

Оценка состояния загрязнённых нефтью экосистем Европейской Субарктики: мультидисциплинарный подход

© 2020. Е. Н. Мелехина¹, доцент, к. б. н., с. н. с.,
В. А. Канев¹, к. б. н., н. с., М. Ю. Маркарова^{1,2}, к. б. н., в. н. с.,
С. М. Надежкин², профессор РАН, д. б. н., зам. директора,
А. Б. Новаковский¹, к. б. н., н. с., А. А. Таскаева¹, к. б. н., с. н. с.,
Д. В. Тарабукин¹, к. б. н., н. с.,
И. О. Велегжанинов¹, к. б. н., с. н. с., Е. Е. Расова¹, ст. лаборант,

¹Институт биологии ФИЦ «Коми научный центр»

Уральского отделения РАН,
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,

²Федеральный научный центр овощеводства,
143072, Россия, Московская обл., Одинцовский р-н,
пос. ВНИИССОК, ул. Селекционная, д. 14,
e-mail: melekhina@ib.komisc.ru

В статье даётся оценка закономерностей восстановления загрязнённых нефтью экосистем на основе использования различных методов почвоведения, почвенной энзимологии, микробиологии, метагеномного анализа, почвенной зоологии и геоботаники.

Проведён анализ динамики растительности на участках опытной рекультивации за 17-летний период восстановления. Предложен оригинальный подход в биодиагностике экосистем с нефтяным загрязнением – применение концепции жизненных стратегий растений Раменского-Грайма. Показано, что использование данного метода позволяет дать интегральную оценку состояния растительности при восстановительных сукцессиях после разливов нефти и делать выводы об эффективности методов рекультивации.

Впервые предпринята попытка использования данных метагеномного анализа в диагностике состояния почв с нефтяным загрязнением в условиях Субарктики. Выявлена индикаторная значимость филума ацидобактерии (царство Бактерии) и отдела аскомицеты (царство Грибы). В качестве индикаторных таксонов представлены трофические группы почвенных микроорганизмов и почвенные беспозвоночные. При модельной рекультивации *ex situ* болотной торфяной почвы показана информативность целлюлазной и уреазной активности в условиях нефтяного загрязнения.

Ключевые слова: нефтяное загрязнение, рекультивация, индикаторные таксоны, индикаторные параметры, фитоценоз, микробоценоз, зооценоз, метагеномный анализ.

Assessment of the state of oil-polluted ecosystems of European Subarctic: a multidisciplinary approach

© 2020. E. N. Melekhina¹ ORCID: 0000-0002-3738-6520, V. A. Kanev¹ ORCID: 0000-0002-6284-0385,
M. Yu. Markarova^{1,2} ORCID: 0000-0002-7951-2222, S. M. Nadezhkin² ORCID: 0000-0001-5786-3454,
A. B. Nowakowski¹ ORCID: 0000-0003-4105-7436, A. A. Taskaeva¹ ORCID: 0000-0002-4519-8458,
D. V. Tarabukin¹ ORCID: 0000-0001-8572-4902, I. O. Velegzhaninov¹ ORCID: 0000-0002-4715-4053,
E. E. Rasova¹ ORCID: 0000-0002-2092-5954

¹Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch
of the Russian Academy of Sciences,

28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,

²Federal Scientific Centre for Vegetable Production,
14, Selektionnaya St., Poselok VNISSOK, Odintsovo,

Moscow region, Russia, 143072,
e-mail: melekhina@ib.komisc.ru

The article presents an assessment of the patterns of recovery of oil-polluted ecosystems based on the use of soil science methods, soil enzymology, microbiology, metagenomic analysis, soil zoology and geobotany. The dynamics of vegetation in the experimental remediation plots for the 17-year recovery period is analyzed. An original approach to the bio-diagnostics of ecosystems with oil pollution is proposed – the application of the concept of plant life strategies by Ramensky-Grime. It is shown that the use of this method, along with the traditional geobotanical methods, allows us to give an integrated assessment of the state of vegetation during recovery successions after oil pollution.

For the first time, an attempt was made to use the data of metagenomic analysis in the diagnostics of the state of oil-polluted soils in the European Subarctic. The indicative significance of acidobacteria and ascomycetes was revealed. Trophic groups of soil microorganisms (ammonifiers, nitrifiers, oligonitrophils, oil-oxidizing microorganisms) and soil invertebrates are represented as indicator taxa. Taxonomic groups of microarthropods acting as biomarkers of succession stages were presented: larvae of Diptera and mesostigmatic mites at the first stage, collembola at the second stage, and oribatid mites at the third stage. In the *ex situ* remediation model of peat soil, it was shown the informational content of cellulase and urease activity in terms of oil contamination. The complex of parameters observed characterize the state of biota in areas with oil pollution and can be recommended for determining the effectiveness of remediation methods.

Keywords: oil pollution, remediation, indicator taxa, indication parameters, phytocoenosis, microbiocoenosis, zoocoenosis, metagenomic analysis.

Добыча нефти и связанные с ней виды деятельности приводят к долговременному загрязнению природных ландшафтов [1]. Попадая в почву, загрязнители изменяют её физические и химические свойства, снижают плодородие и значительно подавляют активность биоты [2–4]. Так, осенью 1994 г. крупнейшая авария за всю историю эксплуатации нефтепроводов произошла на территории Усинского района Республики Коми. Всего, по разным оценкам, в окружающую среду попало от 14 до 150 тыс. т нефти [5]. Для восстановления нарушенных экосистем применяют различные способы ремедиации [3, 6]. Важная практическая задача – выбор методов рекультивации, оптимальных для конкретных условий северных биоценозов. Необходим поиск показателей – индикаторов эффективности методов ремедиации [7]. Цель исследований – изучение закономерностей восстановления загрязнённых нефтью экосистем и выбор комплекса параметров для оценки эффективности способов биоутилизации нефти и нефтепродуктов при аварийных разливах в условиях Европейской Субарктики.

Объекты и методы исследования

Характеристика района исследований. Опытные участки. Комплексные исследования экосистем с нефтяным загрязнением проводились в регионе промышленной добычи нефти (вблизи г. Усинска Республики Коми), на участках аварийных разливов и опытной рекультивации. Район исследований расположен в субарктической части Европейской России, в подзонах лесотундры и крайне-северной тайги [3]. Тип климата умеренно-континентальный. Среднегодовая температура составляет $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$; средняя температура января – от -18 до $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, июля – $+14\text{ }^{\circ}\text{C}$ [8].

Участок 1. Известен как участок рекультивации № 20 ($66^{\circ}37'40''$ с. ш., $57^{\circ}07'56''$ в. д., Возейское нефтяное месторождение), где в 1996 г. произошёл аварийный разлив нефти. Почвы участка – торфяно-болотные верховые (Fibric Histosols (Dystric)) [9]. К началу рекультивации, проведённой в 2002 г., содержание нефти в почве составляло от 87 до 465 мг/г [3]. Предварительно была проведена техническая рекультивация: частичное осушение, сбор нефти, фрезерование почвы. Восстановление проводилось методами агрохимической рекультивации (внесение удобрений и посев трав), а также с применением различных биопрепаратов нефтеокисляющего действия [3]. В качестве контрольной выступала площадка технической рекультивации.

Участок 2 расположен вблизи полигона-шламонакопителя (ДНС 2А), на котором около 5 лет назад произошло нарушение грунтовой обваловки и истечение из шламонакопителя нефтесодержащей жидкости. Был загрязнён елово-берёзовый лес, расположенный вблизи полигона. Одна часть загрязнённой территории была оставлена на самовосстановление, на другой части была проведена рекультивация: уборка верхнего слоя нефти, распашка и внесение минерального удобрения, без высева трав-рекультивантов. В сентябре 2018 г. проведено обследование участков рекультивации, самовосстановления, фонового (без загрязнения), а также были взяты пробы нефтешлама непосредственно из карт полигона.

Для выявления закономерностей динамики загрязнённых нефтью экосистем применяли мультидисциплинарный подход. Особенности динамики биотических компонентов экосистем: фитоценоза, микробоценоза, зооценоза изучали по оригинальной методике с точки зрения сукцессии.

Для описания фитоценозов применяли стандартные геоботанические методы. Впервые для

анализа многолетней динамики растительности на участках с нефтяным загрязнением была применена концепция жизненных стратегий растений Раменского-Грайма [10, 11].

Исследования микробиомов почв, загрязнённых нефтью или нефтепродуктами, могут иметь значение для определения эффективности различных способов ремедиации для разных типов почв и климатических условий [12, 13]. Для изучения микробиоты применяли метод метагеномного анализа. Амплификацию и секвенирование маркерных фрагментов ДНК, кодирующих 16S рРНК и ITS, осуществляли усилиями ЦКП «Геномика» СО РАН с помощью секвенатора MiSeq (Illumina, США). Выполнен метагеномный анализ 46 образцов почвы, собранных на опытном участке № 2 в двух вариантах: «самовосстановление» и «ремедиация», а также в фоновом сообществе. Было аннотировано 730469 прочтений фрагмента гена 16S рибосомальной РНК (бактерии) и 1315679 прочтений фрагмента гена ITS (грибы).

Контроль биохимической активности позволяет оценить изменения, которые происходят в почве под воздействием поллютантов [14], а также при различных методах рекультивации [15].

В условиях, приближенных к естественным, была проведена модельная рекультивация почвы, отобранной из низинного болота в окрестностях г. Сыктывкара. Болотная почва относилась к торфяной эутрофной, в том числе перегнойно-торфяной (Hemic Histosols (Eutric), Sapric Histosols (Eutric)) [9]. В эксперименте при различных вариантах рекультивации *ex situ* оценивали влияние неионогенного ПАВ (Лаурилглюкозид) и минерального удобрения Диаммофоска (NH_4^+ – 10%; всего фосфатов – 25%; калий в пересчёте на K_2O – 25%) на динамику разложения нефтепродуктов при концентрации загрязнения 5 г нефти на 100 г почвы. Доза ПАВ в вариантах составляла 10 мг, минерального удобрения – 0,5 г. Все варианты были в трёх повторностях. Параллельно оценивали биохимические показатели в качестве индикации жизнедеятельности микроорганизмов в условиях нефтяного загрязнения и биостимуляторов. Для этого измеряли уреазную и целлюлазную активности через 30, 60 и 90 сут во всех вариантах рекультивации *ex situ* [16]. Одна единица уреазной активности равнялась такому количеству ферментов в 1 г воздушно-сухой почвы, которое образует 1 мкг ионов аммония в час при действии на 3% раствор мочевины. Единица целлюлазной активности была равна количеству ферментов, которое образует 1 мкг восстанавливающих сахаров в час при

действии 1 г почвенного образца на 1% раствор карбоксиметилцеллюлозы.

Численность различных трофических групп микроорганизмов учитывали путём высева десятичных разведений почвенной суспензии на селективные питательные среды: МПА (аммонификаторы), Эшби (олигонитрофилы), Стейниера (нефтеокисляющие), Виноградского (нитрификаторы) [17]. Почвенные ферменты определяли по Хазиеву [16]. Отбор проб на почвенную микробиоту проводили в пятикратной повторности, определение численности трофических групп – в трёхкратной повторности.

Результаты и обсуждение

Фитоценоз. Динамика растительности.

При мониторинге опытного участка № 1 определены закономерные смены растительных сообществ за 17-летний период восстановления (2002–2019 гг.). На всех опытных площадках (кроме контрольной) при рекультивации были посеяны злаковые растения: тимopheевка луговая (*Phleum pratense*), райграс посевной (*Arrhenatherum elatius*), двукосточник тростниковидный (*Phalaroides arundinacea*), щучка дернистая (*Deschampsia cespitosa*), полевица тонкая (*Agrostis tenuis*), мятлик луговой (*Poa pratensis*), вейник пурпурный (*Calamagrostis purpurea*), овёс посевной (*Avena sativa*) и клевер гибридный (*Trifolium hybridum*).

На 4-й год опыта (2006 г.) фитоценозы были представлены злаково-разнотравными сообществами, с преобладанием сеяных злаков. Одновременно с посевом трав заселились различные «пионерные» растения, в основном однолетние травы – трёхрёберник непашучий (*Tripleurospermum perforatum*), бородавник обыкновенный (*Lapsana communis*), пупавка красильная (*Anthemis tinctoria*), лапчатка норвежская (*Potentilla norvegica*), звездчатка злачная (*Stellaria graminea*) и некоторые многолетние – щавель кисловатый (*Rumex acetosella*), иванчай узколистный (*Chamaenerion angustifolium*) и другие. На отдельных участках обнаружены мхи. Отмечены всходы ивы филиколистной (*Salix phylicifolia*) и берёзы пушистой (*Betula pubescens*).

Через 12 лет после рекультивации (2014 г.) происходило замещение сеяных трав многолетними луговыми и болотными видами, которые заселялись из ближайших фоновых луговых, болотных и лесных участков. Это осоки пепельносерая (*Carex cinerea*), бутылчатая (*C. rostrata*), топяная (*C. limosa*), пушица влагалищная (*Eriophorum vaginatum*), пушица рыжеватая

(*E. russeolum*), вейник лапландский (*Calamagrostis lapponica*), мятлик луговой (*Poa pratensis*), кульбаба осенняя (*Leontodon autumnalis*) и другие. Увеличилось число и проективное покрытие древесных растений – представителей рода ива: ивы филиколистной (*Salix phylicifolia*), ивы козьей (*S. caprea*), ивы лапландской (*S. lapponum*), ивы шерстистопобеговой (*S. dasyclados*), ивы сизой (*S. glauca*), а также берёзы пушистой (*Betula pubescens*). Появились ранее не отмеченные виды – лиственница сибирская (*Larix sibirica*), сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris*), ель сибирская (*Picea obovata*). На контрольном участке отмечено наличие кустарничков – черники (*Vaccinium myrtillus*), голубики (*Vaccinium uliginosum*), водяники гермафродитной (*Empetrum hermaphroditum*), что говорит о восстановлении сообщества, близкого к фоновому, однако общее проективное покрытие (ОПП) было существенно ниже, чем на других площадках рекультивации.

Через 17 лет после рекультивации (2019 г.) из сеяных трав в числе доминантов оставались двукосточник тростниковидный (*Phalaroides arundinacea*) и щучка дернистая (*Deschampsia cespitosa*). Присутствовали влаголюбивые представители семейства осоковых – пушица многоколосковая (*Eriophorum polystachion*), пушица влагалищная (*Eriophorum vaginatum*), осока бутылчатая (*Carex rostrata*). Увеличилось участие мхов (ПП до 20–30%). Кустарнички: черника (*Vaccinium myrtillus*), голубика (*Vaccinium uliginosum*), водяника гермафродитная (*Empetrum hermaphroditum*), багульник болотный (*Ledum palustre*), карликовая берёза (*Betula nana*), которые характерны для фоновых территорий (болота, торфяники, заболоченные леса), были найдены только на контрольной площадке. В целом, по данным геоботанических описаний можно заключить, что в ранние годы эксперимента на опытных площадках было много пионерных видов растений, которые через 17 лет выпали из сообществ. Увеличилось число древесных растений, а также ПП мхов.

Согласно концепции жизненных стратегий растений Раменского-Грайма, можно выделить группы растений, которые по-разному приспособлены к существованию в стрессовой ситуации [10, 11]: **R виды (рудералы)** преобладают в сообществах с повышенным уровнем нарушений, **C виды (конкуренты)** произрастают при низких уровнях стресса и нарушения, т. е. в сообществах, где максимальную роль играет конкуренция между видами, и **S виды (стресс-толеранты)** характерны для экотопов с неблагоприятными экологическими условиями. Показано, что с течением времени вследствие

выпадения из травостоя пионерных видов, являющихся типичными рудералами, снижается R компонента сообществ. Наблюдается внедрение преимущественно злаков C конкурентных и осок, имеющих CS жизненную стратегию. Отмечено внедрение типичных тундрово-болотных видов, таких как водяника гермафродитная (*Empetrum hermaphroditum*), пушица многоколосковая (*Eriophorum angustifolium*), пушица влагалищная (*E. vaginatum*), черника (*Vaccinium myrtillus*), плаун булавовидный (*Lycopodium clavatum*), имеющих стресс-толерантную стратегию. Таким образом, для всех экспериментальных участков наблюдался сдвиг в сторону увеличения балла конкурентности (C) и снижения балла рудеральности (R) (рис. 1, см. цветную вкладку). Статистически значимое увеличение доли конкурентных и снижение доли рудеральных видов может говорить о переходе сообществ от пионерного к стабильному состоянию.

Микробоценоз. Биологическая активность почвы. В условиях нефтяного загрязнения изменяется численность отдельных трофических групп почвенных микроорганизмов и активность разных групп ферментов [18, 19].

На опытном участке № 2 в период наблюдений более высокая микробиологическая активность была зарегистрирована в варианте «самовосстановление» (табл. 1). Вероятно, что после рекультивации происходило повышение микробиологической активности, которая по мере снижения концентрации нефти в почве уменьшалась и к периоду наблюдений приблизилась к фоновым значениям. На участке «самовосстановление» очищение почвы от нефти происходило гораздо медленнее, и наиболее активной стадии достигло в период наблюдений, о чём говорят высокие показатели активности каталитических ферментов, а также высокая нефтеокисляющая активность (по дегидрогеназному показателю). Нефтешлам, складированный на площадке полигона, обладал слабой микробной активностью. Можно заключить, что очищение почвы от нефти в вариантах рекультивации и самовосстановления происходило с разной интенсивностью.

Модельная рекультивация ex situ. Ферментативная активность. При модельной рекультивации ex situ уреазная активность болотной почвы оказалась чувствительна как к нефтяному загрязнению, так и режимам биостимуляции (табл. 2). Внесение в почву минеральных удобрений привело к увеличению уреазной активности уже в первые 30 сут. Внесение неионогенного ПАВ приводило к снижению уреазной активности по сравнению с контролем.

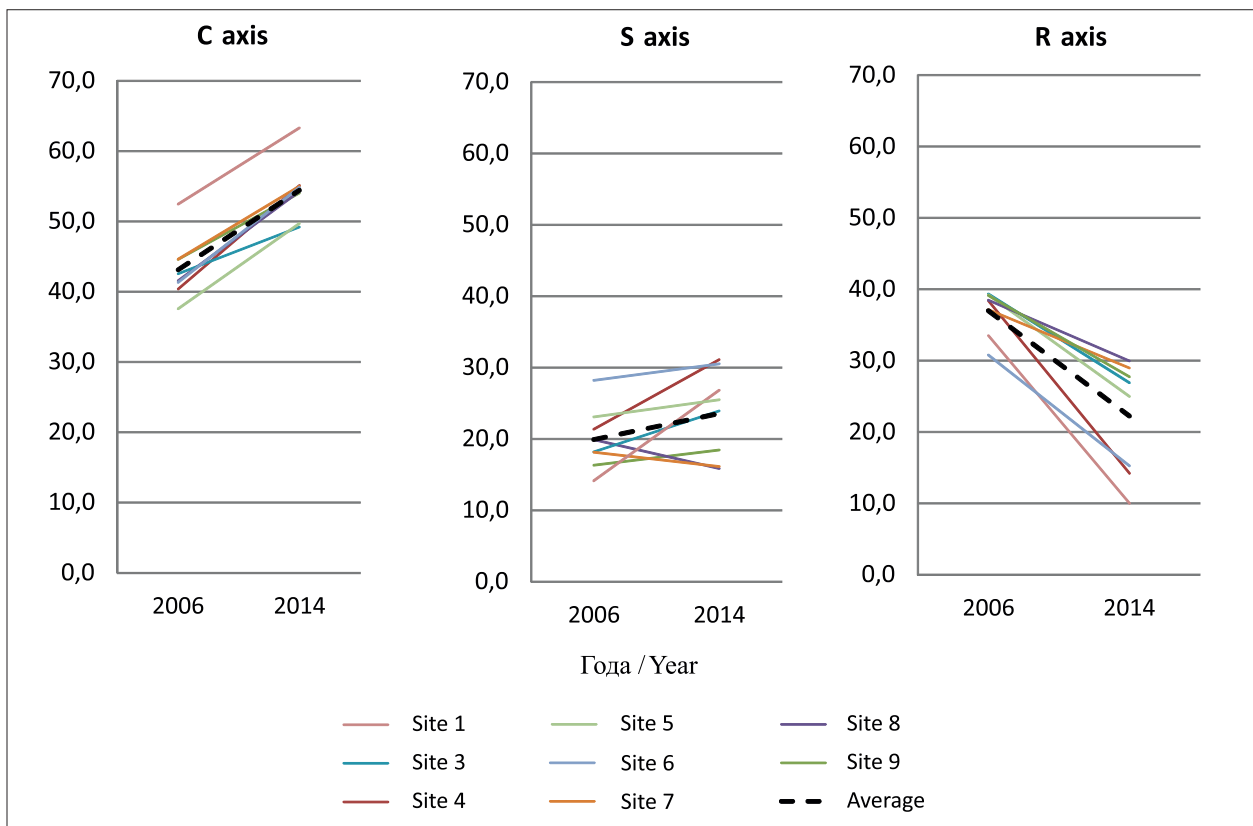


Рис. 1. Изменение средневзвешенных баллов по C, S и R осям для разных экспериментальных участков (sites). Пунктирной линией отмечены усреднённые значения
Fig. 1. Changes of the C, S and R scores for experimental sites. The dashed line indicates averaged values

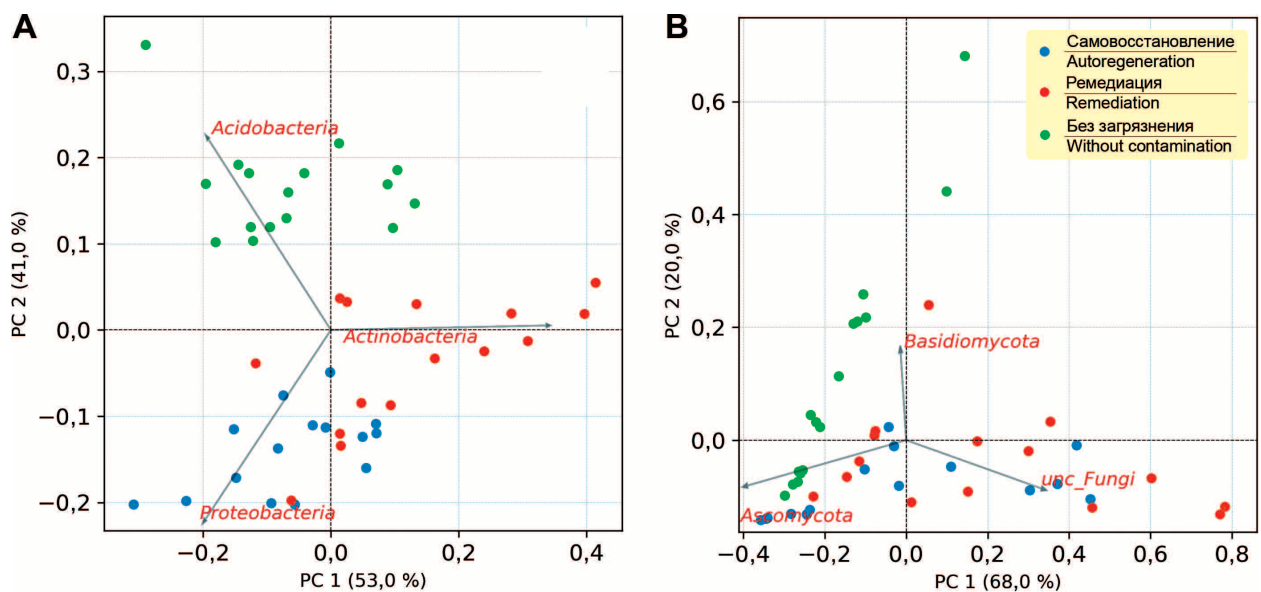


Рис. 2. Анализ результатов секвенирования почвенных метабеномов с помощью метода главных компонент. А – 16S-ампликоны (прокариоты), В – ITS-ампликоны (грибы). PC – главная компонента
Fig. 2. The metagenome sequencing data presented using the PCA. A – 16S-amplicons (procaryotes), B – ITS-amplicons (fungi). PC – principal component

Таблица 1 / Table 1

Численность трофических групп микроорганизмов и ферментативная активность почвы на опытном участке № 2 в 2018 г.
The number of trophic groups of microorganisms and the enzymatic activity of the soil in the experimental plot No. 2 in 2018

Субучасток Sub-plot	Описание пробы Sample description	Микроорганизмы (млн/г в.с.п.) Microorganisms, (mln./g a.d.s)				Ферментативная активность (ед./г а.с.п.) Enzymatic activity (units/g a.d.s.)			
		I*	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Нефтезагрязнение Oil pollution	Нефтьшлам Oil sludge	26,0± 7,0	16,5± 4,0	1,25± 0,29	0,12± 0,3	2,26± 0,5	9,54± 1,13	5,23± 1,3	2,5± 0,75
Фоновый Background plot	Торф, 0–7 см Peat, 0–7 cm	120± 30,0	310± 75,0	50,5± 12,0	0,8± 0,2	2,50± 0,6	6,5± 1,6	1,50± 0,4	6,00± 1,25
Самовосстановление Self healing	Торф, 0–7 см Peat, 0–7 cm	580± 150	900± 230	12,0± 3,0	450± 110	5,30± 1,3	15,9± 4,0	9,85± 2,5	16,3± 4,1
Рекультивация Recultivation	Торф, 0–10 см Peat, 0–10 cm	210± 50,0	400± 100	120± 30,0	160± 40	3,60± 0,9	9,78± 2,45	5,30± 1,3	19,4± 5,0

Примечание: * I – аммонификаторы; II – нитрификаторы; III – олигонитрофилы; IV – нефтеокисляющие; V – каталазная, мл KMnO₄; VI – дегидрогеназная, мг формазана; VII – липазная, мл KOH; VIII – целлюлазная активность.
Notes: * I – Ammonifiers; II – Nitrifiers; III – Oligonitrophils; IV – Oil oxidizing; V – Catalase; cm³ KMnO₄; VI – Dehydrogenase, mg formazan; VII – Lipase, cm³ KOH; VIII – Cellulase.

Таблица 2 / Table 2

Ферментативная активность в болотной почве при различных режимах стимуляции биоразложения НП
Enzymatic activity in swamp soil under various modes of TPH biodegradation stimulation

Режим стимуляции Stimulation mode	Время, сут / Time, days		
	30	60	90
Уреазная активность, ед./г почвы / Urease activity, units/g of soil			
Без нефти (контроль) / Oil free (control)	1100±120	1230±100	1050±130
Без добавок / Without additives	990±110	2000±160	1500±130
Лаурилглюкозид / Lauryl glucoside	568±70	914±80	570±80
Диаммофоска* / Diammofoska*	2150±150	2100±140	2100±150
Диаммофоска + Лаурилглюкозид / Diammofoska + Lauryl glucoside	706±70	1050±80	1130±120
Целлюлазная активность, ед./г почвы / Cellulase activity, units/g of soil			
Без нефти (контроль) / Oil free (control)	46±5	42±5	48±5
Без добавок / Without additives	54±5	41±4	61±5
Лаурилглюкозид / Lauryl glucoside	41±4	33±4	53±5
Диаммофоска / Diammofoska	65±5	71±6	83±6
Диаммофоска + Лаурилглюкозид / Diammofoska + Lauryl glucoside	55±5	40±5	51±5

Примечание: * – Диаммофоска (NH₄⁺ – 10%; всего фосфатов – 25%; калий в пересчёте на K₂O – 25%), 0,5 г.
Notes: * – Diammofoska (NH₄⁺ – 10%; total phosphate – 25%; K, based on the K₂O – 25%), 0,5 g.

Добавка минеральных удобрений стимулировала целлюлазную активность (табл. 2), в то время как внесение ПАВ незначительно подавляло её на ранних этапах. Одновременная добавка ПАВ и удобрений сохраняла показатель целлюлазной активности на уровне контроля. Сделан вывод, что биохимические показатели (целлюлазная и уреазная активность) могут отражать состояние почвы под воздействием как поллютанта, так и добавок, стимулирующих очищение почвы от нефти.

Почвенные беспозвоночные. Почвенные беспозвоночные реагируют на антропогенные изменения природных экосистем перестройкой состава и структуры группировок, изменением численности [20–23], что определяет их значение как биоиндикаторов [24, 25].

При проведении многолетних исследований были выявлены закономерности динамики почвенной микрофауны в экосистемах с нефтяным загрязнением [26, 27]. Для ключевых таксонов микроартропод определены разные

тренды изменения численности: её снижение – для личинок двукрылых и мезостигматических клещей и, напротив, повышение – для коллембол и панцирных клещей. Установлена стадийность восстановления почвенного зооценоза. Выделены таксономические группы почвенной микрофауны – биомаркёры этапов сукцессии: первого этапа – личинки двукрылых и мезостигматические клещи, второго этапа – коллемболы и третьего – панцирные клещи [27]. Установлена связь динамики численности, состава и структуры группировок почвенных беспозвоночных с сукцессией растительного сообщества в условиях нефтяного загрязнения [28]. Наиболее успешным восстановлением почвенного зооценоза было при использовании биопрепаратов [19, 27].

Метагеномный анализ почвы. Выявлено различие метагенома почвы на участках рекультивации, самовосстановления и фоновом. Анализ результатов с помощью метода главных компонент (рис. 2, см. цветную вкладку), на основе представленности в пробах прочтений, аннотированных к различным филумам (типам), свидетельствует о выраженном отличии фонового участка от загрязнённых. На территории, не подверженной нефтяному загрязнению, *Acidobacteria* являются доминантной группой микроорганизмов. На загрязнённых нефтью участках без ремедиации наиболее представленными в сообществе оказались *Proteobacteria*. В результате ремедиации баланс доминирования в микробиоме сместился в сторону группы *Actinobacteria*. Известно, что представители филумов *Proteobacteria* и *Actinobacteria* являются активными нефтеструкторами [29, 30]. Выявлены различия в структуре грибных сообществ интактных и загрязнённых территорий. Результаты секвенирования показали, что в большинстве образцов фонового участка присутствуют представители отделов *Ascomycota* и *Basidiomycota*. По количеству обнаруженных таксонов (OTU) и среди прокариот (16S), и среди грибов (ITS) участок без рекультивации статистически достоверно уступал фоновому сообществу. При этом на участке рекультивации уровень видовой разнообразия бактерий был снижен в меньшей степени, а разнообразие грибов не отличалось от фонового. Можно заключить, что нефтяное загрязнение приводит к изменению состава почвенной микробиоты, снижая её разнообразие и изменяя доминирующие группы. Информативными могут быть данные о разнообразии филума ацидобактерий (царство Бактерии) и отдела аскомицетов (царство Грибы).

Заключение

Впервые проведён анализ динамики растительности на участках опытной рекультивации за 17-летний период восстановления. Показано, что оригинальный подход, сочетающий традиционные геоботанические методы исследований и применение концепции жизненных стратегий растений Раменского-Грайма, позволяет дать интегральную оценку состояния растительности на участках рекультивации и получить данные о долговременном эффекте рекультивационных мероприятий.

Впервые предпринята попытка использования данных метагеномного анализа в диагностике состояния почв с нефтяным загрязнением в условиях Субарктики. Выявлена индикаторная значимость ацидобактерий и аскомицетов. В качестве индикаторных таксонов представлены трофические группы почвенных микроорганизмов и почвенные беспозвоночные.

При модельной рекультивации *ex situ* болотной торфяной почвы с нефтяным загрязнением показана информативность таких биохимических показателей, как целлюлазная и уреазная активность. Рассмотренные параметры характеризуют состояние биоты на территориях с нефтяным загрязнением и могут быть рекомендованы в качестве диагностических.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 18-29-05028 мк, и темы государственного задания Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН № АААА-А17-117112850235-2.

References

1. García-Segura D., Castillo-Murrieta I.M., Martínez-Rabelo F., Gomez-Anaya A., Rodríguez Campos J., Hernández-Castellanos B., Contreras-Ramos S.M., Barois I. Macrofauna and mesofauna from soil contaminated by oil extraction // *Geoderma*. 2018. V. 332. P. 180–189. doi: 10.1016/j.geoderma.2017.06.013
2. Solntseva N.P. Oil production and geochemistry of natural landscapes. Moskva: Izd-vo MGU, 1998. 376 p. (in Russian).
3. Nature-conservation measures on the refinery companies. Part 1: Rehabilitation of petroleum polluted soils in Usinsk district, Komi Republic. Syktyvkar: Komi nauchnyy tsentr UrO RAN, 2006. 208 p. (in Russian).
4. Cebron A., Cortet J., Criquet S., Biaz A., Calvert V., Caupert C., Pernin C., Leyval C. Biological functioning of PAH-polluted and thermal desorption-treated soils assessed by fauna and microbial bioindicators // *Research in microbiology*. 2011. V. 162. No. 9. P. 896–907. doi: 10.1016/j.resmic.2011.02.011

5. Barenboim G.M., Ertsev G.N., Taskaev A.I., Ulyashev A.I., Shubin Yu.P. Environmental monitoring in the accident zone // Experience in responding to oil spills in the Usinsky District of the Komi Republic (Project Implementation Materials) / Ed. V.S. Bibikova. Syktyvkar: Komimeliiovodkhozproekt, 2000. P. 83–146 (in Russian).
6. Domracheva L.I. The use of organisms and biosystems in the remediation of territories // Theoretical and Applied Ecology. 2009. No. 4. P. 4–16 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2009-4-004-016
7. Sharapova I.E., Lapteva E.M., Maslova S.P., Tabalenkova G.I., Garabagiu A.V. Use of the integral coefficient of soil biological activity and phytotoxicity index for assessing phytoremediation of oil-contaminated soils // Theoretical and Applied Ecology. 2015. No. 2. P. 67–73 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2015-2-042-067-073
8. Atlas of the Komi Republic on climate and hydrology / Ed. A.I. Taskaev. Moskva: Drofa; DiK, 1997. 116 p. (in Russian).
9. World Abstract Database of Soil Resources 2014. International system of soil classification for soil diagnostics and creation of soil map legends. The corrected and supplemented version of 2015. Rome: Izd-vo FAO i MGU im. M.V. Lomonosova, 2018. 216 p. (in Russian).
10. Ramensky L.G. On the fundamental guidelines, basic concepts and terms of productive land typology, geobotany, and ecology // Sovetskaya botanika. 1935. No. 4. P. 25–42 (in Russian).
11. Grime J.P., Hodgson J.G., Hunt R. Comparative plant ecology: a functional approach to common British species. Unwin Hyman, London, 1988. 679 p.
12. Kotoky R., Rajkumari J., Pandey P. The rhizosphere microbiome: Significance in rhizoremediation of polyaromatic hydrocarbon contaminated soil // J. Environ. Manage. 2018. V. 217. P. 858–870. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.04.022
13. Koshlaf E., Shahsavari E., Aburto-Medina A., Taha M., Haleyr N., Makadia T.H., Morrison P.D., Ball A.S. Bioremediation potential of diesel-contaminated Libyan soil // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2016. V. 133. P. 297–305. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.07.027
14. Soil Enzymology / Eds. G. Shukla, A. Varma. Springer Heidelberg Dordrecht London New York, 2011. Part of the Soil Biology book series. V. 22. 384 p. doi: 10.1007/978-3-642-14225-3.
15. Polyak Y.M., Bakina L.G., Chugunova M.V., Mayachkina N.V., Gerasimov A.O., Bure V.M. Effect of remediation strategies on biological activity of oil-contaminated soil – A field study // International Biodeterioration and Biodegradation. 2018. V. 126. P. 57–68. doi: 10.1016/j.ibiod.2017.10.004
16. Khaziev F.H. Methods of soil enzymology. Moskva: Nauka, 2005. 252 p. (in Russian).
17. Zvyagintsev D.G. Methods of soil microbiology and biochemistry. Moskva: MGU, 1991. 304 p. (in Russian).
18. Oborin A.A., Khmurchik V.T., Nazarov A.A., Markarova M.Yu., Ilarionov S.A. Oil-contaminated biogeocenoses. Perm, 2009. 511 p. (in Russian).
19. Melekhina E.N., Markarova M.Yu., Shchemelina T.N., Anchugova E.M., Kanev V.A. Secondary successions of biota in oil-polluted peat soil upon different biological remediation methods // Eurasian Soil Science. 2015. V. 48. P. 643–653. doi: 10.1134/S1064229315060071
20. Zaitsev A.S., Wolters V., Waldhardt R., Daube J. Long-term succession of oribatid mites after conversion of croplands to grasslands // Applied Soil Ecology. 2006. V. 34. No. 2–3. P. 230–239. doi: 10.1016/j.apsoil.2006.01.005
21. Holtkamp R., Kardol P., van der Wal A., Dekker S.C., van der Putten W.H., de Ruiter P.C. Soil food web structure during ecosystem development after land abandonment // Applied Soil Ecology. 2008. V. 39. No. 1. P. 23–34. doi: 10.1016/j.apsoil.2007.11.002.APSOIL-1123
22. Ryabinin N.A., Pan'kov A.N. Successions of oribatid mites (Acariformes: Oribatida) on disturbed areas // Biology Bulletin. 2009. V. 36. N. 5. P. 510–515.
23. Coulson S.J., Fjellberg A., Melekhina E.N., Taskaeva A.A., Lebedeva N.V., Belkina O.A., Seniczak S., Seniczak A., Gwiazdowicz D.J. Microarthropod communities of industrially disturbed or imported soils in the High Arctic; the abandoned coal mining town of Pyramiden, Svalbard // Biodivers. Conserv. 2015. V. 24. No. 7. P. 1671–1690. doi: 10.1007/s10531-015-0885-9
24. Behan-Pelletier V.M. Oribatid mite biodiversity in agroecosystems: role for bioindication // Agriculture, Ecosystems and Environment. 1999. No. 74. P. 411–423.
25. Khalil M.A., Janssens T.K.S., Berg M.P., van Stralen N.M. Identification of metal-responsive oribatid mites in a comparative survey of polluted soils // Pedobiologia. 2009. V. 52. No. 3. P. 207–221. doi: 10.1016/j.pedobi.2008.10.002
26. Melekhina E.N. The effect of oil pollution on the soil microfauna of the tundra communities of the extreme northern taiga // Ekologiya cheloveka. 2007. No. 1. P. 16–23 (in Russian).
27. Melekhina E.N. Recovery of soil microfauna successions in oil-polluted ecosystems of the European Subarctic // Biology Bulletin. 2020. V. 47. No. 1. P. 97–105. doi: 10.1134/S1062359020010082
28. Melekhina E.N. Recovery of soil invertebrates after oil pollution: importance of composition and development degree of plant community // Vestnik Instituta biologii Komi nauchnogo tsentra Ural'skogo otdeleniya Rossiyskoy akademii nauk. 2019. No. 1. P. 9–17 (in Russian). doi: 10.31140/J.VESTNIKIB.2019.1(208).2
29. Koshlaf E., Shahsavari E., Aburto-Medina A., Taha M., Haleyr N., Makadia T.H., Morrison P.D., Ball A.S. Bioremediation potential of diesel-contaminated Libyan soil // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2016. V. 133. P. 297–305. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.07.027
30. Bao Y.J., Xu Z., Li Y., Yao Z., Sun J., Song H. High-throughput metagenomic analysis of petroleum-contaminated soil microbiome reveals the versatility in xenobiotic aromatics metabolism // J. Environ. Sci. (China). 2017. V. 56. P. 25–35. doi: 10.1016/j.jes.2016.08.022