the *Chitinophagaceae* family, the proportion of bacteria of the family *Xanthomonadaceae* increased. In rhizosphere bacterial communities of the plants growing in the salinity zone, the proportion of representatives of the phylum *Acidobacteriota* and the families *Chitinophagaceae*, *Enterobacteriaceae* decreased, and the proportion of the families *Xanthomonadaceae* and *Flavobacteriaceae* increased. The influence of the salt dump on the soil bacterial communities from areas located 8 m and 730 m from the salt dump was revealed, manifested in the presence of representatives of the order “*Candidatus Actinomarinales*” (1.4–1.6%), families *Nitrosomonadaceae* (3.0–6.1%), *Saprosiraceae* (1.0–1.9%), the genus *Ilumatobacter* (1.6–2.8%) and unculturable bacteria of the family *Rhodanobacteraceae* (1.3–1.5%).

Keywords: technogenic salinization, rhizosphere, 16S rRNA gene amplicon sequencing