

## ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 579.26+579.25+579.68

**Состав бактериальных сообществ  
нефтезагрязненных донных отложений реки Каменка****Д.О. Егорова\* , П.Ю. Санников , Ю.В. Хотяновская , С.А. Бузмаков ***Кафедра биогеоценологии и охраны природы, Пермский государственный национальный исследовательский университет, 614068, г. Пермь, ул. Букирева, д. 15**\*e-mail: daryao@rambler.ru*

Река Каменка протекает по территории Кокуйского газонефтяного месторождения, расположенного в Пермском крае. Несмотря на отсутствие в непосредственной близости от реки нефтедобывающих объектов, в водах и донных отложениях выявлены нефтяные углеводороды в концентрации 2445–25800 мг/кг. Исследован состав микробных сообществ донных отложений реки Каменка, расположенных у истока и по течению реки. С применением методов высокопроизводительного секвенирования и биоинформатической обработки данных установлено, что основная доля микробных сообществ представлена бактериями филума Proteobacteria (16,7–30,3%), также в сообществах представлены филумы Actinobacteriota, Bacteroidota, Bdellovibrionota, Campilobacterota, Chloroflexi, Cyanobacteria, Deferribacterota, Desulfobacterota, Firmicutes, Gemmatimonadota, Methyloirabiolota, Мухосoccota, Nitrospirota, Patescibacteria, Planctomycetota, Spirochaetota, Synergistota, Thermotofota и Verrucomicrobiota. Значения индекса Шеннона для исследованных сообществ находятся в прямой корреляционной зависимости от концентрации нефтяных углеводородов в донных отложениях. Филум Proteobacteria во всех сообществах представлен классами Alphaproteobacteria и Gammaproteobacteria, среди которых доминирующую позицию занимают представители семейств Rhodobacteriaceae и Comamonadaceae. При идентификации до рода установлено, что в семействе Comamonadaceae основную долю составляют бактерии рода *Hydrogenophaga*. Следует отметить, что бактерии рода *Pseudomonas* (класс Gammaproteobacteria) выявлены только в микробиоценозе донных отложений, характеризующихся наибольшей концентрацией нефтяных углеводородов.

**Ключевые слова:** бактерии, нефтяное загрязнение, донные отложения, микробное сообщество, высокопроизводительное секвенирование

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-78-1-3

Загрязнение окружающей среды нефтью является глобальной проблемой. Проникновение нефтяных углеводородов в природные объекты происходит в результате нарушения режимов нефтедобычи, аварий при транспортировке и хранении, в процессе переработки [1]. Длительная разработка нефтяных месторождений, особенно в районах со сложными климатическими или геологическими условиями, приводит к усугублению данной проблемы. Кокуйское месторождение, расположенное на территории Пермского края (Кунгурский и Ординский районы) (рис. 1) находится в активной эксплуатации более полувека (<https://www.nftn.ru>). Геологические запасы нефти составляют более 100 млн т. На территории месторождения выявлены нефтяные, газоконденсатонефтяные и газонефтяные залежи. Однако разработка месторождения осложнена горно-геологическими условиями региона, а именно – раз-

витием карстовых процессов. Наличие трещинных зон в карстовых породах обуславливает вертикальную миграцию нефти, в том числе – в составе подземных вод, что приводит к появлению нефтяных пятен на почвах или в реках, удаленных от нефтегазодобывающих объектов [2, 3]. Одной из таких проблемных территорий является река Каменка. На протяжении длительного периода времени в водах Каменки фиксируются нефтяные углеводороды, повышенное содержание хлоридов, а также присутствует запах сероводорода (данные не опубликованы).

Основными компонентами нефти являются линейные и разветвленные углеводороды, ароматические углеводороды, нафтены и ряд других органических соединений [4]. Поступление данных веществ в почву и донные отложения приводит к нарушению их структуры и функций, а также оказывает влияние на микробиоценоз [4–7].

Известно, что появление такого комплекса органических загрязнителей вызывает необратимые изменения в составе и структуре микробиоценоза, направленные на адаптацию к новым условиям [8, 9]. В большинстве случаев это приводит к повышению доли микроорганизмов, устойчивых к негативному воздействию углеводородов нефти или/и способных использовать данные соединений в метаболических процессах [10]. Анализ структуры микробных сообществ удаленных друг от друга регионов, подверженных негативному влиянию нефтяного загрязнения, свидетельствует о существенных различиях в составе основных таксономических групп микробиоценозов [8, 11].

Целью настоящей работы стало изучение состава микробиоценоза донных отложений реки Каменка, подверженных загрязнению углеводородами нефти в результате их проникновения из подлежащих горных пород.

### Материалы и методы

**Отбор проб донных отложений** производили согласно ГОСТ 17.1.5.01-80 «ГИДРОСФЕРА. Общие требования к отбору проб донных отложений водных объектов для анализа на загрязненность» и Природоохранному нормативному документу

федеративному (ПНД Ф) 12.1:2.2.2:2.3.2-03 «Отбор проб почв, грунтов, осадков биологических очистных сооружений, шламов промышленных сточных вод, донных отложений искусственно созданных водоемов, прудов-накопителей и гидротехнических сооружений» в истоке реки Каменка и трех точках ниже по течению в августе 2021 г. (рис. 1) и транспортировали их в термоконтейнерах при поддержании температуры 4–5°C:

1) образец V-00 – отобран в истоке реки, pH 7,31, органический углерод 17,5%, общая щелочность ( $\text{CO}_3 + \text{HCO}_3$ ) 390 мг/кг, хлориды 595 мг/кг, нефтепродукты 4093 мг/кг, присутствует характерный запах серы;

2) образец V-00-1 – отобран на расстоянии 10–15 м от истока реки, pH 6,97, органический углерод 12,6%, общая щелочность ( $\text{CO}_3 + \text{HCO}_3$ ) 171 мг/кг, хлориды 2975 мг/кг, нефтепродукты 25800 мг/кг, присутствует характерный запах серы;

3) образец V-DO-12 – отобран на расстоянии 100 м от истока реки, pH 7,28, органический углерод 13,2%, общая щелочность ( $\text{CO}_3 + \text{HCO}_3$ ) 1146 мг/кг, хлориды 3675 мг/кг, нефтепродукты 5494 мг/кг, присутствует характерный запах сероводорода;

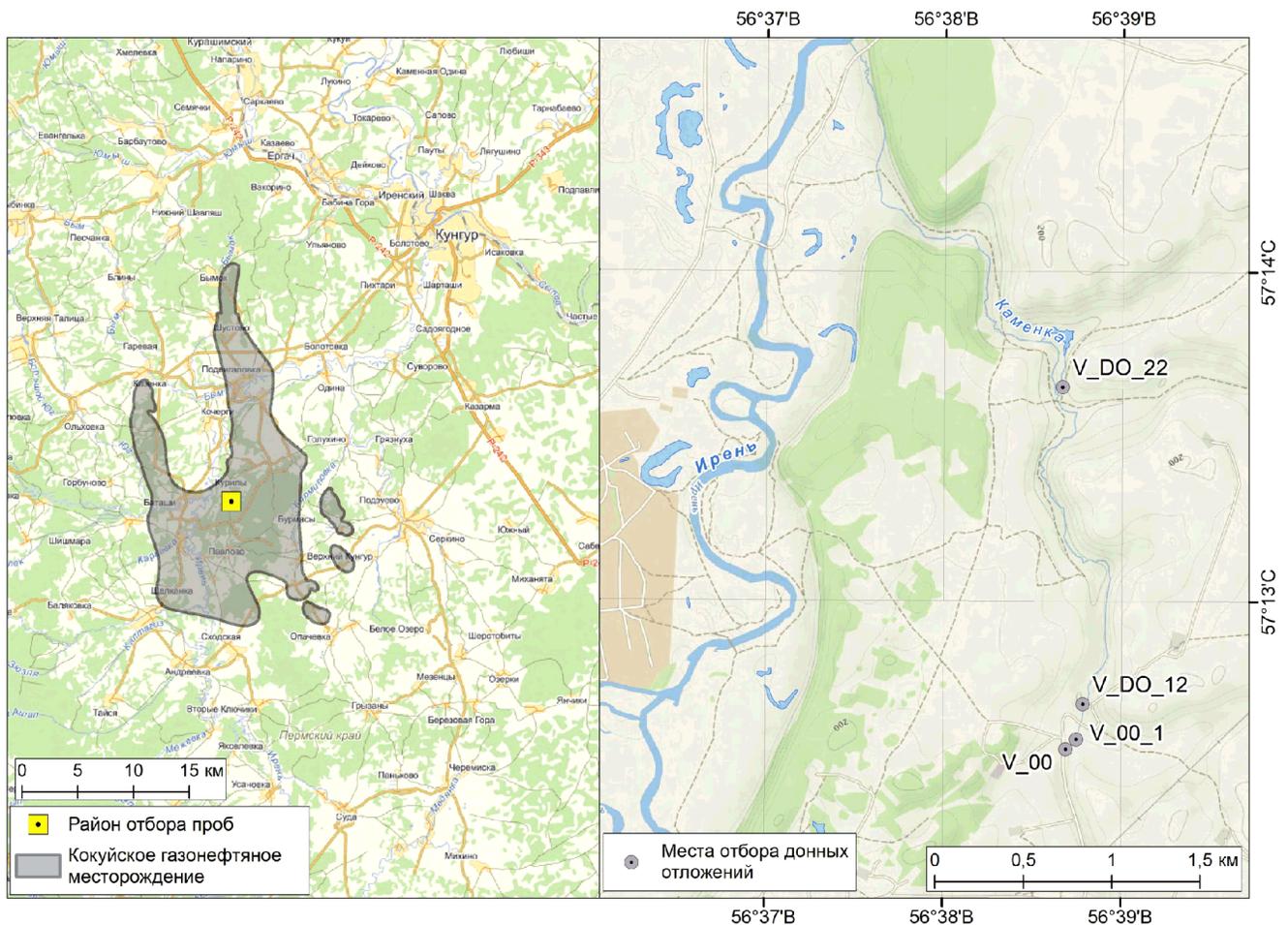


Рис. 1. Карта-схема расположения районов отбора донных отложений на реке Каменка, Пермский край.

4) образец V-DO-22 – отобран на расстоянии 2500 м от истока реки, pH 7,11, органический углерод 10,6%, общая щелочность ( $\text{CO}_3 + \text{HCO}_3$ ) 281 мг/кг, хлориды 175 мг/кг, нефтепродукты 2445 мг/кг, присутствует характерный запах сероводорода.

**Определение физико-химических параметров** образцов проводили согласно опубликованной ранее методике [12], концентрацию нефти определяли согласно ПНД Ф 16.1:2.2.22-98 «Количественный химический анализ почв. Методика выполнения измерений массовой доли нефтепродуктов в минеральных, органогенных, органоминеральных почвах и донных отложениях методом ИК-спектроскопии».

**Выделение ДНК** из образцов донных отложений проводили с применением набора реактивов MACHEREY-NAGEL NucleoSpin Soil (MACHEREY-NAGEL, Германия) согласно инструкции производителя.

**Высокопроизводительное секвенирование.** Очищенные препараты ДНК использовали для создания библиотек фрагментов гена 16S рРНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с применением универсальных праймеров на вариабельный участок V4: F515/R806 (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA/GGACTACVSGGGTATCTAAT) [13] с присоединенными адаптерами и уникальными баркодами компании Illumina (Illumina, США). ПЦР проводили в 15 мкл реакционной смеси, содержащей 0,5–1 единицу активности полимеразы Q5® High-Fidelity DNA Polymerase (NEB, США), по 5 пкМ прямого и обратного праймеров, 1–10 нг ДНК-матрицы и 2 нМ каждого dNTP (Life Technologies США). Смесь денатурировали при 94°C 1 мин., после чего следовало 25 циклов: 94°C – 30 с, 55°C – 30 с, 72°C – 60 с. Финальная элонгация проводилась при 72°C 3 мин. ПЦР-продукты очищали по рекомендованной Illumina методике с использованием магнитных частиц AMPureXP (Beckman Coulter, США). Подготовка библиотек и секвенирование проводились в соответствии с рекомендациями производителя для работы на приборе «Illumina MiSeq» (Illumina, США) с использованием набора реагентов MiSeq® ReagentKit v3 (600 cycle) с двусторонним чтением (2 × 300 н).

**Обработка данных с применением биоинформационных технологий.** Первоначальную обработку полученных данных проводили с помощью программного обеспечения компании Illumina (Illumina, США). Для последующего анализа (объединения последовательностей, удаления химерных прочтений, восстановления исходных флотипов (ASV, Amplicon sequence variant) и дальнейшей таксономической классификации полученных ASV) использовали программные пакеты dada2 [14], phyloseq [15] и DECIPHER [16], работу осуществляли в программной среде R. Для

представления данных таксономического анализа использовали средства программного пакета QIIME [17].

**Статистическую обработку** полученных результатов проводили с использованием программ Microsoft Excel 2013 и STATISTICA 6.0. Статистический анализ осуществляли с использованием параметрических методов, статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ . Графические данные визуализированы в программе Microsoft Excel 2013.

## Результаты и обсуждение

Физико-химический анализ донных отложений реки Каменка показал, что они имеют слабощелочную, ближе к нейтральной, среду (по показателю pH), содержат органический углерод, карбонаты и хлориды (в образцах V-00-1 и V-DO-12 концентрация хлоридов многократно превышает установленные нормы), а также загрязнены углеводородами нефти. Наиболее высокая концентрация нефтепродуктов выявлена в образце V-00-1 (см. Материалы и методы), отобранном в 10–15 м от истока реки. В данном месте предполагается выход подземных вод, содержащих нефть.

Впервые проведены исследования структуры микробного сообщества донных отложений реки Каменка. Использование молекулярно-генетических методов позволило выявить широкий спектр микроорганизмов, принадлежащих доменам Bacteria и Archaea.

В результате высокопроизводительного секвенирования участка гена 16S рРНК из образцов донных отложений истока реки Каменка (точка отбора V-00) (рис. 1) и последующей биоинформационной обработки получено 546 исходных флотипов (ASV). Установлено, что 68,8% принадлежало домену Bacteria, 0,2% – домену Archaea, а 31% не был идентифицирован. Всего в составе микробного сообщества выявлено 13 филумов домена Bacteria (Acidobacteriota, Actinobacteria, Bacteroidota, Campilobacterota, Chloroflexi, Desulfobacteriota, Firmicutes, Patescibacteria, Planctomycetota, Proteobacteria, Spirochaetota, Synergistota, Verrucomicrobiota). Доминирующим является филум Proteobacteria (26,0%) (рис. 2). Доля других филумов варьировала от 0,1% до 9,1%. Хуже всего представлены филумы Acidobacteriota и Verrucomicrobiota (0,1% и 0,8% соответственно).

В образцах донных отложений, отобранных ниже истока в 10–15 м (точка отбора V-00-1) (рис. 1), после обработки исходных данных выявлено 522 ASV. Основную долю (67,5%) составлял домен Bacteria, тогда как к домену Archaea принадлежало 4,8%. Не определена таксономическая принадлежность у 27,7% выявленных флотипов. В отличие от микробного сообщества донных отложений истока реки Каменка, в рассматриваемом

мом сообществе выявлено 15 филумов домена Bacteria (Acidobacteriota, Actinobacteriota, Bacteroidota, Campilobacterota, Chloroflexi, Cyanobacteriota, Deferribacterota, Desulfobacteriota, Firmicutes, Gemmatimonadota, Patescibacteria, Planctomycetota, Proteobacteria, Spirochaetota, Verrucomicrobiota). Следует отметить, что филум Deferribacterota (0,1%) не выявлен в других исследованных сообществах. 30,3% идентифицированных последовательностей приходится на филум Proteobacteria (рис. 2). Также в значительной мере представлены филумы Campilobacterota (9,6%), Bacteroidota (9,2%) и Actinobacteriota (6,4%).

Сообщество донных отложений, отобранных ниже истока на 100 м (точка отбора V-DO-12) (рис. 1), на 65% представлено доменом Bacteria и на 0,1% – доменом Archaea. Для 34,9% исходных филотипов (из 685 ASV) таксономическая принадлежность не установлена. Доминировали представители филума Proteobacteria (20,4%) (рис. 2). Доля других тринадцати филумов в сообществе была ниже и варьировала от 0,1 до 14,1% (рис. 2).

Наиболее сложным для определения таксономической принадлежности оказалось сообщество донных отложений, отобранных в 2500 м ниже по течению от истока реки Каменка (точка отбора V-DO-22) (рис. 1). Относительная доля неклассифицируемых на филогенетическом уровне нуклеотидных последовательностей составила 49,1%. Среди идентифицированных последовательностей:

46,7% – домен Bacteria, 4,2% – домен Archaea. Анализ выявленных филумов показал, что в данном сообществе отсутствуют представители Acidobacteriota, но определяются представители филумов Methilomirabiolota (0,1%) и Thermotogota (0,2%), а также в значительной мере представлен филум Cyanobacteriota – 1,0%. Доминирующую позицию занимает филум Proteobacteria (16,7%) (рис. 2).

Установлена прямая линейная зависимость средней силы (коэффициент корреляции Пирсона составил 0,63) между концентрацией нефти в донных отложениях и значением индекса Шеннона-Уивера (H) как показателя биоразнообразия в исследованных микробиоценозах. Численные значения H относятся к диапазону, характеризующему низкое разнообразие таксономического состава сообществ (H = 2,64–2,91).

Таксономический состав бактериальных сообществ донных отложений реки Каменка существенно отличается от такового ряда бактериоценозов, подверженных длительному загрязнению нефтяными углеводородами [4, 8]. В составе микробного сообщества донных отложений с наибольшим уровнем нефтезагрязнения в значительной мере представлен филум Actinobacteriota (6,7%), а доля филума Chloroflexi (0,3%) ниже, чем в остальных сообществах. Доминирующая позиция филума Proteobacteria во всех исследованных сообществах может быть обусловлена рядом факторов: протеобактерии являются типичными

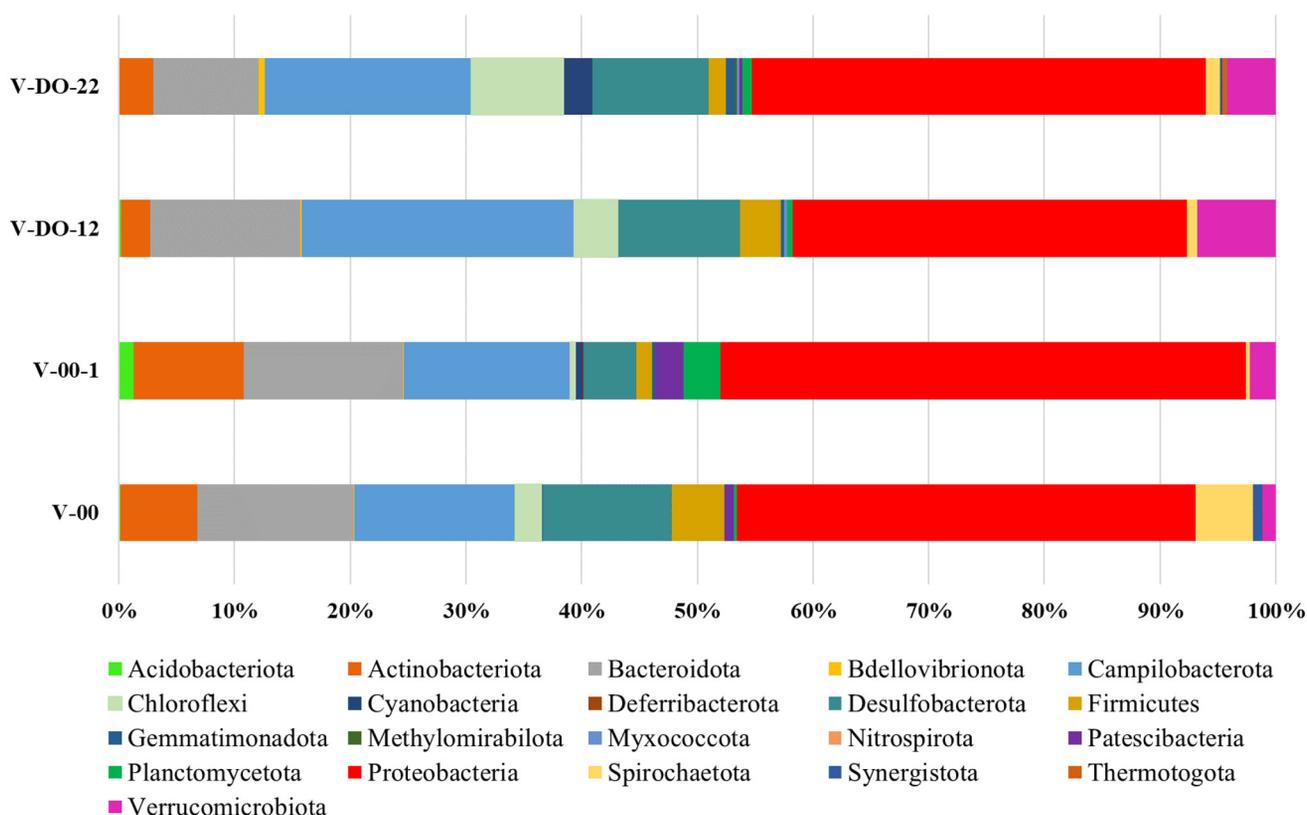


Рис. 2. Состав бактериальных сообществ донных отложений реки Каменка на уровне филумов.

представителями речных экосистем; представители данного филума играют важную роль в трансформации органических соединений; среди протеобактерий описано значительное количество штаммов, осуществляющих трансформацию углеводородов нефти [4, 7, 11, 18].

Во всех исследованных в настоящей работе сообществах присутствуют представители филумов Desulfobacteriota (3,0–7,3%) и Spirochaetota (0,2–3,3%). Интересно отметить, что бактерии данных филумов участвуют в анаэробных процессах, в том числе для них установлена способность к синтрофным взаимодействиям [19]. Учитывая тот факт, что восстановление сульфатов является одной из метаболических функций бактерий данных филумов, можно предполагать, что появление запаха сероводорода в местах отбора проб является результатом их жизнедеятельности.

Филум Halobacterota домена Archaea выявлен во всех сообществах донных отложений реки Каменка. Его доля в микробиоценозах составляла 0,1–3,4%. По литературным данным, филум Halobacterota характерен для анаэробных сообществ, а также для сообществ солевых пещер [19, 20].

Вероятно, его присутствие в исследуемых сообществах донных отложений обусловлено поступлением в реку Каменка подземных вод, проходящих по карстовым трещинам с подлежащих слоев. Интересно отметить, что в составе микробиоценозов, отобранных в точках V-00-1 и V-DO-22, выявлена значительная доля еще одного филума домена Archaea – Crenarchaeota (3,7% и 0,8% соответственно). Известно, что представители данного филума описаны в составе биоценозов полярного региона [21].

Проведен анализ микробных сообществ донных отложений на уровне класса, семейства, порядка и рода (таблица). Известно, что представители родов *Microbacterium*, *Flavobacterium* и *Lutibacter* обладают ферментативной активностью в отношении углеводородов нефти и сложных ароматических соединений, встречаются в составе донных отложений пресноводных и морских водоемов [22, 23]. Следует отметить, что наибольшая доля ASV рода *Microbacterium* представлена в микробном сообществе с наибольшим уровнем нефтезагрязнения (таблица). Также в данном сообществе выявлено присутствие рода *Rhodococcus*

Таблица

Доминантные таксоны (%) в микробных сообществах донных отложений

Таксономическая единица		Точка отбора			
		V-00	V-00-1	V-DO-12	V-DO-22
Класс	Actinobacteria	4,2	5,8	1,1	1,1
	Bacteroidia	8,4	9,2	7,8	3,3
	Desulfobacteria	2,6	0,9	2,9	1,6
	Desulfobulbia	2,2	1,6	2,6	1,3
	Alphaproteobacteria	5,3	8,7	4,9	3,2
	Gammaproteobacteria	20,7	21,5	15,4	13,4
Порядок	Micrococcales	3,5	5,0	0,3	0,9
	Flavobacteriales	4,5	5,4	1,4	1,2
	Desulfobacteriales	2,5	0,9	2,9	1,2
	Desulfobulbales	2,2	1,6	2,6	1,3
	Rhodobacteriales	2,3	1,8	2,6	1,0
	Burkholderiales	15,9	10,1	12,3	10,8
Семейство	Microbacteriaceae	3,1	3,78	0,3	0,5
	Flavobacteriaceae	4,4	4,5	1,4	1,1
	Desulfobacteriaceae	2,1	0,9	1,9	0,2
	Desulfocapsaceae	2,2	1,6	2,5	0,8
	Rhodobacteriaceae	2,3	1,8	2,6	1,0
	Comamonadaceae	8,6	5,6	4,6	6,3
Род	<i>Microbacterium</i>	0,4	1,0	0,1	0,1
	<i>Flavobacterium</i>	2,9	0,7	0,7	0,1
	<i>Lutibacter</i>	1,0	2,4	0,2	0,7
	<i>Desulfobacterium</i>	1,9	0,3	0,2	0,05
	<i>Desulfocapsa</i>	0,1	0,2	0,2	0,1
	Не классиф. до рода	2,3	1,8	2,6	1,0
	<i>Hydrogenophaga</i>	0,4	1,6	0,5	2,0

(0,04%), известного большим количеством описанных нефтедеструктурирующих штаммов [24, 25]. Анализ распространения родов семейства Flavobacteriaceae показал, что род *Flavobacterium* наиболее представлен в сообществе истока реки Каменка, тогда как род *Lutibacter* имеет наибольшую долю в сообществе, отобранном на 10–15 м ниже истока.

Среди сульфатвосстанавливающих представителей микробиоценоза во всех исследованных сообществах преобладали рода *Desulfobacterium* и *Desulfocapsa* (таблица). Как было указано выше, река Каменка протекает по Кокуйскому месторождению, для которого характерны карстовые процессы в подлежащих породах. В процессе восходящего движения нефтезагрязненные глубинные воды проходят от каменноугольных карбонатов до сульфатно-карбонатного яруса, что приводит к их насыщению сульфатами [2, 3]. Таким образом, выходя на поверхность, подземные воды несут субстрат для жизнедеятельности сульфатвосстанавливающих бактерий.

Доминирующий филум Proteobacteria во всех исследованных сообществах представлен двумя классами: Alphaproteobacteria и Gammaproteobacteria (таблица). Известно, что представители класса Gammaproteobacteria широко распространены в биоценозах, испытывающих негативную нефтяную нагрузку [7, 11, 18]. Доминирующую позицию среди представителей данного класса занимает род *Hydrogenophaga* (таблица) на долю которого

приходится 0,4–2,0% ASV в сообществах донных отложений реки Каменка. Ранее представители рода *Hydrogenophaga* были описаны в составе микробных сообществ, выделенных из нефтезагрязненных осадков морей [7]. Интересно отметить, что представители рода *Pseudomonas*, к которому принадлежит значительное количество описанных штаммов-нефтедеструкторов, выявлены только в составе микробного сообщества донных отложений точки V-00-1 (0,1%), характеризующейся высокой концентрацией нефтяных углеводородов [26].

Таким образом, в результате проведенного исследования впервые описаны на молекулярно-генетическом уровне микробные сообщества нефтезагрязненных донных отложений реки Каменка, протекающей по территории Кокуйского газонефтяного месторождения. Выявлено присутствие доменов Bacteria и Archaea, доминантным является филум Proteobacteria. В значительной мере представлены филумы сульфатвосстанавливающих бактерий, что обусловлено проникновением в русло реки подземных вод, проходящих через сульфатно-карбонатный ярус.

Исследования выполнены при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект №20-45-596018; конкурс РФФИ р\_НОЦ\_Пермский край). Работа проведена без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Johnston J.E., Lim E., Roh H. Impact of upstream oil extraction and environmental public health: a review of the evidence // *Sci. Total Environ.* 2019. Vol. 657. P. 187–199.
2. Костарев С.М. Формирование техногенных скоплений компонентов глубинных флюидов в приповерхностных массивах горных пород (на примере районов нефтедобычи Пермской области) // *Известия ВУЗов. Нефть и газ.* 2004. № 5. С. 132–143.
3. Костарев С.М., Бачурин Б.А., Одинцова Т.А. Методические проблемы оценки нефтяного загрязнения подземных вод // *Нефтепромышленное дело.* 2016. № 12. С. 52–56.
4. Rodríguez-Urue M.L., Peña-Cabrales J.J., Rivera-Cruz M.C., Délano-Frier J.P. Native bacteria isolated from weathered petroleum oil-contaminated soils in Tabasco, Mexico, accelerate the degradation petroleum hydrocarbons in saline soil microcosms // *Env. Tech. Innov.* 2021. Vol. 23: 101781.
5. Kingston P. Long-term environmental impact of oil spills // *Spill. Sci. Technol. Bull.* 2002. Vol. 7. N 1–2. P. 53–61.
6. Fahrenfeld N.L., Reyes H.D., Eramo A., Akob D.M., Mumford A.C., Cozzarelli I.M. Shifts in microbial community structure and function in surface waters impacted by unconventional oil and gas wastewater revealed by metagenomics // *Sci. Total Environ.* 2016. Vol. 580. P. 1205–1213.
7. Avona A., Capadici M., Trapani D.Di., Giustra M.G., Lucchina P.G., Lumia L., Di Bella G., Rossetti S., Tonazi B., Viviani G. Hydrocarbons removal from real marine sediments: Analysis of degradation pathways and microbial community development during // *Sci. Total Environ.* 2022. Vol. 838: 156458.
8. Shaoping K., Zhiwewi D., Bingchen W., Huihui W., Jialiang L., Hongbo S. Changes of sensitive microbial community in oil polluted soil in the coastal area in Shandong, China for ecorestoration // *Ecotox. Environ. Saf.* 2021. Vol. 207: 111551.
9. Khan M.A.I., Biswas B., Smith E., Mahmud S.A., Hasan N.A., Khan M.A.W., Naidu R., Megharaj M. Microbial diversity changes with rhizosphere and hydrocarbons in contrasting soils // *Ecotox. Environ. Saf.* 2018. Vol. 156. P. 434–442.
10. Liu Q., Tang J., Gao K., Gurav R., Giesy J.P. Aerobic degradation of crude oil by microorganisms in soils from four geographic regions of China // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7: 14856.
11. Huang L., Te J., Jiang K., Wang Y., Li Y. Oil contamination drives the transformation of soil microbial communities: Co-occurrence pattern, metabolic enzymes

and culturable // *Ecotox. Environ. Saf.* 2021. Vol. 225: 112740.

12. Зырин Н.Г., Орлов Д.С. Физико-химические методы исследования почв. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1964. 348 с.

13. Bates S.T., Berg-Lyons J.G., Caporaso W.A., Walters W.A., Knight R., Fierer N. Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soil // *ISME J.* 2010. Vol. 5. N 5. P. 908–917.

14. Callahan B.J., McMurdie P.J., Rosen M.J., Han A.W., Johnson A.J.A., Holmes S.P. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data // *Nat. Methods.* 2016. Vol. 13. N 7. P. 581–583.

15. McMurdie P.J., Holmes S. phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data // *PLoS One.* 2013. Vol. 8. N 4: e61217

16. Wright E.S. Using DECIPHER v2.0 to Analyze big biological sequence data in R // *R J.* 2016. Vol. 8. N. 1. P. 352–359.

17. Caporaso J.G., Kuczynski J., Stombaugh J. et al. QIIME allows analysis of highthroughput community sequencing data // *Nat. Methods.* 2010. Vol. 7. N 5. P. 335–336.

18. King G.M., Kostka J.E., Hazen T.C., Sobczyk P.A. Microbial responses to the deepwater horizon oil spill: from coastal wetlands to the deep sea // *Ann. Rev. Mar. Sci.* 2015. Vol. 7. P. 377–401.

19. Cabello-Yeves P.J., Callieri C., Picazo A., Mehrshad M., Haro-Moreno J.M., Roda-Garcia J.J., Dzhebekova N., Slabakova V., Slabakova N., Moncheva S., Rodriguez-Valera F. The microbiome of the Black Sea water column analyzed by shotgun and genome centric metagenomics // *Environ. Microbiol.* 2021. Vol. 16: 5.

20. Schwab L., Popp D., Nowack G., Bombach P., Vogt C., Richnow H.H. Structural analysis of microbiomes

from salt caverns used for underground gas storage // *Int. J. Hydrogen Energy.* 2022. Vol. 47. N 47. P. 20684–20694.

21. Gillan D.C., Danis B. The archaeobacterial communities in Antarctic bathypelagic sediments // *Deep-Sea Res. II.* 2007. Vol. 54. N 16–17. P. 1682–1690.

22. Ganesan M., Mani R., Sai S., Kasivelu G., Awasthi M.K., Rajagopal R., Azelee N.I.W., Selvi P.K., Chang S.W., Ravindra B. Bioremediation by oil degrading marine bacteria: An overview of supplements and pathways in key processes // *Chemosphere.* 2022. Vol. 303: 134956.

23. Hou Y., Li S., Dong W., Yuan Y., Wang Y., Shen W., Li J., Cui Z. Community structure of a propanil-degrading consortium and the metabolic pathway of *Microbacterium* sp. Strain T4-7 // *Int. Biodeter. Biodegrad.* 2015. Vol. 105. P. 80–89.

24. Iminova L., Delean Y., Frantsuzova E., Bogun A., Zvonarev A., Suzina N., Anbumani S., Solyanikova I. Physiological and biochemical characterization and genome analysis of *Rhodococcus qingshengii* strain 7B capable of crude oil degradation and plant stimulation // *Biotech. Rep.* 2022. Vol. 35: e00741.

25. Petrikov K., Delean Y., Surin A., Ponamoreva O., Puntus I., Filonov A., Boronin A. Glycolipids of *Pseudomonas* and *Rhodococcus* oil-degrading bacteria used in bioremediation preparations: formation and structure // *Proc. Biochem.* 2013. Vol. 48. N 5–6. P. 931–935.

26. Ma Y., Wang L., Shao Z. *Pseudomonas*, the dominant polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria isolated from Antarctic soils and the role of large plasmids in horizontal gene transfer // *Environ. Microbiol.* 2006. Vol. 8. N 3. P. 455–465.

Поступила в редакцию 21.07.2022

После доработки 30.01.2023

Принята в печать 12.02.2023

## RESEARCH ARTICLE

# Composition of bacterial communities in oil-contaminated bottom sediments of the Kamenka River

D.O. Egorova\* , P.Y. Sannikov , Y.V. Khotyanovskaya , S.A. Buzmakov 

*Department of Biogeocenology and Nature Protection, Perm State National Research University,  
Bukireva st., 15 Perm, 614068, Russia*

\*e-mail: daryao@rambler.ru

The Kamenka River flows through the territory of the Kokuyskoye gas and oil field located in the Perm Territory. Despite the absence of oil-producing facilities in the immediate vicinity of the river, oil hydrocarbons were found in the waters and bottom sediments at a concentration of 2445–25800 mg/kg. The composition of microbial communities of bottom sediments of the Kamenka River, located at the source and along the river, was studied. Using the methods of high-performance sequencing and bioinformatic data processing, it was established that the main share of microbial communities is represented by bacteria of the phylum Proteobacteria (16.7–30.3%), as well as the phyla Actinobacteriota, Bacteroidota, Bdellovibrionota, Campilobacterota, Chloroflexi, Cyanobacteria, Deferribacterota, Desulfobacterota, Firmicutes, Gemmatimonadota, Methyloirabiolota, Myxococcota, Nitrospirota, Patiscibacteria, Planctomycetota, Spirochaetota, Synergistota, Thermotofota and Verrucomicrobiota. The values of the Shannon index for the studied communities are directly correlated with the concentration of petroleum hydrocarbons in bottom sediments. The phylum Proteobacteria in

all communities is represented by the classes Alphaproteobacteria and Gammaproteobacteria, among which representatives of the families Rhodobacteriaceae and Comamonadaceae dominate. When identifying to the genus, it was found that in the Comamonadaceae family, the main share is made up of bacteria of the genus *Hydrogenophaga*. It should be noted that bacteria of the genus *Pseudomonas* (class Gammaproteobacteria) were found only in the microbiocenosis of bottom sediments, characterized by the highest concentration of petroleum hydrocarbons.

**Keywords:** *bacteria, oil pollution, bottom sediments, microbial community, high throughput sequencing*

**Funding:** The research was funded by Russian Foundation for Basic Research, project number 20-45-596018 (RFBR competition r\_NOTs\_Perm region).

### Сведения об авторах

*Егорова Дарья Олеговна* – докт. биол. наук, доц., доц. кафедры биогеоценологии и охраны природы географического факультета Пермского государственного национального исследовательского университета. Тел.: 8-342-280-77-00; e-mail: daryao@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8018-4687>

*Санников Павел Юрьевич* – канд. геогр. наук, доц. кафедры биогеоценологии и охраны природы географического факультета Пермского государственного национального исследовательского университета. Тел. 8-342-239-64-87; e-mail: sol1430@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7973-301X>

*Хотяновская Юлия Владимировна* – ст. преп. кафедры биогеоценологии и охраны природы географического факультета, инж. лаборатории экологии и охраны природы Пермского государственного национального исследовательского университета. Тел.: 8-342-239-63-93; e-mail: 79082412863@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7172-778X>

*Бузмаков Сергей Алексеевич* – докт. географ. наук, проф., зав. кафедрой биогеоценологии и охраны природы географического факультета Пермского государственного национального исследовательского университета. Тел.: 8-342-239-63-93; e-mail: lep@psu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5144-0714>