

## ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОБИОМА КАК ИНДИКАТОР ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПРИРОДНЫХ СРЕД СОДОВОГО ШЛАМОХРАНИЛИЩА АО «БЕРЕЗНИКОВСКИЙ СОДОВЫЙ ЗАВОД»

Шилова А. В., Максимов А. Ю., Максимова Ю. Г.

## MICROBIOME CHANGES AS AN INDICATOR OF THE RECOVERY OF NATURAL ENVIRONMENTS AT THE SODA SLUDGE STORAGE FACILITY OF BEREZNIKI SODA PLANT

Shilova A. V., Maksimov A. Yu., Maksimova Yu. G.

### Аннотация

**Введение.** Содовые шламонакопители занимают значительные земельные площади и являются источником постоянного воздействия на объекты гидросферы вследствие щелочной реакции среды (рН до 12) и высокой минерализации. Исследование микробиоценозов необходимо для понимания экологических процессов, происходящих в этих техногенных образованиях, и оценки состояния окружающей среды. Цель работы — исследование изменения микроценоза содового шламохранилища в процессе естественного восстановления почвенного и растительного покрова после осушения, а также выявление филогенетических групп — индикаторов восстановления окружающей среды после экстремального защелачивания. **Методы.** Определение количества жизнеспособных бактерий, метагеномное секвенирование генов 16S рРНК, атомно-абсорбционный метод определения концентрации тяжелых металлов. **Результаты.** Изучено изменение микробиома при восстановлении земель на месте осушенного содового шламохранилища. Показано, что в воде и техногенных поверхностных образованиях содового шламохранилища преобладали представители филума *Firmicutes*, тогда как в осадках соды и в объединенном образце грунта старого осушенного содового озера — *Proteobacteria*. В микробиоме объединенного образца грунта осушенного содового озера преобладали семейства *Moraxellaceae* и *Staphylococcaceae* (20–23 %), а также *Pseudomonadaceae* и *Burkholderiaceae* (11–13 %), тогда как на глубине 10 см в большей степени были представлены семейства *Streptococcaceae* и *Cellulomonadaceae*. Обнаруженные изменения микробного сообщества, связанные со сменой состава техногенного образования, могут быть использованы в качестве индикаторов восстановления среды.

**Ключевые слова:** микробиом, содовое шламохранилище, алкалофильные бактерии, алкалотолерантные бактерии, гидролитическая активность.

### Abstract

**Introduction.** Soda sludge storage facilities occupy significant land areas and are a source of constant effect on hydrosphere objects due to the alkaline reaction of the medium (pH up to 12) and high mineralization. It is required to study microbiocenoses to understand the environmental processes occurring in these technogenic formations, and assess the state of the environment. **Purpose of the study.** The authors analyze changes in the microcenosis of a soda sludge storage facility during the natural restoration of soil and vegetation cover after draining, and identify phylogenetic groups — indicators of environmental restoration after extreme alkalization. **Methods.** During the study, the determination of the number of viable bacteria and metagenomic sequencing of 16S rRNA genes were performed, the atomic absorption method to determine the concentration of heavy metals was used. **Results.** The authors studied changes in the microbiome during land restoration at the location of the drained soda sludge storage facility. It is shown that representatives of phylum *Firmicutes* predominated in water and technogenic surface formations of the soda sludge storage facility, whereas *Proteobacteria* predominated in sediments of soda and in the combined soil sample of the old drained soda lake. The families of *Moraxellaceae* and *Staphylococcaceae* (20–23 %), as well as *Pseudomonadaceae* and *Burkholderiaceae* (11–13 %) predominated in the microbiome of the combined soil sample of the drained soda lake, while *Streptococcaceae* and *Cellulomonadaceae* were represented to greater degree at a depth of 10 cm. The detected changes in the microbial community associated with changes in the composition of the technogenic formation can be used as indicators of environmental restoration.

**Keywords:** microbiome, soda sludge storage, alkalophilic bacteria, alkalotolerant bacteria, hydrolytic activity.

## Введение

Кальцинированная сода является одним из важнейших продуктов неорганического синтеза и производится в России преимущественно аммиачным способом в количестве более 2,2 миллиона тонн в год. АО «Березниковский содовый завод» (г. Березники, Пермский край) и АО «Башкирская содовая компания» (г. Стерлитамак, Башкортостан) являются крупнейшими российскими производителями кальцинированной соды. Негативное воздействие на окружающую среду производства соды данным методом — образование твердых отходов и промышленных сточных вод технологических процессов, которые поступают в шламовый коллектор и в виде пульпы подаются в отстойник — шламонакопитель [5, 7, 10]. Они занимают значительные земельные площади и являются источником постоянного воздействия на объекты гидросферы, так как имеют щелочную реакцию среды (рН до 12) и высокую минерализацию за счет содержания растворенных ионов (хлориды, сульфаты, натрий, калий, аммоний), обладающих большой миграционной способностью. Размещение таких шламонакопителей в черте населенных пунктов и зонах крупных водотоков ухудшает санитарно-гигиеническую и экологическую ситуацию и угрожает здоровью населения [3, 9].

Однако эта уникальная искусственная среда — потенциальная среда для обитания экстремофильных микроорганизмов из-за высокого рН и высокой концентрации соли. Подобные условия окружающей среды способствуют отбору микроорганизмов, способных расти как в присутствии высоких концентраций соли, так и в условиях щелочных значений рН [1, 11, 13, 14, 16, 21, 22, 25]. Микроорганизмы, живущие в данных экстремальных условиях, требуют большего внимания, поскольку знания о них ограничены, в отличие от обитателей всесторонне изученных содовых озер естественного происхождения. Особый интерес представляет изменение микробиоценоза на территориях старых осушенных содовых шламонакопителей, где наблюдается постепенное восстановление растительного покрова, хотя в грунте длительное время сохраняются повышенные концентрации солей.

Известно, что, с одной стороны, микробиом как естественных, так и техногенных сред опре-

деляется их составом и физико-химическими условиями и, таким образом, может быть индикатором состояния той или иной среды, с другой стороны, микроорганизмы — одни из важнейших факторов ремедиации сред, нормализации их химического состава и восстановления экосистем. В связи с этим исследование микробиоценозов необходимо для адекватного понимания экологических процессов, происходящих в техногенных образованиях. Ранее изменение микробного сообщества при естественной рекультивации территории техногенного содового озера не изучалось. Наибольший интерес в таких экосистемах представляют микроорганизмы-гидролитики, как с точки зрения изучения взаимосвязей их биоразнообразия с восстановлением почвенного покрова, так и в качестве источника ферментов для биотехнологии и других сфер производства [15, 17, 20, 21, 23].

Цель данной работы — исследование изменения микробиоценоза содового шламохранилища после его осушения в процессе естественного восстановления почвенного и растительного покрова, а также выявление филогенетических групп — индикаторов восстановления окружающей среды после экстремального защелачивания.

## Материалы и методы

Объектом исследования является содовое озеро антропогенного происхождения, расположенное на северо-западной окраине г. Березники Пермского края на левом берегу Камского водохранилища (59°24.32' (59°24.54') с. ш.; 56°49.13' (56°49.22') в. д.) (рис. 1).

Отходы Березниковского содового завода складываются в действующей и старой картах шламонакопителя (рис. 2), которые ограничены дамбами из щебня и дресвы известняка, общая площадь которого составляет 244 км<sup>2</sup>, а общий объем шлама превышает 10 млн м<sup>3</sup> [2].

Отбор проб воды и грунта проводили в сентябре 2017 г. Для исследований микрофлоры в действующем шламонакопителе были взяты пробы воды, донных отложений, техногенного поверхностного образования в прибрежной зоне и техногенного поверхностного образования с ризосферой растений. В почвоподобных образованиях осушенного содового озера пробы отбирались с поверхности, а также на глубине 5 см и



Рис. 1. Спутниковая карта шламохранилища Березниковского содового завода (URL: <https://www.google.com/maps/place/Березники>)

10 см (в точке 59°25.654' с. ш.; 56°43.328' в. д.). Образцы хранили при температуре +4° С.

Элементный состав образцов определяли на атомно-абсорбционном спектрофотометре AA-6300 SHIMADZU (Япония). Извлечение водорастворимых форм соединений металлов из проб проводили следующим образом: к 5 г почвы добавляли 120 мл бидистиллированной воды, тщательно перемешивая. Полученную суспензию почвы фильтровали через бумажный фильтр «белая лента», а затем полученный фильтрат выпаривали до объема 25 мл. К полученному раствору добавляли 2–3 капли концентрированной  $\text{HNO}_3$ .

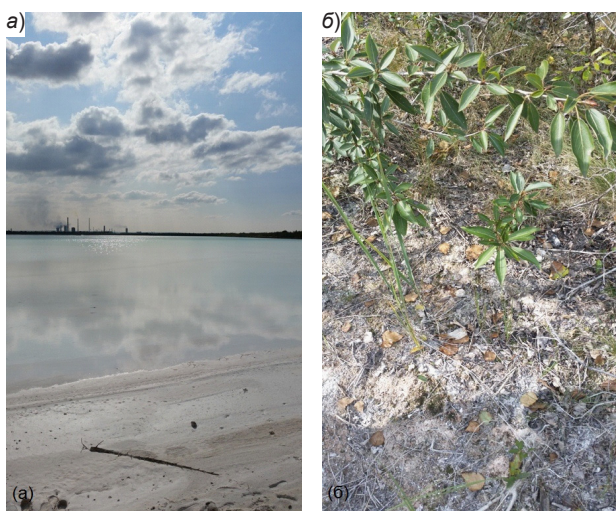


Рис. 2. Действующая (а) и старая карта (б) шламонакопителя АО «Березниковский содовый завод»

Кислотную экстракцию металлов проводили добавлением к 2 г почвы 10 мл 5 М  $\text{HNO}_3$ , колбы с обратными холодильниками выдерживали в течение трех часов на кипящей водяной бане, пробы охлаждали и отфильтровывали в мерные колбы на 50 мл через бумажный фильтр «Белая лента» и доводили объем фильтрата до 50 мл. Извлечение подвижных форм соединений металлов из образцов проводили добавлением 50 мл ацетатно-аммонийного буферного раствора с pH 4,8 к 5 г почвы, периодически перемешивая вращательными движениями в течение 24 часов при комнатной температуре. Затем пробы отфильтровывали в мерные колбы на 100 мл через бумажный фильтр «Белая лента» и доводили объем фильтрата до 100 мл буферным раствором.

Кислотность, содержание карбоната и гидрокарбоната определяли в соответствии с ГОСТ 26423–85. Анализ хлоридов, сульфатов, фосфатов и нитратов проводили в соответствии с ПНД Ф 16.1:2.2.3:2.2.69–10. Ионный состав анализировали с помощью системы капиллярного электрофореза КАПЕЛЬ-105М (Россия) с автосемплером в соответствии с руководством производителя.

Учет численности и выделение культивируемых алкалолентных бактерий с протеазной, амилазной, целлюлазной и липазной активностью проводили методом предельных разведений на селективных средах. Пробы высевали на агаризованную среду Пфеннига следующего состава (г/л):  $\text{NH}_4\text{Cl}$  — 0,3,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 0,3,  $\text{MgCl}_2$  — 0,3,  $\text{CaCl}_2$  — 0,03, дрожжевой экстракт — 0,5, раствор микроэлементов по Липперту–Витману — 1 мл. В качестве субстратов вносили до концентрации 1,5 %: пептон — для выделения протеолитиков, крахмал — для амилолитиков, целлюлозу — для целлюлолитиков, твин-80 — для липолитиков. Кислотность среды доводили 1 М раствором  $\text{NaOH}$  до 8. Культуры инкубировали при температуре 30° С. Количество бактерий выражали в колониеобразующих единицах (КОЕ) на грамм сухой массы.

Препараты хромосомной ДНК бактерий получали фенольным методом, модифицированным для выделения ДНК из актиномицет. Секвенирование проводили на приборе Applied Biosystem 3500XL [8]. Полученные последовательности сравнивали с хранящимися в мировой

базе данными сервера EzBioCloud (<https://www.ezbiocloud.net/>). Метагеномный анализ исследуемых образцов по генам 16S рРНК проводили на платформе MiSeq (Illumina). Приготовление библиотеки для секвенирования проводили в соответствии с инструкциями и протоколами для секвенаторов MiSeq (Illumina 50 Rxn / Набор KAPA).

#### Результаты исследования и обсуждение

##### *Физико-химическая характеристика воды и грунтов содового шламохранилища*

Известно, что структуру сообщества микроорганизмов определяют физико-химические условия среды. Изменения таких показателей, как рН и элементный состав, ускоряют или подавляют развитие микроорганизмов разных таксономических групп, что влияет на процессы образования и разложения органического вещества, которые осуществляются данными сообществами [4, 6]. Влияние рН и минерализации на состав микробиома в различных экосистемах было тщательно изучено другими исследователями [12, 18, 19, 24, 26]. Данные исследования показали, что высокая щелочность, вызванная присутствием карбонатов, бикарбонатов и гидроксидов, а также высокая концентрация солей, являются ключевыми факторами, формирующими структуру микробных сообществ шламохранилищ.

Исследуемые нами источники характеризуются щелочными значениями рН. Так, в образцах шламохранилища рН воды составляет 11–12,6, отложений соды — 11. В пробах грунта старого осушенного содового озера кислотность варьировала в пределах 8–8,5, а рН грунта прибрежной части шламохранилища составляла 7,5.

При изучении элементного состава образцов определено высокое содержание кальция в образцах из действующего содового шламонакопителя и грунте старого содового озера (табл. 1). Наименьшее количество кальция определили в образцах техногенных поверхностных образований прибрежной зоны действующего шламонакопителя и воде. Во всех остальных образцах концентрация кальция в кислоторастворимых и ацетатно-аммонийных фракциях соответствовала 260–470 г/кг грунта. Количество магния возрастало с увеличением глубины отбора проб (13–17,6 г/кг). Концентрация натрия была максимальной в водной фазе и достигала 6 г/л. Также были обнаружены тяжелые металлы, в большем

количестве присутствующие в техногенных поверхностных образованиях территории старого содового озера. Общей тенденцией является возрастание содержания металлов в грунте восстанавливаемых территорий содового шламонакопителя по сравнению с действующим, что объясняется концентрированием солей при испарении воды.

В образцах из действующего шламонакопителя и с поверхности осушенного содового озера установлено доминирование хлорид-ионов. Их суммарное содержание в старом содовом озере и шламохранилище составляло 9,3 и 74,7 г/кг соответственно (табл. 2). С увеличением глубины в образцах возрастало содержание карбонатов/гидрокарбонатов, суммарное количество которых составило 0,1/5,8 г/кг в старом содовом озере и 1,6/3,3 г/кг — в шламохранилище соответственно. В осадке шламохранилища отмечается также значительное содержание аниона  $\text{SO}_4^{2-}$  — 3,8 г/кг. Снижение концентрации  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  и  $\text{Cl}^-$  в образцах старого содового озера по сравнению с осадками действующего шламохранилища связано как с вымыванием растворимых ионов атмосферными осадками, так и с биогенными процессами, способствующими коррекции кислотности. Кроме того, следует отметить значительное снижение концентрации хлорид-ионов в образцах грунта старого содового озера с глубины 5 и 10 см по сравнению с поверхностью.

##### *Учет численности бактерий с различной гидролитической активностью*

Определено количество жизнеспособных бактерий при высеве на среды с крахмалом, твином, целлюлозой и пептоном в качестве источников углерода (рис. 3). Образцы с территории старого содового озера характеризовались высоким содержанием микроорганизмов, обладающих амилитической, целлюлолитической, протеолитической и липолитической активностью, максимальным на глубине около 5 см ( $3,31 \cdot 10^9$  КОЕ/г амилитиков,  $2,63 \cdot 10^9$  КОЕ/г протеолитиков,  $1,40 \cdot 10^9$  КОЕ/г липолитиков,  $1,27 \cdot 10^9$  КОЕ/г целлюлолитиков). Вероятно, такая локализация бактерий-гидролитиков связана с расположением зоны наибольшего поступления метаболитов с экссудатом корней растений, а также накоплением биогенных органических остатков.

Таблица 1

Элементный состав образцов старого содового озера и шламохранилища (мг/кг)

Образец	Ф	Mn	Na	K	Mg	Cu	Zn	Pb	Cd	Ni	Fe	Ca
1-1	в	1,12	293,83	51,65	222,15	0,19	0,48	3,57	0,02	0,35	15,69	—
	п	66,55	2880,56	90,53	6153,68	0,68	1,95	29,53	0,19	0,42	122,18	378171,22
	к	91,50	2980,06	153,29	9609,87	5,63	14,99	60,14	0,38	5,81	2034,30	305646,77
1-2	в	0,30	106,37	55,38	77,00	0,20	0,24	0,41	0	0,08	6,12	—
	п	46,55	2776,13	70,52	7096,00	0,70	2,08	27,04	0,09	3,25	173,25	320613,67
	к	93,09	2851,61	129,28	10419,19	5,63	5,63	53,38	0,25	7,46	2244,00	289734,54
1-3	в	0,39	73,09	40,91	69,46	0,13	0,46	0,46	0,04	0	7,21	—
	п	73,24	2629,41	1686,90	5136,49	1,13	3,25	29,58	0,26	2,43	61,12	280376,59
	к	97,43	2346,08	186,70	7846,54	5,35	20,37	60,48	0,41	7,52	1615,73	305053,00
2-1	в	0,03	1242,03	98,65	74,63	0,04	0,10	0,57	0,01	0	0,50	—
	п	8,40	1224,31	103,07	455,57	0,22	1,78	11,36	0,08	0	50,52	115683,51
	к	12,06	1126,21	117,79	616,98	1,23	7,94	19,11	0,07	2,07	1145,65	54402,96
2-2	в	0,03	458,61	58,06	6,31	0,02	0,02	0,33	0	0	0,10	—
	п	1,84	851,85	33,10	188,20	0,10	0,88	4,00	0,01	0	9,56	474072,12
	к	1,91	914,09	42,03	259,28	0,21	4,46	7,37	0,02	0,37	33,50	269499,10
2-3		0,02	5918,77	1981,46	0,16	0,02	0,01	0,38	0	0	0,02	20751,69

Примечание. Ф — формы металлов: в — водорастворимые; п — подвижные; к — кислоторастворимые, «<» — не определено. Образцы 1-1, 1-2, 1-3 отобраны с территории осушенного содового озера с глубины 5 и 10 см и поверхности соответственно; 2-1, 2-2, 2-3 — техногенные поверхностные образования, донные отложения и вода соответственно, отобраны с территории действующего шламохранилища.

Таблица 2

Минерализация и содержание анионов в образцах старого содового озера и шламохранилища

Образец	Влажность, %	Содержание, мг/кг					
		Минерализация, водная вытяжка	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Cl <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
1-1	41,6	3834	<0,6	2172,6	58,9	54,8	697,3
1-2	42,0	3160	103,4	2187,6	56,6	65,5	111,7
1-3	41,5	17212	<0,6	1459,8	150,4	9228,7	534,7
2-1	8,5	14095	<0,6	733,0	612,9	7874,9	<3
2-2	50,2	98233	1566,3	979,9	3823,3	59550,2	<3
2-3	24,4	14273	<0,6	1607,4	175,5	7237,9	548,1

Примечание. Образцы 1-1, 1-2, 1-3 отобраны с территории осушенного содового озера с глубины 5 и 10 см и поверхности соответственно; 2-1, 2-2 и 2-3 — техногенные поверхностные образования, донные отложения и вода соответственно, отобраны с территории действующего шламохранилища.

Ожидается, что более экстремальная среда будет характеризоваться меньшей численностью микроорганизмов, способных выживать и расти в таких сложных условиях. В осадке шламохранилища (рН 11) обнаружено незначительное количество микроорганизмов, утилизирующих крахмал, целлюлозу и пептон ( $4,4 \cdot 10^4$ ,  $3,0 \cdot 10^4$  и  $2,63 \cdot 10^4$  КОЕ/г соответственно). Однако в образцах прибрежной зоны, содержащих ризосферу растений (рН 8), количество микроорганизмов, утилизирующих крахмал, полисахариды, твин-80 и пептон, повышалось до  $8,4 \cdot 10^8$  КОЕ/г, что, очевидно, связано как с выделением биополимеров корнями растений, так и с менее экстремальными значениями рН. Также наблюдалось увеличение количества бактерий, обладающих липолитической активностью (до  $5,7 \cdot 10^9$  КОЕ/г). Последнее, вероятно, обусловлено применением поверхностно-активных веществ в технологии содового производства и их присутствием в сточных водах ОАО «Сода». Таким образом, функциональное разнообразие микроорганизмов в исследуемых техногенных микробиоценозах соответствует сформировавшемуся распределению органических субстратов.

Следует отметить, что микробиоценозы содовых шламохранилищ недостаточно изучены.

Имеются лишь единичные данные: так, исследование содового шламонакопителя в Польше показало, что общее количество бактерий в подобной среде составило  $10^6$ – $10^8$  КОЕ/г [16].

**Метагеномный анализ микробного сообщества содового шламохранилища**

На основании сравнительного метагеномного анализа было показано, что в образцах доминируют представители филумов *Proteobacteria* и *Firmicutes* (рис. 4). В воде и техногенных поверхностных образованиях содового шламохранилища преобладали представители филума *Firmicutes*, тогда как в осадках соды и в объединенном образце грунта старого осушенного содового озера превалировали протеобактерии. В образце, взятом с глубины 10 см из грунта осушенных территорий, преобладали *Firmicutes* и *Acidobacteria*, а количество протеобактерий и актинобактерий было сопоставимо.

Филогенетическое разнообразие микробиоценоза грунта старой карты содового шламонакопителя было более выражено по сравнению с образцами осадков, воды и поверхностных техногенных образований вблизи действующего содового шламохранилища. В микробиоценозе объединенного образца грунта осушенного содового озера преобладали семейства

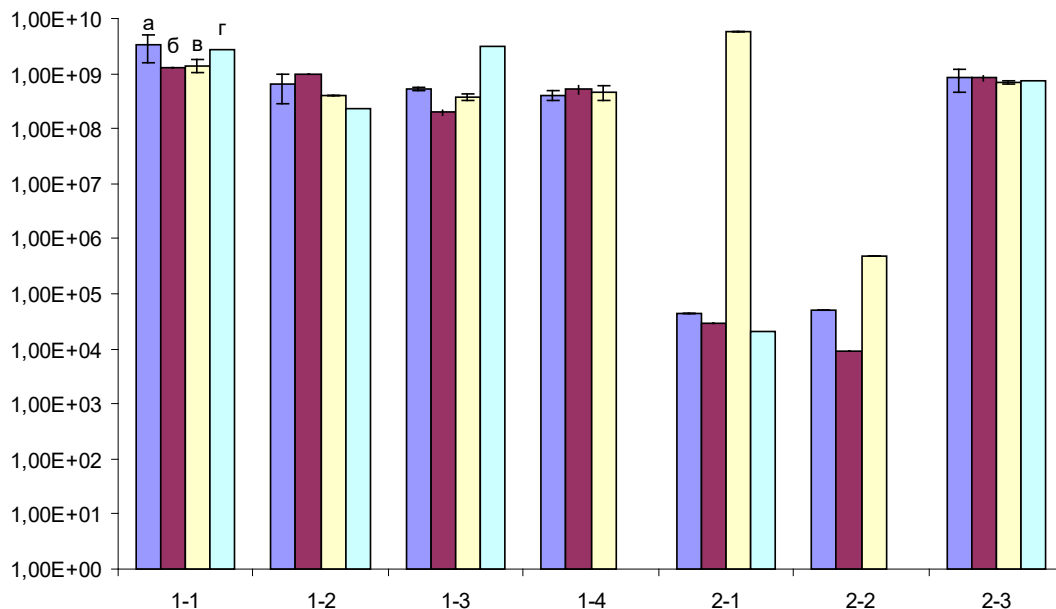


Рис. 3. Количество КОЕ/г бактерий на среде с крахмалом (а), целлюлозой (б), твин-80 (в), пептоном (г). Образцы 1-1, 1-2, 1-3, 1-4 отобраны с территории осушенного содового озера с глубины 5 см и 10 см, поверхности и объединенная проба соответственно; 2-1, 2-2, 2-3 — техногенные поверхностные образования, донные отложения и вода соответственно, отобраны с территории действующего шламохранилища

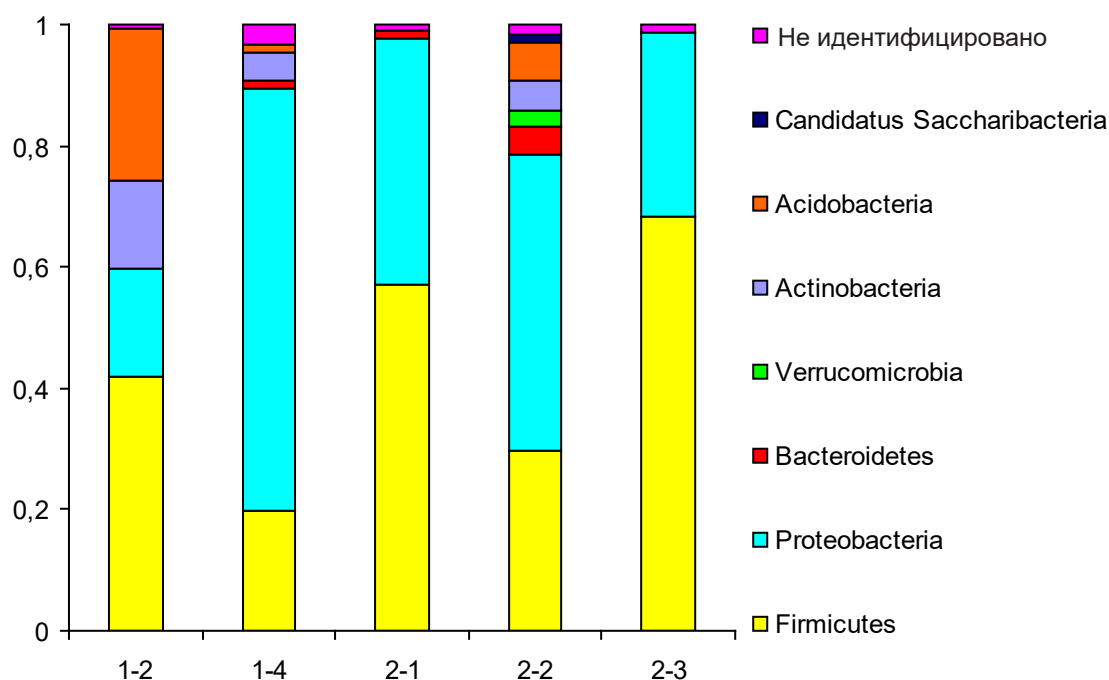


Рис. 4. Соотношение филумов домена *Bacteria* в образцах старого осушенного и действующего содового шламохранилища. Образцы 1-2, 1-4 отобраны с территории осушенного содового озера с глубины 10 см и объединенная проба соответственно; 2-1, 2-2, 2-3 — техногенные поверхностные образования, донные отложения и вода соответственно, отобраны с территории действующего шламохранилища

*Moraxellaceae* и *Staphylococcaceae* (20–23 %), а также *Pseudomonadaceae* и *Burkholderiaceae* (11–13 %), тогда как на глубине 10 см в большей степени были представлены семейства *Streptococcaceae* и *Cellulomonadaceae* (рис. 5). Бактерии семейства *Cellulomonadaceae* являются ассоциативными микроорганизмами растительных симбиозов, и их появление связано с восстановлением растительного покрова на этих территориях. В воде действующего шламонакопителя были обнаружены представители трех семейств: *Staphylococcaceae* (65 %), *Moraxellaceae* (30 %) и *Lachnospiraceae* (2 %). В осадках соды и грунте прибрежной части стафилококки и моракселлы также преобладали, и филогенетическое разнообразие микроорганизмов увеличивалось по сравнению с водой.

Проведен множественный регрессионный анализ зависимости количества прочтений нуклеотидных последовательностей гена 16S рДНК отдельных филумов от концентрации металлов в образцах. Обнаружена высокая положительная корреляционная связь содержания представителей филума *Firmicutes* с концентрацией Ca, *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia*,

*Candidatus Saccharibacteria* — с концентрацией Na, *Actinobacteria* и *Acidobacteria* — с концентрацией Mg. Однако высокая положительная корреляционная связь была достоверна только для *Bacteroidetes* ( $p = 0,02$ ), что можно объяснить широкой распространенностью галофильности среди представителей этого филума.

По ГОСТ 17.4.1.0283 к первому классу опасности относятся высокотоксичные Zn, Pb, Cd, ко второму (умеренно опасным веществам) — Cu и Ni, к третьему классу опасности — Mn. Обнаружена высокая корреляция содержания актинобактерий и ацидобактерий с концентрацией металлов второго класса опасности, средняя корреляционная связь — с концентрацией высокотоксичных металлов: Zn (*Firmicutes*, *Proteobacteria*), Cd (*Firmicutes*), Pb (*Actinobacteria*). Актинобактерии, содержание которых коррелирует с концентрацией металлов первого и второго классов опасности, известны своими биodeградативными способностями и устойчивостью к тяжелым металлам. Большинство филогенетических групп, относящихся к филуму *Firmicutes*, обладают грамположительным морфотипом, что также обеспечивает

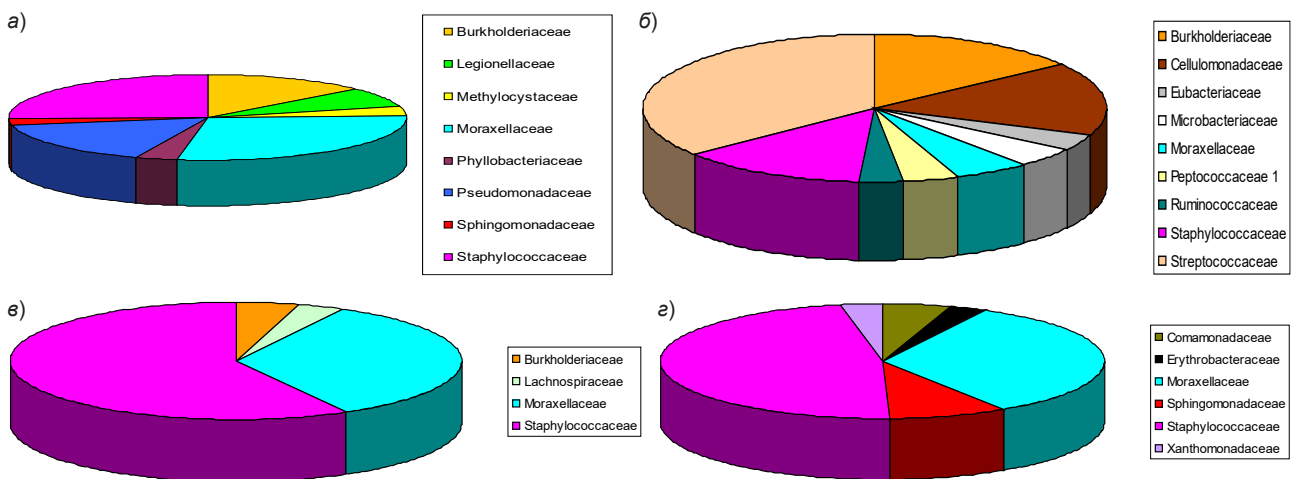


Рис. 5. Соотношение семейств домена *Bacteria* в объединенной пробе (а) и на глубине 10 см (б) старого осушенного содового озера и в техногенных поверхностных образованиях (в) и донных осадках (а) действующего шламохранилища

их толерантность к ряду ксенобиотиков и токсиантов, а также к тяжелым металлам.

При восстановлении земель, занятых содовыми шламохранилищами, происходит ряд процессов, связанных с прекращением эксплуатации и осушением. При этом увеличивается концентрация солей на поверхности, но в то же время снижается рН с экстремально высоких (11–12) до слабощелочных (8–8,5) значений. Появление растительного покрова на осушенных территориях коррелирует с изменением микробиома: на глубине 10 см снижается доля протеобактерий, но увеличивается доля ацидобактерий и актинобактерий, что может быть связано с приближением рН техногенных поверхностных образований к нейтральным значениям и появлением микроокружения, создаваемого ризосферой растений. На глубине 10 см изменяется и состав семейств домена *Bacteria*: значительно снижается доля семейства *Moraxellaceae* и *Staphylococcaceae*, но появляются представители семейства *Streptococcaceae*, которое становится доминирующим. В осадке содового шламохранилища, представляющим собой главным образом гидрокарбонаты кальция со значительной долей хлорид-ионов, доминируют семейства *Moraxellaceae* и *Staphylococcaceae*, за которыми следуют семейства *Sphingomonadaceae* и *Comamonadaceae*.

### Выводы

Таким образом, наблюдаются изменения в составе микробиома при восстановлении осушенных территорий старой карты содового шламо-

накопителя как по сравнению с действующим шламохранилищем, так и в зависимости от глубины отбора проб. Индикатор восстановления среды, подвергнутой длительному воздействию экстремально высоких рН, — появление представителей семейств *Streptococcaceae* и *Cellulomonadaceae* домена *Bacteria* в подповерхностных слоях грунта, что связано с приближением рН к нейтральным значениям и постепенным восстановлением растительного покрова. При этом концентрации солей в таких средах остаются в пределах высоких значений. Обнаруженные изменения микробного сообщества, связанные со сменой состава техногенного образования, имеют закономерный систематический характер и могут быть использованы в качестве индикаторов восстановления среды.

### Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90103.

### Литература

1. Абидуева, Е. Ю., Базаров, С. М., Батоболотова, Б. Б. и Бурюхаев, С. П. (2015). Химия донных осадков и разнообразии микробного сообщества соленого озера Борзинское (Забайкалье). Вестник Бурятского государственного университета, (3), сс. 51–52.
2. Блинов, С. М., Максимович, Н. Г., Найданова, Н. Ф., Шлыков, В. Г. и Потапов, С. С. (2003). Минералогические основы утилизации отходов ОАО «Березниковский содовый завод». Минералогия техногенеза, Т. 4, сс. 51–55.
3. Волкова, О. Н. (2016). Экологические проблемы утилизации отходов на шламонакопителе «Белое



море» завода «Капролактан» ОАО «Сибур-нефтехим», г. Дзержинск Нижегородской области. Вестник Мининского университета, № 1–1, сс. 30.

4. Дмитриева, О. М. и Бархутова, Д. Д. (2017). Особенности состава органического вещества микробных матов щелочных водных экосистем Байкальского региона. Современные проблемы науки и образования, № 3. [online] Доступно по ссылке: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26534> [Дата обращения: 01.10.2019].

5. Калинина, Е. В. и Рудакова, Л. В. (2018). Снижение токсичных свойств шламов содового производства с последующей их утилизацией. Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов, Т. 329, № 6, сс. 85–96.

6. Кашкак, Е. С., Гайсин, В. А., Дагурова, О. П., Брянцева, И. А. и Данилова, Э. В. (2016). Формирование и функционирование микробных матов минерального источника Хойто-Гол (Восточный Саян). Известия Самарского научного центра РАН, Т. 18, № 2-2, сс. 397–402.

7. Крепышева, И. В., Рудакова, Л. В. и Козлов, С. Г. (2015). Физико-химические и токсикологические свойства шлама содового производства. Горный информационно-аналитический бюллетень, № 1, сс. 335–342.

8. Максимова, Ю. Г., Бурлуцкая, Е. Ю. и Максимов, А. Ю. (2019). Бактериальные сообщества активного ила очистных сооружений г. Перми (Россия). Вода и экология: проблемы и решения, № 1 (77), сс. 64–74. DOI: 10.23968/2305-3488.2019.24.1.64-74.

9. Самутин, Н. М., Вайсман, Я. И., Рудакова, Л. В., Калинина, Е. В., Глушанкова, И. С. и Батракова, Г. М. (2013). Санитарно-гигиеническая оценка отходов содового производства. Гигиена и санитария, Т. 92, № 2, сс. 30–33.

10. Шагов, А. А., Кутырёв, А. С. и Бадердинов, Р. Н. (2013). Некоторые пути утилизации отходов производства соды. Башкирский экологический вестник, № 3-4 (36-37), сс. 8–16.

11. Эрдынеева, Е. Б., Раднагуруева, А. А., Белькова, Н. Л., Намсараев, З. Б. и Лаврентьева, Е. В. (2018). Алкалогаллофильные бактерии семейства *Bacillaceae* в озерах пустыни Бадаин Жаран (Китай). Вавиловский журнал генетики и селекции, Т. 22, № 3, сс. 370–378.

12. Canfora, L., Bacci, G., Pinzari, F., Lo Papa, G., Dazzi, C. and Benedetti, A. (2014). Salinity and bacterial diversity: to what extent does the concentration of salt affect the bacterial community in a saline soil? *PLoS ONE*, 9 (9): e106662. DOI: 10.1371/journal.pone.0106662.

13. Foti, M. J., Sorokin, D. Yu., Zacharova, E. E., Pimenov, N. V., Kuenen, J. G. and Muyzer, G. (2008). Bacterial diversity and activity along a salinity gradient in soda lakes of the Kulunda Steppe (Altai, Russia). *Extremophiles*, Vol. 12, Issue 1, pp. 133–145. DOI: 10.1007/s00792-007-0117-7.

14. Grant, W. D. and Sorokin, D. Yu. (2011). Distribution and diversity of soda lake alkaliphiles. In: Horikoshi, K. (ed.) *Extremophiles Handbook*. Tokyo: Springer, pp. 27–54.

15. Ibrahim, A. S. S., Al-Salamah, A. A., Elbadawi, Y. B., El-Tayeb, M. A. and Ibrahim, S. S. S. (2015). Production of extracellular alkaline protease by new halotolerant alkaliphilic *Bacillus* sp. NPST-AK15 isolated from hyper saline soda lakes. *Electronic Journal of Biotechnology*, Vol. 18, Issue 3, pp. 236–243. DOI: 10.1016/j.ejbt.2015.04.001.

16. Kalwasińska, A., Felföldi, T., Szabó, A. J., Deja-Sikora, E., Kosobucki, P. and Walczak, M. (2017). Microbial communities associated with the anthropogenic, highly alkaline environment of a saline soda lime. *Antonie van Leeuwenhoek*, Vol. 110, Issue 7, pp. 945–962. DOI: 10.1007/s10482-017-0866-y.

17. Kevbrin, V. V. (2019). Isolation and cultivation of alkaliphiles. In: *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Berlin, Heidelberg: Springer, pp. 1–32. DOI: 10.1007/10\_2018\_84.

18. Liu, S., Ren, H., Shen, L., Lou, L., Tian, G., Zheng, P. and Hu, B. (2015). pH levels drive bacterial community structure in sediments of the Qiantang River as determined by 454 pyrosequencing. *Frontiers in Microbiology*, Vol. 6: 285. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00285.

19. Maturrano, L., Santos, F., Rossello-Mora, R. and Anton, J. (2006). Microbial diversity in Maras salterns, a hypersaline environment in the Peruvian Andes. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 72, Issue 6, pp. 3887–3895. DOI: 10.1128/AEM.02214-05.

20. Sharma, K. M., Kumar, R., Panwar, S. and Kumar, A. (2017). Microbial alkaline proteases: Optimization of production parameters and their properties. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, Vol. 15, Issue 1, pp. 115–126. DOI: 10.1016/j.jgeb.2017.02.001.

21. Sorokin, D. Y., Banciu, H. L. and Muyzer, G. (2015). Functional microbiology of soda lakes. *Current Opinion in Microbiology*, Vol. 25, pp. 88–96. DOI: 10.1016/j.mib.2015.05.004.

22. Tourova, T. P., Sorokin, D. Yu., Grechnikova, M. A. and Kuznetsov, B. B. (2014). Phylogenetic diversity of bacteria in soda lake stratified sediments. *Microbiology (Mikrobiologiya)*, Vol. 83, Issue 6, pp. 869–879. DOI: 10.1134/S0026261714060186.

23. Vanitha, N., Rajan, S. and Murugesan, A. G. (2014). Optimization and production of alkaline protease enzyme from *Bacillus subtilis* 168 isolated from food industry waste. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, Vol. 3, No. 6, pp. 36–44.

24. Wu, Y., Zeng, J., Zhu, Q., Zhang, Z. and Lin, X. (2017). pH is the primary determinant of the bacterial community structure in agricultural soils impacted by polycyclic aromatic hydrocarbon pollution. *Scientific Reports*, 7: 40093. DOI: 10.1038/srep40093.

25. Zaitseva, S. V., Abidueva, E. Yu., Namsaraev, B. B., Wang, L. and Wu, L. (2014). Microbial community of the bottom sediments of the brackish lake Beloe (Transbaikal region). *Microbiology (Mikrobiologiya)*, Vol. 83, Issue 6, pp. 861–868. DOI: 10.1134/S0026261714060216.

26. Zhang, L., Gao, G., Tang, X., Shao, K., Bayartu, S., Dai, J. (2013). Bacterial community changes along a salinity gradient in a Chinese wetland. *Canadian Journal of Microbiology*, Vol. 59, No. 9, pp. 611–619. DOI: 10.1139/cjm-2013-0212.

## References

1. Abidueva, E. Yu., Bazarov, S. M., Batobolotova, B. B. and Buryukhaev, S. P. (2015). Chemistry of sediments and diversity of microbial communities in the salt lake Borzinskoe (Transbaikalie). *The Buryat State University Bulletin*, No. 3, pp. 51–52.

2. Blinov, S. M., Maximovich, N. G., Naydanova, N. F., Shlykov, V. G. and Potapov, S. S. (2003). Mineralogical bases of use of a waste of a Berezniki soda's factory. *Mineralogiya Tekhnogeneza*, Vol. 4, pp. 51–55.
3. Volkova, O. N. (2016). Ecological problems of the utilization of waste in tailings pond "White sea" plant Kaprolaktam JSC "Sibur-Neftekhim" [Dzerzhinsk Nizhny Novgorod region]. *Vestnik of Minin University*, No. 1–1, pp. 30.
4. Dmitrieva, O. M. and Barkhutova, D. D. (2017). Characteristics of organic matter composition in microbial mats of alkaline water ecosystems of the Baikal region. *Modern Problems of Science and Education*, No. 3. [online] Available at: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26534> [Date accessed 01.10.2019].
5. Kalinina, E. V. and Rudakova, L. V. (2018). Decrease of toxic properties of soda production sludge and its utilization. *Bulletin of the Tomsk Polytechnic University. Geo Assets Engineering*, Vol. 329, No. 6, pp. 85–96.
6. Kashkak, E. S., Gaysin, V. A., Dagurova, O. P., Bryantseva, I. A. and Danilova, E. V. (2016). Formation and functioning of microbial mats in mineral spring Huito-Gol (Eastern Sayan). *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, Vol. 18, No. 2-2, pp. 397–402.
7. Krepyshcheva, I. V., Rudakova, L. V. and Kozlov, S. G. (2015). Physicochemical and toxicological properties of slime at soda ash production. *Mining Informational and Analytical Bulletin*, No. 1, pp. 335–342.
8. Maksimova, Yu. G., Burlutskaya, E. Yu. and Maksimov, A. Yu. (2019). Bacterial communities of activated sludge at treatment plants in Perm (Russia). *Water and Ecology*, No. 1 (77), pp. 64–74. DOI: 10.23968/2305-3488.2019.24.1.64-74.
9. Samutin, N. M., Vaisman, Ya. I., Rudakova, L. V., Kalinina, E. V., Glushankova, I. S. and Batrakova, G. M. (2013). Sanitary and hygienic assessment of waste of soda production. *Hygiene & Sanitation*, Vol. 92, No. 2, pp. 30–33.
10. Shatov, A. A., Kutryyov, A. S. and Badertdinov, R. N. (2013). Some ways of utilization soda production wastes. *Bashkirsky Ekologichesky Vestnik*, No. 3-4 (36-37), pp. 8–16.
11. Erdyneeva, E. B., Radnagurueva, A. A., Belkova, N. L., Namsaraev, Z. B. and Lavrentieva, E. V. (2018). Alkalihalophilic bacteria of the family Bacillaceae in the lakes of the Badain Jaran desert (China). *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, Vol. 22, No. 3, pp. 370–378.
12. Canfora, L., Bacci, G., Pinzari, F., Lo Papa, G., Dazzi, C. and Benedetti, A. (2014). Salinity and bacterial diversity: to what extent does the concentration of salt affect the bacterial community in a saline soil? *PLoS ONE*, 9 (9): e106662. DOI: 10.1371/journal.pone.0106662.
13. Foti, M. J., Sorokin, D. Yu., Zacharova, E. E., Pimenov, N. V., Kuenen, J. G. and Muyzer, G. (2008). Bacterial diversity and activity along a salinity gradient in soda lakes of the Kulunda Steppe (Altai, Russia). *Extremophiles*, Vol. 12, Issue 1, pp. 133–145. DOI: 10.1007/s00792-007-0117-7.
14. Grant, W. D. and Sorokin, D. Yu. (2011). Distribution and diversity of soda lake alkaliphiles. In: Horikoshi, K. (ed.) *Extremophiles Handbook*. Tokyo: Springer, pp. 27–54.
15. Ibrahim, A. S. S., Al-Salamah, A. A., Elbadawi, Y. B., El-Tayeb, M. A. and Ibrahim, S. S. S. (2015). Production of extracellular alkaline protease by new halotolerant alkaliphilic *Bacillus* sp. NPST-AK15 isolated from hyper saline soda lakes. *Electronic Journal of Biotechnology*, Vol. 18, Issue 3, pp. 236–243. DOI: 10.1016/j.ejbt.2015.04.001.
16. Kalwasińska, A., Felföldi, T., Szabó, A. J., Deja-Sikora, E., Kosobucki, P. and Walczak, M. (2017). Microbial communities associated with the anthropogenic, highly alkaline environment of a saline soda lime. *Antonie van Leeuwenhoek*, Vol. 110, Issue 7, pp. 945–962. DOI: 10.1007/s10482-017-0866-y.
17. Kevbrin, V. V. (2019). Isolation and cultivation of alkaliphiles. In: *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Berlin, Heidelberg: Springer, pp. 1–32. DOI: 10.1007/10\_2018\_84.
18. Liu, S., Ren, H., Shen, L., Lou, L., Tian, G., Zheng, P. and Hu, B. (2015). pH levels drive bacterial community structure in sediments of the Qiantang River as determined by 454 pyrosequencing. *Frontiers in Microbiology*, Vol. 6: 285. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00285.
19. Maturrano, L., Santos, F., Rossello-Mora, R. and Anton, J. (2006). Microbial diversity in Maras salterns, a hypersaline environment in the Peruvian Andes. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 72, Issue 6, pp. 3887–3895. DOI: 10.1128/AEM.02214-05.
20. Sharma, K. M., Kumar, R., Panwar, S. and Kumar, A. (2017). Microbial alkaline proteases: Optimization of production parameters and their properties. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, Vol. 15, Issue 1, pp. 115–126. DOI: 10.1016/j.jgeb.2017.02.001.
21. Sorokin, D. Y., Banciu, H. L. and Muyzer, G. (2015). Functional microbiology of soda lakes. *Current Opinion in Microbiology*, Vol. 25, pp. 88–96. DOI: 10.1016/j.mib.2015.05.004.
22. Tourova, T. P., Sorokin, D. Yu., Grechnikova, M. A. and Kuznetsov, B. B. (2014). Phylogenetic diversity of bacteria in soda lake stratified sediments. *Microbiology (Mikrobiologiya)*, Vol. 83, Issue 6, pp. 869–879. DOI: 10.1134/S0026261714060186.
23. Vanitha, N., Rajan, S. and Murugesan, A. G. (2014). Optimization and production of alkaline protease enzyme from *Bacillus subtilis* 168 isolated from food industry waste. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, Vol. 3, No. 6, pp. 36–44.
24. Wu, Y., Zeng, J., Zhu, Q., Zhang, Z. and Lin, X. (2017). pH is the primary determinant of the bacterial community structure in agricultural soils impacted by polycyclic aromatic hydrocarbon pollution. *Scientific Reports*, 7: 40093. DOI: 10.1038/srep40093.
25. Zaitseva, S. V., Abidueva, E. Yu., Namsaraev, B. B., Wang, L. and Wu, L. (2014). Microbial community of the bottom sediments of the brackish lake Beloe (Transbaikal region). *Microbiology (Mikrobiologiya)*, Vol. 83, Issue. 6, pp. 861–868. DOI: 10.1134/S0026261714060216.
26. Zhang, L., Gao, G., Tang, X., Shao, K., Bayartu, S., Dai, J. (2013). Bacterial community changes along a salinity gradient in a Chinese wetland. *Canadian Journal of Microbiology*, Vol. 59, No. 9, pp. 611–619. DOI: 10.1139/cjm-2013-0212.

#### Авторы

**Шилова Анна Владимировна**, аспирант

Институт экологии и генетики микроорганизмов  
УрО РАН – филиал ФГБУН Пермского федерального  
исследовательского центра УрО РАН, г. Пермь, Россия

E-mail: A.Shilova-IEGM@yandex.ru

**Максимов Александр Юрьевич**, канд. биол. наук,  
доцент

Институт экологии и генетики микроорганизмов  
УрО РАН – филиал ФГБУН Пермского федерального исследова-  
вательского центра УрО РАН, г. Пермь, Россия

Пермский государственный национальный исследова-  
тельский университет

E-mail: almaks1@mail.ru

**Максимова Юлия Геннадьевна**, д-р биол. наук

Институт экологии и генетики микроорганизмов  
УрО РАН – филиал ФГБУН Пермского федерального исследова-  
вательского центра УрО РАН

Пермский государственный национальный исследова-  
тельский университет

E-mail: yul\_max@mail.ru

#### **Authors**

**Shilova Anna Vladimirovna**, post-graduate student  
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural  
Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russia  
E-mail: A.Shilova-IEGM@yandex.ru

**Maksimov Aleksandr Yur'evich**, PhD in Biology,  
Associate Professor

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural  
Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russia; Perm  
State University, Perm, Russia

E-mail: almaks1@mail.ru

**Maksimova Yuliya Gennad'evna**, Dr. of Biology  
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural  
Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russia; Perm  
State University, Perm, Russia

E-mail: yul\_max@mail.ru